

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera en
Biotecnología de los Recursos Naturales*

Trabajo Experimental:

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE ELECTRODO
SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO DE UNA
CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA PARA LA PRODUCCIÓN DE
ENERGÍA ELÉCTRICA”**

Autora:

Fátima Antonella Castro Castillo

Tutor:

Ing. Pablo Wilson Arévalo Moscoso, Ph. D.

Cuenca - Ecuador

2019

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Fátima Antonella Castro Castillo, con el documento de identificación N° 0105456784 manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE ELECTRODO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA PARA LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En la aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo de los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2019



Fátima Antonella Castro Castillo

C.I. 0105456784

CERTIFICACIÓN

Yo, Pablo Wilson Arévalo Moscoso, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE ELECTRODO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA PARA LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA”, realizado por Fátima Antonella Castro Castillo, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, mayo del 2019



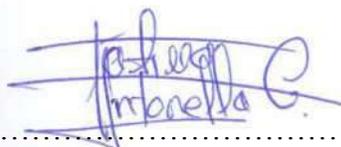
Pablo Wilson Arévalo Moscoso, Ph. D.

C.I. 0102156957

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Fátima Antonella Castro Castillo con número de cédula 0105456784 autora del trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE ELECTRODO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA PARA LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA”, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, mayo del 2019



Fátima Antonella Castro Castillo

C.I. 0105456784

DEDICATORIA

A nuestro Padre Celestial lleno de luz, gloria y vida.

A mis padres Carmita y Clodomiro, por haber sido mi guía en medio de la incertidumbre.

A mi hermano Matías, por impulsarme a ser una mejor persona y ejemplo.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Carmita Castillo Villa, por nunca haber dudado de que lo lograría y por ser el motor que impulso este camino universitario, gracias mami.

Al Ingeniero Pablo Arévalo Moscoso, Ph. D. por haber dirigido este trabajo de investigación, compartiendo sus conocimientos para conmigo y sobre todo por la paciencia a lo largo de esta experiencia.

A la Doctora Inés Malo Cevallos, Ph. D. por su predisposición y carismática ayuda en el desarrollo del presente trabajo investigativo.

A mi compañero David Ortiz Ortiz, por haberse arriesgado a recorrer este proceso de aprendizaje a mi lado, cuando nadie lo creía posible.

Por último, quiero expresar un especial agradecimiento a la hermana que la vida me dio el privilegio de escoger, a Jessica Ampartio Salazar Jara, por haber estado conmigo siempre, por no haber dudado ni un instante en todo lo que podríamos lograr ya sea juntas o por distintos caminos y sobre todo por priorizarme en cada momento.

- Anto.

RESUMEN

La presente investigación se basó en la construcción e implementación de una celda de combustible microbiana a escala de laboratorio para la generación de energía eléctrica usando aguas residuales sintéticas (ARS) y consorcios bacterianos dentro de los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca; centrándose en el impacto que genera el tipo de electrodo sobre las características de funcionamiento de la celda para la producción energética, con la finalidad de determinar los parámetros óptimos de ejecución de la celda y a la par generar una energía limpia.

El proyecto estuvo enmarcado como investigación experimental fundamentada a nivel descriptiva-investigativa. Asimismo, para el modelamiento de la celda se empleó la metodología propuesta por Tibaquirá y Posner en el año 2009.

Se trabajó con tres configuraciones de electrodos: cobre, plata y aleación de plata-oro, usando un solo tipo de membrana de intercambio protónico; membrana de nitrilo, un volumen de agua residual sintética de 40 mL, la celda operó con flujo tipo continuo y batch, la toma de datos de cada muestra fue tomada por triplicado para mayor especificación estadística. Registrándose mejores resultados para la configuración de electrodos tipo Plata-Oro tanto como para el flujo Batch con un valor de potencia de $2.05E-01 \text{ Mw/m}^2$ y $1.16E-02 \text{ Mw/m}^2$ para el flujo tipo continuo. De esta manera concluyó que la configuración de los electrodos es un factor importante que influye sobre las características de funcionamiento y óptimo rendimiento energético dentro de una celda de combustible microbiana.

Palabras clave: celdas de combustible microbiana, electrodos, voltaje, amperaje, aguas residuales sintéticas, Biofilm.

ABSTRACT

The present investigation was based on the construction and implementation of a laboratory-scale microbial cumbustible cell for the generation of electrical energy using synthetic wastewater (ARS) and bacterial consortiums within the Life Sciences laboratories of the Salesian Polytechnic University Cuenca headquarters; focusing on the impact generated by the type of electrode on the operating characteristics of the cell for energy production, in order to determine the optimal parameters of execution of the cell and at the same time generate a clean energy.

The project was framed as experimental research based on a descriptive-investigative level. Likewise, for the modeling of the cell, the methodology proposed by Tibaquirá and Posner was used in 2009.

We worked with three configurations of electrodes: copper, silver and silver-gold alloy, using a single type of proton exchange membrane; nitrile membrane, a volume of synthetic residual water of 40 mL, the cell operated with continuous flow and batch, the data collection of each sample was taken in triplicate for greater statistical especificación. Better results were registered for the configuration of Silver-Gold type electrodes as well as for the Batch flow with a power value of $2.05E-01 \text{ Mw} / \text{m}^2$ and $1.16E-02 \text{ Mw} / \text{m}^2$ for the continuous flow type. In this way he concluded that the configuration of the electrodes is an important factor that influences the performance characteristics and optimum energy performance within a microbial fuel cell.

Keywords: microbial fuel cells, electrodes, voltage, amperage, synthetic wastewater, Biofilm.

ÍNDICE GENERAL

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	I
CERTIFICACIÓN.....	II
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	I
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	I
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	I
ÍNDICE DE ANEXOS.....	I
CAPÍTULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Planteamiento de la problemática de la investigación	4
1.3 Formulación de pregunta de investigación	6
1.4 Justificación	6
1.5 Limitaciones	8
1.6 Objetivos	9
1.6.1 Objetivo general	9
1.6.2 Objetivos específicos	9
1.7 Hipótesis.....	9
1.8 Variables	10
1.8.1 Variables Dependientes.....	10
1.8.2 Variables Independientes	10
1.8.3 Variables Intervinientes.....	10
1.8.4 Variables Extrañas.....	11
CAPÍTULO 2	12
MARCO TEÓRICO	12

2.1 Marco Referencial.....	12
2.2 Marco Conceptual.....	14
2.2.1 Bioenergía	14
2.2.2 Bioenergética microbiana.....	14
2.2.3 Microorganismos Electr6genicos.....	15
2.2.4 Reacci3n Redox	15
2.2.5 Potenciometr3a.....	15
2.2.6 Agente Oxidante.....	16
2.2.7 Agente Reductor.....	16
2.2.8 Corriente El6ctrica.....	16
2.2.9 Conductor El6ctrico.....	16
2.2.10 Conductividad el6ctrica.....	17
2.2.11 Electrodo.....	17
2.2.12 Electr3lisis.....	17
2.2.13 Electrolito.....	18
2.2.14 Intensidad De Corriente.....	18
2.2.15 Voltaje.....	18
2.2.16 Poli3cido l3ctico (PLA).....	18
2.2.17 Acrilonitrilo Butadieno Estireno (ABS).....	18
2.2.18 Grilon	19
2.2.19 Membrana de Intercambio Prot3nico (PEM).....	19
2.2.20 Arduino.....	19
2.2.21 Lodos Activados.....	19
2.2.22 Medio de cultivo Eosin Methylene Blue Agar (EMB).....	20
2.2.23 Chapado de Oro.....	20
2.3 Bases te3ricas.....	20
2.3.1 Electroqu3mica	20
2.3.1.1 Reacciones Redox.....	21
2.3.1.2 Celdas Electroqu3micas.....	21
2.3.2 Celdas de Combust3n.....	21
2.3.2.1 Celdas Alcalinas (AFC).....	22
2.3.2.2 Celdas de membrana de intercambio Prot3nico (PEM).....	22

2.3.2.3 Celdas de ácido Fosfórico (PAFC).....	23
2.3.2.4 Celdas de Carbonato fundido (MCFC).....	23
2.3.2.5 Celdas de óxido solido (SOFC).....	23
2.3.2.6 Celdas de Combustible Microbianas (CCM).....	23
2.3.3 Celdas de Combustible Microbianas	24
2.3.3.1 Conformación de la Celda de Combustible Microbiana	25
2.3.3.1.1 Electroodos	25
2.3.3.1.1.1 Ánodo.....	25
2.3.3.1.1.2 Cátodo.....	26
2.3.3.1.2 Membrana	26
2.3.3.1.3 Microorganismos	27
2.3.3.1.3.1. Bacterias Eléctricas.....	28
2.3.3.1.4 Sustrato	28
2.3.3.2 Configuración de la Celda.....	29
2.3.3.2.1 Configuración de electrodos	29
2.3.3.2.2 Tipo de Flujo	30
2.3.3.3 Parámetros operacionales.....	31
2.3.3.3.1 pH y electrolito de las cámaras	31
2.3.3.4 Mecanismo de trasferencia de electrones	31
2.3.3.4.1 Transferencia directa de electrones	32
2.3.3.5 Aplicaciones de las Celdas de Combustible Microbiana	32
2.3.3.5.1 Tratamiento De Aguas Residuales	32
2.3.3.5.2 Celda de combustible microbiana acoplada a un reactor anaerobio	33
2.3.3.5.3 Biosensores	33
2.3.3.5.4 Deionización capacitiva (Capacitic Deionization).....	34
2.3.3.5.5 Recuperación de metales pesados	35
CAPÍTULO 3	36
MATERIALES Y METODOS	36
3.1 Nivel de investigación	36
3.1.1 Tipo y diseño de investigación	36
3.2 Población y muestra.....	36
3.3 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	36

3.4 Técnicas de procesamiento de datos.....	37
3.5 Protocolo	37
3.5.1 Fase 1.....	37
3.5.1.1 Aislamiento de Microorganismos	37
3.5.2 Fase 2.....	39
3.5.2.1 Construcción de la celda de combustible microbiana	39
3.5.3 Fase 3	42
3.5.3.1 Preparación del equipo - tarjeta de adquisición de datos	42
3.5.3.2 Electroodos	43
3.5.4.1 Puesta en Marcha de la Celda de Combustible Microbiana	45
CAPÍTULO 4	50
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1 Microorganismos aislados.....	50
4.2 Electroodos	50
4.3 Caracterización y ensayos de la celda de combustible microbiana con sistema de flujo tipo Batch y diferentes electroodos.....	51
4.3.1 Obtención de la resistencia interna de la celda de combustión microbiana, utilizando electroodos de cobre, plata y plata-oro	51
4.3.2 Ensayo general de la celda de combustible microbiana flujo Batch: Influencia del tipo de electroodos.....	55
4.4 Caracterización y ensayos de la celda de combustible microbiana con sistema de flujo tipo continuo y electroodos tipo Plata-Oro.....	61
4.4.1 Obtención de la resistencia interna de la celda de combustible microbiana	61
4.4.2 Ensayo general de la celda de combustible microbiana flujo continuo: influencia del tipo de electroodo.	63
CAPÍTULO 5	65
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
5.1 Conclusiones	65
5.2 Recomendaciones	67
BIBLIOGRAFÍA.....	68

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Eficiencia de cada configuración de electrones.....	51
Tabla 2. Resultados de la caracterización de la celda de combustible microbiana flujo Batch y diferentes configuraciones de electrodos.	55
Tabla 3. Desempeño de la celda de combustible microbiana usando diferentes configuraciones de electrodos.	58
Tabla 4. Comparación del desempeño del presente trabajo con trabajos publicados actualmente.	60

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Voltaje a circuito abierto con respecto al tiempo para la celda de combustible microbiana puesto en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).	51
Gráfica 2. Método gráfico para encontrar la Resistencia interna la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triangulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).	52
Gráfica 3. Potencia máxima obtenida para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).	54
Gráfica 4. Generación de electricidad en la celda de combustible microbiana (300 h) puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).	57
Gráfica 5. Densidad de potencia anódica de la celda de combustible microbiana, usando electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).	59
Gráfica 6. Voltaje a circuito abierto con respecto al tiempo para la celda de combustible microbiana puesto en marcha con electrodos de plata con oro.	61
Gráfica 7. Método gráfico para encontrar la resistencia interna de la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos tipo plata con oro.	62
Gráfica 8. Potencia máxima obtenida para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de plata con oro.	63
Gráfica 9. Generación de electricidad en la celda de combustible microbiana (3 h) puesta en marcha con flujo tipo continuo y electrodos de plata con oro.	63
Gráfica 10. Densidad de potencia anódica de la celda de combsutible microbiana, usando electrodos de plata con oro.	64

ÍNDICE DE IMÁGENES.

Imagen 1. Toma de muestras, lodos activados.....	37
Imagen 2. Diluciones de lodos activados.....	38
Imagen 3. Siembra de diluciones en agar nutritivo.....	38
Imagen 4. Siembra en medio de cultivo selectivo EMB.....	39
Imagen 5. Prototipos 1 y 2 CCM.	40
Imagen 6. Planos constructivos de la base de la celda de combustible.	41
Imagen 7. Prototipo final de la CCM.....	41
Imagen 8. Corroboración de datos.	42
Imagen 9. Planos constructivos de los electrodos. Dimensiones en (mm).	43
Imagen 10. Configuración de Electrodos (Cobre, Plata, Plata chapada con oro).....	44
Imagen 11. Sellado hermético de la Celda de combustible microbiana.	45
Imagen 12. Inoculación de bacterias en agua residual sintética. (ARS).....	46
Imagen 13. Alimentación de la celda de combustible microbiana.	47
Imagen 14. Sistema conectado a la tarjeta de adquisición de datos.....	47
Imagen 15. Montaje del sistema flujo continuo.....	49
Imagen 16. Tinción de Gram al microscopio.....	50

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Tarjeta de adquisicion de datos.....	77
Anexo 2. Código de programación de tarjeta de adquisiciñon de datos.....	78
Anexo 3. Formulacion de agua residual sientética.....	79
Anexo 4. Formación del Biofilm sobre el electrodo.....	79
Anexo 5. Ensamblado de la CCM.....	80
Anexo 6. Electrodo de Plata chapada con oro.....	80
Anexo 7. Ingreso de Solucion salina (CIK) a la celda.....	81
Anexo 8. Tinsion de Gram.....	81
Anexo 9. Ajuste Caudalímetro.....	82
Anexo 10. Formación de Biofilm.....	82

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 . Antecedentes

Actualmente la generación de energía eléctrica en la mayor parte de los países industrializados está limitada a recursos no renovables tales como el combustible fósil, y otras alternativas como las centrales hidroeléctricas.

Según las fuentes estadísticas brindadas por la Agencia de Regulación y Control de Electricidad; en Ecuador el 49.72 % de producción energética (13.096.27 GWh) se ha generado hidráulicamente en plantas o represas hidroeléctricas, y únicamente el 1.55 % (407.75 GWh) de producción energética es generada por fuentes de biomasa (ARCONEL, 2015).

En este contexto y gracias al descubrimiento por Michael Cresse Potter, botánico de la Universidad de Durham en el Reino Unido, 1910, quien demostró que los microorganismos pueden llegar a generar energía y liberar corriente, y el posterior aporte de Cohen de la Universidad de Cambridge en el año de 1931, quien continuo con el trabajo de Potter, y detallo en un ensayo como en una celda de combustible microbiana (CCM) genero más de 35 mV, sin embargo, esta tecnología no retomo su importancia sino hasta que en los años 60 la NASA se interesó en transformar desechos orgánicos en electricidad, para que sea usada en sus viajes espaciales de gran duración. (Shukla, 2004)

Dados estos hechos, las celdas de combustible microbianas presentan una alternativa de cómo generar energía eléctrica con fuentes de biomasa y microorganismos, partiendo de esto los estudios acerca de cómo generar energía mediante celdas de combustible microbiana iniciaron su profundización tanto en la investigación como el desarrollo, es así, que uno de los primeros aportes en la línea de investigación presentado por Doo Hyun Park, y J. Gregory Zeikus que en el año 2002 desarrollan el proyecto “*Improved Fuel Cell and Electrode Designs for Producing Electricity from Microbial Degradation*”, cuyo objetivo fue presentar diseños mejorados tanto en celda como en

electrodos, para evaluar la producción energética a partir de la degradación de la materia orgánica por acción microbiana.

Fundamentándonos en los resultados indicados con anterioridad, cabe resaltar que dentro del periodo de tiempo comprendido entre los años 2003 y 2006, Swetaprovo Chaudhuri realizó investigaciones en las cuales se destaca la evaluación de las celdas de combustión microbiana mediante la oxidación directa de la glucosa, a más de variaciones en cuanto al ensamblaje de la celda, presentándose cámaras mejoradas tales como los modelos del bioreactor desacoplado de la celda, bioreactor integrado a la celda y celdas con transferencia directa de electrones.

Mientras tanto en el año 2005 Rae, J., Min, B & Logan, B. dieron inicio a las investigaciones en cuanto al aspecto microbiológico de la celda, seleccionando consorcios bacterianos y evaluándolos mediante el desempeño y comportamiento en el sistema; a la par de esto en el año 2006 Cheng, S., Liu, H & Logan, iniciaban investigaciones enfocadas en la estructura y materiales de diferentes electrodos.

Por otra parte, desde el año 2008 hasta el año 2010, se presentaron un mayor número de investigaciones enfocadas sobre los parámetros que influyen el funcionamiento en las celdas de combustible microbiana desarrollándose proyectos desde diferentes puntos de vista como es el caso de Shimoyama, T., Komukai, S., & Watanabe, K que en el año 2008 elaboraron su proyecto enfocando su trabajo y haciendo cambios sobre los electrodos; por su lado en el año 2010, Carlos Pistonesi centró su investigación en el tipo de flujo, configuraciones de diseño, microorganismos, membrana de intercambio protónico y principalmente tipo de agua a tratar, siendo este el mayor aspecto de variabilidad en investigaciones con respecto a celdas de combustible microbianas.

A la par en el año 2008 Gaviria, L. A., Albarán, C. F., Gallegos, A. Á., y Sebastián, P. J. presentan su proyecto titulado “*Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo pem*”, en el cual se evidencian aplicaciones experimentales en aguas residuales domésticas o industriales y en su mayoría aguas sintéticas, presentándose esto en un diseño de celda de doble cámara.

Para el año 2011 las investigaciones sobre las celdas de combustión microbiana continuaban, esta vez presentando una pequeña variación en cuanto al tipo de membrana de intercambio protónico

usada, en este caso evidenciando el posible uso de nuevos materiales que pudieran reemplazar la membrana comercial de Nafion. Sucesivo a esto en el año 2012 seguían surgiendo investigaciones enfocadas en cómo mejorar la conformación y configuración de la celda, en este específico caso se presentó el proyecto basado en el desarrollo de membranas de intercambio protónico de ABPBI-LI que sean aplicadas en celdas de combustible microbianas, por Rubí Hernández Carrillo. En el año 2016 un grupo de investigadores bajo el pseudónimo ElectroBacters, desarrolla la investigación “Celdas De Combustible Microbiana: Electricidad Por Desechos Orgánicos” donde se evalúa el rendimiento de las celdas detenidamente y analiza qué microorganismos generan más electricidad con el fin de que las CCMs se conviertan en una fuente sustentable y viable de energía. Contiguo a este trabajo y en la misma línea de investigación, el mismo año Yirley Racines Guzmán y Marylin Santander Bossio, desarrollan un proyecto de Implementación de una celda de combustible microbiano a partir de agua residual doméstica.

Bajo esta línea de investigación y para el año 2015, en nuestro país, se presenta uno de los primeros ensayos, bajo el título “Estudio de la influencia de la demanda bioquímica de oxígeno de aguas residuales en la producción de bioelectricidad de una celda de combustible microbiano” por Alex Fernando Guambo y Gabriela Elizabeth Allauca, mismos que centraron su estudio en una celda de combustible microbiana de doble cámara, el estudio se enfocó en la influencia de la Demanda Bioquímica de Oxígeno para la generación de energía eléctrica aprovechando la Demanda de Oxígeno de las Aguas Residuales en la generación de energía sustentable, para el año siguiente Shawny Carolina Ríos, trabajó en la investigación denominada “*Generación de bioelectricidad microbiana con estiércol de ganado vacuno, mediante celdas de combustible microbiano, estación experimental Tunshi ESPOCH*”, estudio centrado en la generación de bioelectricidad microbiana con estiércol de ganado vacuno, mediante celdas de combustible microbiano de doble cámara, con la finalidad de utilizar estos residuos aplicando campos magnéticos a la biomasa y obtener mayor producción de energía a escala de laboratorio.

A inicios del año 2018 Nathaly Bassante, publica el trabajo más reciente a nuestra línea de investigación, titulado “*Evaluación del efecto de polímeros conductores en el tratamiento de aguas residuales domésticas utilizando celdas de combustible microbianas*”, en la cual se evidencia la elaboración de ánodos de celdas de combustible microbianas (CCM), basados en polímeros conductores (polipirrol y polianilina) depositados sobre electrodos de grafito provenientes de pilas

recicladas y escobillas de carbono, para evaluar el efecto que producen estos ánodos sintetizados en la degradación de materia orgánica y producción de electricidad en celdas de combustible microbianas alimentadas con aguas residuales domésticas.

Como puede observarse, hasta la fecha las investigaciones relacionadas con el estudio de Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) están generando un fuerte impacto dentro del campo investigativo, contando con un gran número de investigaciones que involucran estas celdas para generación energética mediante el uso de fuentes de biomasa y microorganismos; lamentablemente este se considera un tema de estudio relativamente nuevo, puesto que aún se encuentra en análisis y por el momento no se han definido procesos específicos dentro del sistema.

Con base a esto, el presente trabajo de investigación, plantea la iniciativa de ensamblar una celda de combustible microbiana acoplable de doble cámara, en el cual el enfoque de manera general, se centra sobre los parámetros operacionales de la celda, aportando un plus en cuanto al tipo de electrodo, usando metales puros tales como la plata y una aleación metálica entre plata y oro, con objeto de determinar cuál de estos posee una mayor conductividad eléctrica y por ende facilita el transporte de electrones dentro de la celda, todo esto con el fin de alcanzar los parámetros justificativos planteados en el presente trabajo de investigación; a lo anterior se debe considerar que con la materialización de las propuestas planteadas, se pretende estar cada vez más cerca de la aplicación e integración de esta tecnología, buscando así en un futuro hacer realidad una generación energética limpia, no solo autosustentable sino que genere lo suficiente como para ser exportada a la red eléctrica.

1.2 Planteamiento de la problemática de la investigación

Los protocolos para el tratamiento de residuos localizados en las aguas servidas, tienen como objeto reducir la cantidad de desechos urbanos generados, mediante el uso alternativo que podría darse a los mismos, pudiéndose de esta forma generar una fuente de energía renovable; lo ideal sería generar un tipo de energía alternativa para disminuir el uso de combustibles fósiles como principal recurso energético y a la vez no agotar los recursos no renovables, aprovechando así estos recursos alternativos que se presentan hoy en día en forma de desechos orgánicos y al mismo tiempo generar un cierto porcentaje de utilidades que pudieran reducir costos productivos.

Desafortunadamente el sistema actual para el tratamiento de residuos no brinda una verdadera aplicación, donde estos recursos orgánicos de las aguas residuales sean tomados como fuente de alimentación de bioreactores para la generación energética; hay que tener en cuenta que al pasar esto por alto y desaprovechar dichos recursos, los mismos terminan siendo foco de contaminación en suelos, ríos y acuíferos. Según estadísticas del Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017; es probable que más del 80% del total de las aguas residuales se liberen en el entorno sin un tratamiento adecuado (UNESCO, 2017).

La ineficiencia del sistema antes descrito, se ve reflejado en un fuerte desequilibrio ecológico, el mismo que está generando un gran costo medio ambiental, evidenciado notoriamente en el incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero, produciendo a su vez una fuerte afección climática global, la misma que avanza a pasos agigantados, y a la larga se verá reflejado en una mayor inversión económica, considerando lo antes dicho como un problema de interés global.

Según el informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017, se estima que en América Latina el tratamiento de las aguas residuales urbanas cubre entre el 20%, y el 30% de las aguas residuales que recogen los sistemas de alcantarillado urbanos. Por lo tanto, el alcantarillado urbano se presenta como uno de los proyectos a ejecutar más difíciles para los gobiernos independientemente de la jerarquía que posean, ya que dichos sistemas de alcantarillado son considerados como el –principal agente contaminante de las fuentes hídricas (UNESCO, 2017).

En Ecuador únicamente el 10% de aguas residuales tiene algún tipo de tratamiento, cifra que es alarmante ya que el 90% de estas aguas sin tratamiento alguno son descargadas a las fuentes convencionales de aguas dulces como ríos y acuíferos (Sanchez Miño, 2014).

En los últimos años han existido una serie de trabajos investigativos que se han fundamentado en el principal descubrimiento del Dr. Michael Cresse Potter, el cual con sus aportes a la ciencia, en 1910 describió como se podía generar energía eléctrica mediante el uso de microorganismos que degraden la materia orgánica; esto ha desencadenado la búsqueda de una alternativa para el aprovechamiento de residuos donde se pueda dar un valor agregado a los metabolitos presentes en las aguas residuales, con base a esto por qué no implantar un sistema para el manejo y utilización de estos residuos y a la par poder generar una energía alternativa mediante recursos renovables, la

misma que impactaría como aporte positivo para la comunidad, ya que la misma se beneficiaría de los resultados positivos de la materialización de la presente propuesta investigativa, dado el hecho que serían los propios residuos quienes generen utilidades, autosubsidiándose con esto el tratamiento sanitario adecuado y necesario que se dispone por ley.

Partiendo de esto, se entiende que se puede generar una fuente de energía limpia a partir del biotratamiento de efluentes residuales mediante la aplicación de esta tecnología pionera como son las celdas de combustible microbianas (CCMs) que poco a poco se va consolidando como sistemas altamente prometedores debido a su simplicidad y factibilidad que tienen la capacidad de acoplarse a procesos para la bioremediación ambiental, como es el caso de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Lo que convierte a las CCMs en una prioridad científica que es compatible con las políticas ambientales actuales de una sociedad bioecológica sustentable (Min, 2004).

1.3 Formulación de pregunta de investigación

¿El tipo de electrodo utilizado dentro de una CCM afectaría en la generación de energía eléctrica?

1.4 Justificación

El presente trabajo se introduce en el campo investigativo de la Biotecnología, como una alternativa para la generación de una energía renovable (energía eléctrica), mediante la utilización de biomasa las cuales se localizan en las aguas residuales. Dentro de estas aguas residuales generalmente está presente una alta carga bacteriana que por lo general converge como un aspecto ecológicamente negativo, es por ello que el presente trabajo de investigación pretende darles un valor agregado a dichos residuos, a través de la explotación científica sobre la capacidad metabólica de los microorganismos presentes en las aguas residuales para la generación de un bien común como es la energía eléctrica.

En el campo investigativo de la Biotecnología, yace un alto grado de pertinencia, ya que el presente proyecto a través de los microorganismos localizados en las aguas residuales pretende generar una energía limpia aplicable en el campo tecnológico, enfocada al bien común. En base a los estudios e investigaciones presentadas sobre el tema en concreto, el presente proyecto genera el aporte de reafirmar y afinar los resultados obtenidos en los trabajos descritos en líneas anteriores, en cuanto a

los antecedentes; por otra parte, se han introducido nuevos parámetros prácticos, ya que en cuanto al ámbito operacional se variaron los materiales necesarios para el ensamblaje del bioreactor (CCM).

Por cuanto el presente trabajo de investigación, se basa en el hecho de que hoy en día no se puede hablar de energía sin tener en cuenta al medio ambiente; según el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) por más de un 90% de probabilidad, la influencia antropogénica ha generado variaciones en el clima del planeta, esto debido principalmente al uso excesivo del petróleo y sus derivados como principal fuente de energía, a más de esto la acumulación de residuos urbanos a nivel mundial principalmente de las industrias, ha causado un fuerte desequilibrio dentro de nuestro entorno ecológico (Metz, Davidson, Bosch, Dave, & Meyer, 2007).

Lo que ha incentivado a la búsqueda y aplicación de técnicas innovadoras para la biodegradación de residuos orgánicos junto con la producción de nuevas energías renovables.

De aquí nace la idea de implementar celdas de combustible microbianas como mecanismos que transforman energía química a energía eléctrica mediante la intervención de microorganismos especializados. Este nuevo concepto actualmente está generando gran interés tanto a nivel nacional como internacional no solo por tratarse de una fuente de energía renovable sino también por la ventaja que ofrece como una tecnología emergente que podría contribuir a la solución de algunos problemas críticos que afronta la sociedad actual; tales como la crisis energética y la contaminación ambiental; es decir reducir la cantidad de residuos urbanos generados y tratar aguas residuales simultáneamente al proceso de generación energética. (Logan B. E., 2004)

En los últimos años la producción de energías a través de recursos renovables se ha establecido en todo el mundo como una importante fuente para la producción de energía eléctrica, claro es el caso de las grandes instalaciones hidroeléctricas que en nuestro país generan aproximadamente el 50% de energía consumible por los ecuatorianos, comparado únicamente con el 1.5 % de energía que es producida por fuentes de Biomasa (ARCONEL, 2015); añadiéndole a esto las estadísticas sobre cantidad de residuos urbanos que se generan diariamente, esta investigación busca hacer un aporte dentro del proceso de estandarización en los parámetros operacionales dentro de las celdas de combustible microbiana, para que estas puedan ser implantadas a una mayor escala para usar estos residuos generados diariamente tanto en las industrias como las que son producidos por los ciudadanos en sus actividades diarias.

Por otra parte, dentro del desarrollo de esta investigación se ha tenido en cuenta principalmente los aspectos influyentes dentro de los parámetros operacionales en la celda de combustión microbiana, centrándose en el impacto que generan los electrodos, el tipo de membrana, el tipo de flujo dentro de la cámara, básicamente los materiales para el ensamblaje de los compartimentos de la cámara, entre otros factores que influyen en el óptimo funcionamiento de las CCMs, para en un futuro no muy lejano estos parámetros sean perfeccionados y estar cada vez más cerca de la aplicación e integración de esta tecnología de nueva era y hacer realidad una generación energética limpia, no solo autosustentable sino que también comprenda la autosuficiencia necesaria para en un futuro lograr exportarla a la red eléctrica.

Este trabajo pretende aportar en la búsqueda de una alternativa para la generación de energía eléctrica, mediante el uso de bioelectroreactores acoplables de doble cámara, como son las celdas de combustible microbiana, con objeto de que en un futuro en estas se pueda generar energía y a su vez aportar en la reducción de residuos orgánicos acumulados, siendo estos empleados como principal sustrato dentro de las CCMs.

1.5 Limitaciones

La investigación experimental sobre la capacidad de producción de energía eléctrica de los microorganismos con aguas residuales sintéticas, se llevará a cabo en la ciudad de Cuenca, en los Laboratorios de Ciencias de la Vida pertenecientes a la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, considerando diferentes variables para su estudio como densidad de potencia, corriente eléctrica generada y voltaje, la presente investigación presenta como principales limitaciones: la inaccesibilidad de diferentes tipos de bacterias, en cuanto a construcción de electrodos, el de platino no fue posible debido a los elevados costos de operación., por otra parte en cuanto a la bibliografía presentada o actuales estudios realizados en la línea de investigación en forma general carecen de actualización.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo general

Determinar el efecto del tipo de electrodo sobre las características de funcionamiento de una celda de combustión microbiana de doble cámara, (flujo continuo y batch) a escala de laboratorio para la generación de energía eléctrica.

1.6.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar el consorcio bacteriano obtenido de lodos activados de plantas de tratamiento de aguas residuales, mediante pruebas microbiológicas para que sea empleado como electrolito del ánodo, en la celda de combustión microbiana.
- ✓ Construir una celda de combustión microbiana de doble cámara flujo continuo a escala de laboratorio, evaluando las características de funcionamiento en la producción de energía eléctrica.
- ✓ Construir una celda de combustión microbiana de doble cámara flujo batch a escala de laboratorio, evaluando las características de funcionamiento en la producción de energía eléctrica.
- ✓ Determinar del efecto ocasionado en las características de funcionamiento de la celda de combustible microbiana mediante la modificación del tipo de electrodo.

1.7 Hipótesis

Es posible implementar una celda de combustible microbiana de doble cámara a escala de laboratorio, para la generación de energía eléctrica usando diferentes tipos de electrodos, aguas residuales sintéticas (ARS) y consorcios bacterianos obtenidos de lodos activados.

1.8 Variables

1.8.1 Variables Dependientes

La variable dependiente estudiada toma el nombre de Características de funcionamiento, variable compleja cualitativa continua y compuesta, la misma que está formada por dos dimensiones: el potencial y la intensidad eléctrica, las cuales tienen como indicadores: voltios y amperios respectivamente.

1.8.2 Variables Independientes

- Tipo Electrodo (cobre, plata y plata chapada con oro)
- Tipo de flujo (batch y continuo)

1.8.3 Variables Intervinientes

- Concentración de sustrato.
- Configuración de la membrana.
- Tipo de microorganismo utilizado.

Las variables intervinientes serán bloqueadas mediante controles periódicos permanentes de los parámetros que se interponen entre las variables dependientes y de los independientes, para garantizar que los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto sean debidos a las variables dependientes (aquellas que se medirán).

Una variable interviniente en el proyecto será la contaminación por microorganismos ajenos al consorcio establecido y estos estén consumiendo el sustrato de la CCM, la misma que será bloqueada mediante unas buenas prácticas de laboratorio.

1.8.4 Variables Extrañas

- pH
- Temperatura

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Referencial

De acuerdo a la revisión bibliográfica, acorde a la misma línea de investigación del presente proyecto; se registran investigaciones que datan desde el año 2002 con uno de los primeros aportes presentado por Doo Hyun Park, y J. Gregory Zeikus con el desarrollo del proyecto “*Improved Fuel Cell and Electrode Designs for Producing Electricity from Microbial Degradation*”, cuyo objetivo fue presentar diseños mejorados tanto en celda como en electrodos, para evaluar la producción energética a partir de la degradación de la materia orgánica por acción microbiana (Park & Zeikus, 2003).

A la par el mismo año Youngjin Choi, Namjoon Kim, Sunghyun Kim, y Seunho Jung presentan el trabajo titulado “*Dynamic Behaviors of Redox Mediators within the Hydrophobic Layers as an Important Factor for Effective Microbial Fuel Cell Operation*” analizando el comportamiento dinámico de mediadores Redox como un factor importante para el funcionamiento eficaz de la celda de combustible microbiana (Youngjin, Namjoon, Sunghyun, & Seunho, 2002).

Por su parte, y entre los años 2003 y 2006, Swetaprovo Chaudhuri realiza investigaciones en las cuales se destaca la evaluación de las celdas de combustión microbiana mediante la oxidación directa de la glucosa, a más de variaciones en cuanto al ensamblaje de la celda, presentandose cámaras mejoradas tales como los modelos del Bioreactor desacoplado de la celda, Bioreactor integrado a la celda y celdas con transferencia directa de electrones (Chaudhuri, 2003).

Mientras tanto en el año 2005 se dieron inicio a las investigaciones en cuanto al aspecto microbiológico de la celda, seleccionando consorcios bacterianos y evaluándolos mediante el desempeño y comportamiento en el sistema (Kim J. R., 2005) consiguiente a esto en el año 2006 iniciaban las investigaciones enfocadas en la estructura y materiales de diferentes electrodos (Cheng S. L., 2006)

Para el año 2008 se presenta el ensayo “*Analysis of Ammonia Loss Mechanisms in Microbial Fuel Cells Treating Animal Wastewater*” cuyo objeto fue analizar las pérdidas de amoníaco en aguas

residuales porcinas dentro de la cámara de combustible microbiana (Kim, Zuo, M. Regan, & Logan, 2008).

Por otra parte, desde el año 2008 hasta el año 2010, se presentaron un mayor número de investigaciones enfocadas sobre cambios en los electrodos (Shimoyama, 2008), a la par en el año 2008 la generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo PEM en el cual se evidencian aplicaciones experimentales en aguas residuales domésticas o industriales y en su mayoría aguas sintéticas, presentándose esto en un diseño de celda de doble cámara. (Alzate Gaviria, 2008) Consiguiente a esto en el año 2010, inician las investigaciones en cuanto a configuraciones de diseño, tipo de flujo, microorganismos, membrana de intercambio protónico y principalmente tipo de agua a tratar (Pistonesi C. , 2010) siendo este el mayor aspecto de variabilidad en investigaciones con respecto a celdas de combustible microbianas.

Para el año 2011 las investigaciones sobre las celdas de combustión microbiana continuaban, esta vez presentando una pequeña variación en cuanto al tipo de membrana de intercambio protónico usada, tal como Semelion O. Lefebvre (2011) y Ultrex, Yazd y otros (2011) evidenciando el posible uso de nuevos materiales que pudieran reemplazar la membrana comercial de Nafion. Sucesivo a esto en el año 2012 seguían surgiendo investigaciones enfocadas en cómo mejorar la conformación de la celda en lo que concierne a la membrana de intercambio protónico (Hernández, 2012).

Contiguo a este trabajo y en la misma línea de investigación, en el año 2015, se desarrolla un proyecto de implementación de una celda de combustible microbiano para generar energía eléctrica a partir de agua residual doméstica (Racines Guzmán & Marylin, 2015).

Para el año 2016 un grupo de investigadores evalúa el rendimiento de las celdas detenidamente y analiza qué microorganismos generan más electricidad con el fin de que las CCMs se conviertan en una fuente sustentable y viable de energía (Electrobacters, 2016).

Bajo esta línea de investigación y para el año 2015, en nuestro país, se presenta un estudio sobre la influencia de la demanda bioquímica de oxígeno en la producción de bioelectricidad, aprovechando la demanda de oxígeno de las aguas residuales como fuente para generar energía limpia mediante el uso de celdas de combustible microbianas. (Guambo, 2015). Para el año siguiente mediante celdas de combustible microbiano se genera bioelectricidad microbiana con estiércol de

ganado vacuno mediante celdas de combustible microbiano de doble cámara, con la finalidad de utilizar estos residuos aplicando campos magnéticos a la biomasa y obtener mayor producción de energía a escala de laboratorio (Rios Lara, 2016).

A inicios del año 2018, se evidencia la elaboración de ánodos de celdas de combustible microbianas (CCM), basados en polímeros conductores (polipirrol y polianilina) depositados sobre electrodos de grafito provenientes de pilas recicladas y escobillas de carbono, para evaluar el efecto que producen estos ánodos sintetizados en la degradación de materia orgánica y producción de electricidad en celdas de combustible microbianas alimentadas con aguas residuales domésticas (Bassante Acuña, 2018).

2.2 Marco Conceptual

2.2.1 Bioenergía

Según lo descrito por Gómez M, en su obra “Situación actual de biocombustibles en México”, publicada en el año 2007, se establece que:

Ésta se define como la manera de generar energía a partir de biomasa: "materia viva" o derivada de seres vivos. Incluye un rango amplio de productos, que se han dividido en tres tipos de combustible: los sólidos (leña, carbón, residuos agrícolas y pecuarios, y residuos municipales) que se gasifican para producir calor y electricidad, y los combustibles líquidos, que utilizan cultivos energéticos (caña de azúcar, oleaginosas, higuera, palma de aceite y coco) para generar etanol y biodiesel. (Gomez, 2007).

2.2.2 Bioenergética microbiana

Por su parte, Esteve Núñez afirma que:

Es la Generación de energía eléctrica a partir de energía química proveniente de procesos biológicos generados por organismos vivos. Existen diversos microorganismos que pueden ser eficientes a la hora de realizar este proceso de conversión energética, pero algunos lo son más que otros. Los microorganismos más utilizados en los procesos de generación de energía eléctrica son las llamadas “bacterias electrogénicas” que suelen encontrarse en ambientes anaerobios como sedimentos de lagos o ríos. (Esteve-Núñez, 2008).

2.2.3 Microorganismos Electrógenicos

Lovely, en su texto “Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction”, publicado en 1991, se pronuncia de esta manera:

Son capaces de transferir los electrones al ánodo en ausencia de mediadores Redox artificiales. De esta manera, se eliminan los problemas de toxicidad en los dispositivos electroquímicos y los medios utilizados quedan restringidos al combustible Orgánico que se desee utilizar y al microorganismo que actúe como catalizador biológico. Podemos distinguir dos tipos de bacterias electrogénicas, aquellas que producen sus propios mediadores Redox, que son secretados al medio y reaccionan con el electrodo, y aquellas que interaccionan de forma directa con el electrodo sin mediador soluble alguno” (Lovely, 1991, pág. 259)

2.2.4 Reacción Redox

En cuanto a este concepto, coincidimos con él a doctrina de Derpich, el mismo que en su texto “Reacciones REDOX”, establece que:

La palabra REDOX es una sigla de óxido-reducción (en inglés, reduction-oxidation), lo cual resume este tipo de reacciones: una sustancia se oxida y otra se reduce. Por lo general, a la sustancia que se oxida se le denomina agente reductor (debido a que provoca la reducción de la otra sustancia), mientras que a la sustancia que se reduce se le llama agente oxidante (provoca la oxidación de la otra sustancia). Pero, ¿en qué consiste este tipo de reacciones? Una reacción REDOX consiste en el traspaso de electrones desde una sustancia X (agente reductor) hacia una sustancia Y (agente oxidante). Una aplicación en la vida cotidiana de este tipo de reacciones son las pilas que usamos a diario en varios aparatos, como despertadores, calculadoras, relojes, celulares, etc. (Derpich, 2016).

2.2.5 Potenciometría

Según la publicación del año 2013 “Potenciometría: Usos y Aplicaciones”, en el cual participaron varios autores que a continuación citamos, se concluye en lo siguiente:

La potenciometría es un método analítico electroquímico basado en la medida de la diferencia de potencial entre electrodos sumergidos en una solución, siendo el potencial de

uno de los electrodos función de la concentración de determinados iones presentes en la solución. La medida de los potenciales de electrodo permite obtener de forma directa la concentración de una sustancia o seguir su evolución a lo largo de una reacción química (reacción de titulación), (Trujillo-Piña, Vega Sánchez, & Barajas Bermúdez, 2013).

2.2.6 Agente Oxidante

Como definición de los Agentes Oxidantes, tomamos lo descrito en el blog Buenas Tareas, en el cual se detalla lo siguiente:

Es una sustancia que causa la oxidación de otra especie en una reacción Redox. Es la especie química que un proceso Redox acepta electrones y, por tanto, se reduce en dicho proceso. (Buenas Tareas, 2012)

2.2.7 Agente Reductor

Según lo descrito por el blog BuenasTareas.com:

Es una sustancia que causa reducción de otra especie en una reacción Redox; es decir, el material pierde electrones - se oxida. (Buenas Tareas, 2012)

2.2.8 Corriente Eléctrica

De acuerdo a lo publicado por Pérez y Merino corriente eléctrica es;

Flujo de cargas consecuencia del movimiento de cargas eléctricas debido a una diferencia de potencial. En los conductores metálicos, es el movimiento ordenado de los electrones entre dos puntos con distinto potencial. En algunos semiconductores la corriente se debe al movimiento de cargas positivas y en los electrolitos y gases ionizados al de ambos tipos de cargas. (Pérez Porto & Merino, 2017)

2.2.9 Conductor Eléctrico

En cuanto al concepto de los conductores eléctricos dado por el tratadista José Luis Giordano, se entiende como:

Un cuerpo que, por su estructura, permite que los electrones se muevan a través de él con gran facilidad. Ej.: los metales. Un aislante se caracteriza por la escasa movilidad de las cargas citadas. Ej.: El vidrio. Existen tres tipos de conductores eléctricos: Metálicos, en los que el paso de la corriente Gaseosos, en los que el paso de la corriente eléctrica se acompaña de fenómenos de ionización; Electrolíticos, en los que el paso de la corriente eléctrica tiene lugar con transporte de materia eléctrica tiene lugar por medio de electrones y sin transporte alguno de materia. (Giordano, 2018)

2.2.10 Conductividad eléctrica

En cuanto a la definición de la conductividad eléctrica, nos basamos en lo establecido por el ingeniero Miguel Pozueta:

Es la habilidad de un material para conducir la corriente eléctrica. Diferente a la conductividad térmica, aunque ambos tipos de conductividad se presentan generalmente juntos. (Pozueta., 2015)

2.2.11 Electrodo

En cuanto a la definición de los electrodos, nos basamos en lo establecido por el ingeniero Miguel Pozueta:

En términos generales es un elemento conductor de electricidad que cierra un circuito y entre cuyos extremos se establece una diferencia de potencia. Desde el punto de vista electroquímico es un elemento conductor de electricidad que establece el contacto eléctrico entre un circuito externo, conectado a otro(s) electrodo(s), y una solución electrolítica. (Pozueta., 2015)

2.2.12 Electrólisis

En cuanto a la definición de la electrólisis, nos basamos en lo establecido por el ingeniero Miguel Pozueta:

Descomposición de una sustancia en una celda electroquímica, por el paso de una corriente eléctrica directa o alterna de baja frecuencia, (1000 Hz). (Pozueta., 2015)

2.2.13 Electrolito

La definición de Electrolito se entiende como:

Sustancia que al ser disuelta en un solvente polar se disocia en iones que permiten la conducción de electricidad. (EducarChile, 2012)

2.2.14 Intensidad De Corriente

En cuanto la Intensidad de Corriente, se define como:

La cantidad de carga que pasa por la sección de un conductor, en una unidad de tiempo.
 $I = dQ / dt$ Se mide en Amperios. (Fullmecanica., 2014)

2.2.15 Voltaje

De igual manera, el voltaje se entiende como la:

Diferencia de potencial entre dos electrodos; medida del potencial químico para que tenga lugar una reacción. (Fullmecanica., 2014)

2.2.16 Poliacido láctico (PLA)

Al hacer referencia a este tipo de material, lo entendemos como:

“El poli (ácido láctico) o ácido poliláctico (PLA) es un poliéster alifático termoplástico derivado de recursos renovables, de productos tales como almidón de maíz (en los Estados Unidos), tapioca (raíces, o almidón principalmente en Asia) o caña de azúcar (en el resto de mundo). Se pueden biodegradar bajo ciertas condiciones, tales como la presencia de oxígeno, y es difícil de reciclar”. (Tecnología/plásticos, 2011)

2.2.17 Acrilonitrilo Butadieno Estireno (ABS)

De igual manera, el ABS se define como:

“El acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) es un polímero amorfo procedente de la emulsión o polimerización en masa de acrilonitrilo y estireno en presencia de poli butadieno. Las propiedades más importantes del ABS son la resistencia a los impactos y su dureza”. (Resinex, 2019)

2.2.18 Grilon

En cuanto a este tipo de material y según la página web de la empresa Grilon.s.f., la misma se define como:

“El Grilon es un termoplástico obtenido a partir de la poliamida 6, que difiere de los plásticos de uso corriente por sus excelentes propiedades mecánicas, eléctricas, térmicas, químicas y la posibilidad de ser modificado con aditivos (MoS₂)”. (Grilon., s.f.)

2.2.19 Membrana de Intercambio Protónico (PEM)

Acorde a lo expuesto por Hernández Rubí esta se define como:

“Es la parte central de la celda de combustible y la que da nombre a este tipo de dispositivos. Se trata de una membrana polimérica diseñada para permitir el paso de los protones hacia el cátodo, además es una barrera impermeable al paso de corriente eléctrica, gases reactantes y aniones”. (Hernández, 2012)

2.2.20 Arduino

Según la página web Makerspace.com:

Arduino es una plataforma de prototipos electrónica de código abierto (open-source) basada en hardware y software flexibles y fáciles de usar. Arduino puede “sentir” el entorno mediante la recepción de entradas desde una variedad de sensores y puede afectar a su alrededor mediante el control de luces, motores y otros artefactos. El micro controlador de la placa se programa usando el “Arduino Programming Language” (basado en Wiring) y el “Arduino Development Environment” (basado en Processing). Los proyectos de Arduino pueden ser autónomos o se pueden comunicar con software en ejecución en un ordenador (por ejemplo, con Flash, Processing, MaxMSP, etc.). (makerspace, 2016)

2.2.21 Lodos Activados

Acorde a lo descrito en el sitio web Fibras y Normas de Colombia este se conoce como:

Un proceso biológico conocido también como bioproceso, el cual permite desarrollar una depuración de origen natural donde los microorganismos presentes en el mismo permiten

depurar el agua contaminada a su estado natural, por medio de procesos anaerobios mediante la aireación prolongada y la recirculación de fangos activos que eliminan las sustancias biodegradables disueltas en las aguas residuales. (Fibras y Normas de Colombia, 2014)

2.2.22 Medio de cultivo Eosin Methylene Blue Agar (EMB)

En cuanto a este medio de cultivo Dickinson lo define como:

Es un medio ligeramente selectivo para el aislamiento y la diferenciación de bacilos Gram negativos entéricos (Enterobacteriaceae y diversos otros bacilos Gram negativos) a partir de muestras clínicas. (Dickinson, 2013)

2.2.23 Chapado de Oro

De acuerdo al sitio web Desire Jewelry:

Este material se fabrica por prensado de una capa que consta de aleación de oro en una base metálica, aunque no procesada, por lo que el metal base permanece protegido mucho tiempo, incluso durante décadas, dado que su acabado de oro es mucho más grueso que otros acabados: de 50 a 100 veces más grueso que un revestimiento normal. (DesireJewelry, 2016).

2.3 Bases teóricas

2.3.1 Electroquímica

La electroquímica es una rama de la química que estudia los fenómenos químicos que provocan corrientes eléctricas, se enfoca principalmente en la conversión de la energía química en eléctrica y viceversa. En general se centra en el estudio de las reacciones químicas que producen efectos eléctricos y de los fenómenos químicos causados por la acción de las corrientes o voltajes (ECURED, 2013).

El campo de la electroquímica se divide en dos grandes grupos; el primero es la Electrólisis, misma que se produce cuando por la acción de una corriente eléctrica se generan reacciones químicas. El segundo grupo en cambio hace referencia a aquellas reacciones químicas que generan una corriente eléctrica, proceso generado comúnmente en una celda o pila galvánica (ECURED, 2013).

Cuando una reacción química es conducida mediante una diferencia de potencial que se aplica externamente, esto se refiere a una electrólisis. Por el contrario, si la caída de potencial eléctrico es creada como consecuencia de la reacción química, esto se conoce como un "acumulador de energía eléctrica" llamado comúnmente celda galvánica o batería (Palacios, 2016).

2.3.1.1 Reacciones Redox.

Se conocen como reacciones Redox a las reacciones químicas en las cuales se produce una transferencia de electrones entre moléculas y juegan un rol vital dentro de la electroquímica pues los procesos que generan electricidad o son producidos como consecuencia de ella se generan mediante este tipo de reacciones. (ECURED, 2013).

En general, la electroquímica estudia escenarios donde se producen reacciones de oxidación y reducción física o temporalmente separadas, dentro de un entorno conectado a un circuito eléctrico.

2.3.1.2 Celdas Electroquímicas

El principio fundamental que rige el comportamiento de las celdas electroquímicas como fuentes de corriente eléctrica, está basado en las reacciones químicas que se generan entre los electrodos sumergidos en las soluciones electrolíticas por efecto del paso de la corriente eléctrica bajo determinadas condiciones, cuando una celda se comporta como una fuente real de corriente eléctrica utilizable, esta puede ser aprovechada industrialmente (Chavez, 2016).

Una celda electroquímica es un dispositivo conformado por dos cámaras cada una de ellas consta de un electrodo y un electrolito. En cada parte funcional de la celda (cámara) se puede utilizar el mismo o diferente tipo de electrodo. Las reacciones químicas en la celda pueden involucrar el electrolito, los electrodos, o una sustancia externa (como catalizador). En una celda electroquímica completa, una cámara (anódica) pierde electrones (oxidación) de su electrodo mientras que la otra cámara (catódica) gana electrones (reducción) para su electrodo.

2.3.2 Celdas de Combustión

Una celda de combustible es un dispositivo electroquímico cuyo comportamiento es muy similar al de una batería. Se basa en la generación de electricidad a partir del uso de elementos químicos a modo de combustible y el oxígeno como oxidante universal de una reacción.

Se habla de diferentes tipos de celdas, ya que dependerán del combustible que use para la generación eléctrica, “en ese sentido actualmente también pueden ser usados otros que contengan hidrógeno en su estructura molecular, caso como el gas metano, gas natural, metanol, etanol, gasolina o diésel entre otros” (Jara, 2015)

Las celdas de combustible funcionan como baterías, con la diferencia de que no se agotan o necesitan recargarse de nuevo. Producen electricidad y calor en tanto se suministre el combustible que necesitan (Energias, 2014).

Las pilas de combustible están conformadas por dos electrodos, uno negativo o ánodo y otro positivo o cátodo, intercalados en un electrolito. El hidrógeno actúa como combustible y alimenta el ánodo. Y, por otro lado, el oxígeno del aire alimenta el cátodo. Activado por un catalizador, el hidrógeno se separa en protones y electrones, que siguen distintos caminos hasta el cátodo. Los electrones atraviesan un circuito externo, lo que crea un flujo de electricidad (Energias, 2014).

Los avances científicos y tecnológicos relacionados a las celdas de combustible han dado lugar para la generación de distintos tipos de estas, diferenciadas por el electrolito que emplean para su operación, algunas de estas se nombran a continuación:

2.3.2.1 Celdas Alcalinas (AFC)

Las pilas alcalinas como su nombre indica, trabajan con un electrolito alcalino como hidróxido de potasio o una membrana alcalina. La NASA las utilizó por primera vez para sus misiones espaciales por presentar un mayor rendimiento, pero ahora tienen nuevos usos como el notorio caso de las fuentes de energía portátil (Energias, 2014).

2.3.2.2 Celdas de membrana de intercambio Protónico (PEM)

Las celdas de membrana de intercambio protónico PEM (Polymer Electrolyte Membrane) o pilas de membrana de electrolito polimérico, utilizan específicamente un polímero de membrana como electrolito. Estos tipos de pilas funcionan a una temperatura relativamente baja y pueden variar rápidamente su producción para satisfacer la demanda de energía. Las pilas PEM son las más adecuadas para alimentar vehículos. También pueden ser empleadas en estaciones de producción energética (Energias, 2014).

2.3.2.3 Celdas de ácido Fosfórico (PAFC)

Las celdas de ácido fosfórico usan como electrolito ácido fosfórico contenido en el interior de una matriz porosa. Trabajan en torno a los 200 °C. Normalmente se usan en módulos, para producir 400kW o incluso más, y se emplean comúnmente en estaciones de producción de energía para hoteles, hospitales, establecimientos que tengan cámaras frigoríficas que consumen mucha energía, y edificios de oficinas, donde también se puede aprovechar el calor residual para calefacción (cogeneración) (Energías, 2014).

2.3.2.4 Celdas de Carbonato fundido (MCFC)

Las pilas de carbonato fundido MCFC (Molten Carbonate Fuel Cells) usan como electrolito una sal de carbonato fundido inmovilizada dentro de una matriz porosa. Se están usando en instalaciones para la producción de energías medianas o de gran tamaño, donde su alta eficiencia contribuye a ahorrar gran cantidad de energía de la red. Por su funcionamiento a altas temperatura (aproximadamente 600 °C) estas pueden reformar internamente combustibles tales como el gas natural o el biogás (Energías, 2014).

2.3.2.5 Celdas de óxido sólido (SOFC)

Las celdas o pilas de óxido sólido utilizan una capa cerámica delgada como electrolito sólido. Se desarrollaron con el objetivo de proporcionar energía en múltiples instalaciones, y también para ser dispositivos de energía auxiliar en camiones de gran tonelaje. Trabajan a temperaturas de entre 700 °C a 1000 °C con electrolitos a base de óxido de circonio, y a temperaturas de 500 °C cuando el electrolito es óxido de cerio. Estas pilas también pueden reformar internamente gas natural y biogás, y pueden combinarse con motores a gas para producir electricidad con eficiencias del 75% (Energías, 2014).

2.3.2.6 Celdas de Combustible Microbianas (CCM)

Las celdas de combustible microbianas (Microbial Fuel Cells, MFCs) son sistemas bioelectroquímicos altamente capaces de digerir un amplio rango de sustancias orgánicas, entre ellos uno de los más aplicados es el caso de la digestión de diferentes tipos de aguas residuales que como producto de este proceso generan energía eléctrica. En el caso de aguas residuales, esto equivale a

decir que las MFCs son capaces de reducir la demanda química de oxígeno (DQO) del agua al tiempo que producen electricidad a partir de la materia contaminante contenida (Remtavares, 2012).

2.3.3 Celdas de Combustible Microbianas

En la década de los 60's, las celdas de combustible microbianas fueron conocidas como dispositivos para la obtención de electricidad como respuesta a la demanda de un sistema energético eficiente para la industria espacial; sin embargo, su principio fundamental ya había sido reconocido por William Grove, quien en 1839 realizó algunos ensayos donde demostraba la posibilidad de generar electricidad mediante la reacción electroquímica entre el hidrógeno y el oxígeno (Livano Garcia, 2012).

En el año 2000 Grimes afirma que posterior al descubrimiento de Grove, desde 1839 hasta 1950, varios científicos sentaron bases para las nuevas investigaciones relacionadas a las celdas de combustible. “Las principales contribuciones identificadas señalan a Antonio Becquerel quien diseñó un tipo de batería usando una mezcla de nitrato de potasio y platino, Ludwing Mong y Carl Langer produjeron una batería alimentada con gas y la denominaron celda de combustible, el Dr. William W. Jacques implementó carbón como electrodo en celdas de combustible, W. Nerst introdujo el concepto de las reacciones REDOX en las celdas de combustible y Francois Bacon quien implementó sistemas alcalinos como catalizadores en celdas de combustible.” Estos y muchos otros avances permitieron que las aplicaciones de las celdas de combustible se expandan desde transporte, usos militares, almacenamiento y portabilidad de energía, hasta tratamiento de aguas residuales y demás (Pineda Marín A. d., 2016).

Una Celda de combustible microbiana (CCM) es un mecanismo de funcionamiento bio-electroquímico, que convierte la energía química almacenada en los enlaces químicos de la materia orgánica o inorgánica a electricidad, mediante reacciones catalizadas por microorganismos bajo condiciones anóxicas (Rodriguez Varela, Solorza Feria, & Hernandez Pacheco, 2010).

Generalmente, una celda de combustible microbiana está conformada por dos cámaras; una anódica y una catódica, separadas por una membrana sintética de intercambio protónico. Los microorganismos presentes en el ánodo oxidan la materia orgánica generando protones (H^+) y electrones (e^-) (Pineda Marín A. d., 2016)

Los microorganismos son los encargados de transferir los electrones hacia el ánodo, luego los electrones pasan a través de una resistencia u otra carga hacia el cátodo, por ende, los electrones generados en la reacción será aprovechada para ser convertidos directamente en energía eléctrica. Finalmente, los protones migran hacia la cámara catódica en aerobiósisis donde se combinan con el oxígeno y se forma agua (Buitron & Pérez, 2011).

Para describir el funcionamiento de las celdas de combustible, puede tomarse como referencia las celdas de hidrógeno, en las cuales ocurren las siguientes reacciones químicas:

- Reacción anódica: $H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$
- Reacción catódica: $1/2 O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O$
- Reacción global: $H_2 + 1/2 O_2 \rightarrow H_2O$

Para estos sistemas, cualquier combustible que incluya hidrógeno en su composición, puede ser empleado en el funcionamiento de la celda, claros ejemplos de estos son; el gas natural, carbón gasificado, gasóleo o metanol. “La superficie de los electrodos y la separación entre ellos, la estructura íntima de los electrodos, el electrolito empleado, las dimensiones geométricas, las condiciones termodinámicas de operación y las características de los reactantes, son factores que influyen en el voltaje de la celda y en la energía que esta produce” (Livano Garcia, 2012).

2.3.3.1 Conformación de la Celda de Combustible Microbiana

2.3.3.1.1 Electroodos

2.3.3.1.1.1 Ánodo

El ánodo es uno de los componentes fundamentales de las cámaras de combustible microbiana, es aquí donde las bacterias catalizan la oxidación y liberan electrones como resultado de la respiración. (Logan & Regan, *Microbial Fuel Cells Challenges and Applications.*, 2006) La zona donde se ubica el ánodo llamada cámara anódica, tiene que estar libre de oxígeno para evitar la minimización de generación de energía eléctrica (Logan B. E., 2008).

Los materiales con los que se deben construir los ánodos deben ser conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del reactor. Ánodos metálicos consistentes de

mallas de acero inoxidable no corrosivo pueden ser utilizados. El material de electrodo más versátil es el carbón, disponible como placas de grafito compacto, barras o gránulos.

Entre los materiales comúnmente empleados como ánodos a escala de laboratorio, se encuentran comúnmente el carbón (Wei, Liang, & Huang, 2011), disponible como placas de grafito compacto, barras, gránulos, o también es común encontrar electrodos de papel carbón, fibra de carbón, tela fieltro, etc., los de metal siendo el más utilizado la malla de acero inoxidable no corrosiva (Falcón, Lozano, & Juárez, 2009.).

2.3.3.1.1.2 Cátodo

En la mayoría de las celdas de combustible microbianas, los electrones llegan al cátodo, a través de un circuito externo, se combinan con los protones que se difunden desde el ánodo a través de la membrana y junto con el oxígeno presente en la cámara catódica, dando como resultado la formación de agua (Logan, y otros, 2006.)

En su mayoría los materiales utilizados como ánodo pueden también ser empleados como cátodos, y estos pueden ser expuestos al aire, en fase acuosa o bio cátodos (Wei, Liang, & Huang, 2011)

El oxígeno al ser el oxidante universal más eficaz, es el aceptor más apropiado de electrones para una celda de combustible microbiana debido a su disponibilidad, bajo costo, sustentabilidad, y la carencia de residuos químicos. La selección del tipo de material del cátodo influye de manera directa y considerable en el desempeño de las CCM. Es así que, se usan catalizadores de platino, con el fin de incrementar la velocidad de reducción de oxígeno en el interior de la cámara catódica. Es importante mencionar que para abaratar la inversión económica de la celda, la cantidad de platino debe mantenerse a 0.1 mg/cm^2 (Cheng, Liu, & Logan, 2006).

2.3.3.1.2 Membrana

Para evitar que el oxígeno compita con el ánodo como aceptor final de electrones, se establece una membrana o separador que crea dos zonas claramente diferenciadas; la cámara anódica donde los microorganismos crecen y la cámara catódica donde los electrones reaccionan con el católico (Logan B. E., 2008).

En la última década han sido exploradas una gran variedad de membranas, incluyendo membranas de intercambio catiónico (CEM), membranas de intercambio aniónico, membranas bipolares, membranas de micro filtración, membranas de ultrafiltración, puentes salinos, fibra de vidrio, telas porosas, entre otros (Li, Sheng, Liu, & Yu, 2011).

Las membranas de tipo membranas de intercambio protónico han sido las más usadas en estudios de celdas de combustible microbianas, una de las más comunes es el de Nafion fabricada por DuPont Inc., USA., que muestra una alta permeabilidad a los protones (Borole, Hamilton, Vishnivetskaya, Leak, & Andras, 2009; Alzate Gaviria, 2008; Wang, 2010).

2.3.3.1.3 Microorganismos

En las celdas de combustible microbianas se han empleado tanto cultivos puros como cultivos mixtos, obteniéndose según la bibliografía consultada, mejores resultados con consorcios bacterianos ya que incrementan el contacto físico microorganismo-ánodo y por ende incrementan la intensidad de la potencia eléctrica generada. Para el caso de cultivos mixtos se sabe que pueden ser obtenidos a partir de lodos activados y que en algunos casos estos podrían necesitar mediadores Redox exógenos.

En el catabolismo microbiano normal, sustratos como los carbohidratos se oxidan inicialmente en ausencia de oxígeno cuando sus electrones son liberados por reacciones enzimáticas. Estos electrones son conservados como intermediarios que posteriormente son reducidos, y es en este estado que son usados para dar pie a reacciones que provean de energía a la célula para su mantenimiento y crecimiento, por medio de reacciones biosintéticas (Bennetto, 1990).

En ausencia de oxígeno los electrones deben ser sacados de la cadena respiratoria por un mediador Redox, que entra en la capa externa de la membrana celular, se reduce y sale nuevamente en su estado reducido. Este mediador luego cede los electrones robados a un electrodo cargado negativamente: el ánodo, y posteriormente estos fluyen por un circuito externo generando corriente a su paso (Bennetto, 1990).

Para completar el circuito, se requiere un segundo electrodo cargado positivamente: el cátodo que haría el papel de aceptor final de electrones, pero que, a diferencia del oxígeno, sería un aceptor externo al sistema biológico (Bennetto, 1990).

2.3.3.1.3.1. *Bacterias Eléctricas*

Las celdas de combustible microbiana utilizan microorganismos para oxidar la materia orgánica, y transferir los electrones a un electrodo (ánodo), que está conectado a un cátodo a través de un material conductor que contiene una resistencia. Las cámaras que albergan estos electrodos, la anódica (anaerobia) y la catódica (aerobia), están comunicadas por una membrana de intercambio que permite el paso de protones. De esta forma, los protones generados en la oxidación de la materia orgánica se combinan con oxígeno y con los electrones que llegan al cátodo para formar agua (Pistonesi, Luis, & D'Elmar, 2010)

Para la cámara anódica, se pueden utilizar cultivos de una sola especie microbiana, pero es preferible utilizar comunidades microbianas mixtas que pueden generar altos potenciales y al mismo tiempo ser más económicos y menos exigentes (Revelo, Hurtado, & Ruiz, 2013).

“Por otro lado, en la cámara catódica, se pueden utilizar cultivos de bacterias Gram negativas en su mayoría, o cultivos de algunas Gram positivas tales como *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus carnosus*, que también hacen una transferencia directa de electrones, otras como *Acinetobacter calcoaceticus* que excretan compuestos activos Redox para transferir electrones al oxígeno catódico y las *Dechlorospirillum anomalous* que aceptan electrones del cátodo para reducir perclorato” (Huang, Regan, & Quan, 2011).

2.3.3.1.4 *Sustrato*

“Las aguas residuales pueden definirse como las aguas que provienen del sistema de abastecimiento de agua de una población, después de haber sido modificadas por diversos usos en actividades domésticas, industriales y comunitarias...” (Mara, 1990).

Las aguas residuales contienen tanto carga orgánica como inorgánica, y los microorganismos presentes juegan un papel muy importante eliminando específicamente los compuestos orgánicos presentes, evitando que ciertos organismos patógenos contenidos en estos lleguen a los ríos o a otros abastecimientos de agua.

Las aguas residuales domésticas (ARD) se componen de diversos constituyentes de tipo físico, químico y biológico que se encuentran en suspensión o en disolución y que son de tipo

orgánico e inorgánico. Casi la totalidad de la materia orgánica, contenida en ellas, está constituida por residuos de alimentos, excretas, materia vegetal, sales minerales y materiales diversas como jabones y detergentes sintéticas. (Torres Lozada, Foresti, & Vazoller, 1996)

El uso de aguas residuales domésticas en reactores a escala de laboratorio presenta una gran dificultad, no solo debido a la gran inestabilidad fisicoquímica y bacteriológica en sus componentes sino también la dificultad en el traslado de grandes muestras al laboratorio, sumado a esto la demanda permanente de las mismas para la alimentación de los reactores, y principalmente alto umbral de peligro debido a la presencia latente de microorganismos patógenos.

Dado esto, los estudios en el tratamiento anaerobio a escala de laboratorio están limitados al uso de aguas residuales sintéticas (ARS) mismos que presentan una composición fisicoquímica totalmente distinta del agua residual doméstica lo que no permite la reproducción de los procesos bioquímicos importantes para el desarrollo de los sistemas de tratamiento. Para la composición de un Agua Residual Sintética (ARS), que presente características similares a las del Agua Residual Doméstica (ARD) pero con una carga nula de organismos patógenos, hay que formular una ARS bioquímicamente análoga al agua residual doméstica, de forma que pueda ser usada en investigaciones a nivel de laboratorio y en bioreactores prototipo como es el caso de las celdas de combustible microbianas.

2.3.3.2 Configuración de la Celda

2.3.3.2.1 Configuración de electrodos

Los electrodos son componentes clave en la determinación del desempeño y costo de las CCM. El diseño y la configuración de estos sigue siendo el mayor reto para convertir a las Celdas de Combustible Microbianas en una tecnología rentable y escalable (Wei, Liang, & Huang, 2011).

Independientemente del tipo de electrodo, su material base ha de ser un buen conductor, con buena estabilidad química, alta resistencia al esfuerzo mecánico y preferiblemente de bajo costo. El Carbón y algunos metales no corrosivos, generalmente son los materiales más usados, dado que estos cumplen con todas estas condiciones.

A más de esto hay algunos otros requerimientos según el tipo de electrodo, por ejemplo, los bio-electrodos, no solamente juega el papel de material conductor de electrones, sino también como soportes para el crecimiento de la Biomasa (Biofilm Bacteriano). Algunas otras características esenciales para asegurar la alta actividad bio-catalítica dentro de la celda, es que los materiales de los electrodos presenten una alta rugosidad, buena compatibilidad, y una transferencia de electrones eficiente entre las bacterias y la superficie del electrodo (Wei, Liang, & Huang, 2011).

Los electrodos más comunes, pueden ser clasificados de acuerdo a sus configuraciones: el electrodo plano bidimensional y el electrodo tridimensional. Los primeros son más comunes para el caso de los electrodos aireados (Wei, Liang, & Huang, 2011).

2.3.3.2.2 Tipo de Flujo

Con respecto al flujo, existen diferentes tipos manejados en una MFC, entre los cuales se encuentran el flujo discontinuo, semicontinuo y batch (Pistonesi, Luis, & D'Elmar, 2010).

En todos estos, se evidencia una similitud en su funcionamiento, el cual se basa en el tiempo de retención empleado, teniendo que este es uno de los parámetros más importantes en todo sistema de tratamiento de aguas residuales. Cuando la presencia de sólidos en suspensión es considerable, existe un tiempo de retención óptimo que permite una máxima remoción de los mismos (Pistonesi, Luis, & D'Elmar, 2010).

El flujo tipo batch es el de mayor implementación en estos sistemas, cuando es utilizado en las CCM, se da una generación de energía similar al crecimiento de los microorganismos depositados en el mismo, en el que se lleva cabo un consumo total de la materia orgánica del agua residual utilizada en el montaje, y posteriormente un recambio de esta. El proceso es monitoreado a través de las caídas de potencial del sistema, el cual crece de forma exponencial luego de su alimentación y estabilización, para luego disminuir con el consumo total de la materia orgánica presente. En este caso son comunes tiempos de retención oscilantes entre 6 y 9 días con respecto a la caída de potencial (Venkata, Raghavulu, Sandipam, & PN., 2007).

Para el funcionamiento del sistema con un flujo continuo, se requiere realizar un control en el caudal para obtener el tiempo de retención hidráulica deseado (HRT), según autores, la CCM debe funcionar durante más de 3 meses antes de su puesta en marcha, ello para su estabilización, con la

finalidad de que la comunidad microbiana logre colonizar el ánodo, teniendo que pueden ser empleados tiempos de retención de cuatro, siete y diez horas (Gil-Carrera, 2013).

Por su parte el estudio del flujo semicontinuo para las CCM se realiza en tiempos de retención hidráulico (TRH) que no superen las 24 horas, ya que por ciertas consideraciones se afirma que mediante este sistema, son menos fluctuantes las caídas de potencial (Alzate-Gaviria, y otros, 2010).

2.3.3.3 Parámetros operacionales

2.3.3.3.1 pH y electrolito de las cámaras

Teóricamente no habría cambio de pH de la celda 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 carencia de una solución amortiguadora en una CCM, obviamente significa una diferencia de pH entre la cámara anódica y la cámara catódica. Aunque la membrana de intercambio protónica genera una barrera en el transporte de estos, generándose una diferencia de pH, debido a que el transporte de protones a través de la membrana es más lento 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 CCM. (He, Huang, Manohar, & Mansfeld, 2008). En el trabajo de investigación presentado por los autores (Gil, Chang, Kim, Kim, & Jang, 2003), se percató una diferencia de pH de 4.1 después de 5 horas de operación de la celda con un pH inicial de 7 sin utilizar ningún tipo de amortiguadores, seguido a esto, se registra una adición de un amortiguador de fosfatos (pH 7), generando un cambio de pH en el ánodo y cátodo fue menor de 0.5 unidades, por ende la salida de corriente se incrementó alrededor de 1 a 2 veces. Es por ello que dentro del proceso microbiano anódico se prioriza un pH neutro, ya que las actividades microbianas disminuyen a medida que el pH aumenta o disminuye notoriamente, es por lo que el empleo de amortiguadores es fundamental dentro de la celda de combustible microbiana. (He, Huang, Manohar, & Mansfeld, 2008).

2.3.3.4 Mecanismo de transferencia de electrones

Se puede definir la transferencia de electrones, como el proceso en el cual los electrones generados por el proceso de oxidación de compuestos orgánicos se transfieren a la superficie externa de la célula, donde son reducidos por un aceptor terminal de electrones extracelular (Lovley, 2008)

Dado esto, a continuación se establece el mecanismo que explica cómo los microorganismos liberan los electrones al electrodo.

2.3.3.4.1 Transferencia directa de electrones

La transferencia directa de electrones al electrodo es generalmente el mecanismo más usado de transferencia dentro de la celda de combustible microbiana, ya que básicamente consiste en un proceso por el cual los microorganismos pueden transferir los electrones directamente hacia el electrodo sin necesidad de ningún mediador externo.

2.3.3.5 Aplicaciones de las Celdas de Combustible Microbiana

2.3.3.5.1 Tratamiento De Aguas Residuales

En los últimos años, el tratamiento bioelectroquímico de aguas residuales ha emergido como una tecnología altamente interesante en la generación de energía a partir de aguas residuales, este tratamiento bioelectroquímico se basa en el uso de microorganismos electroquímicamente activos que son capaces de transferir electrones extracelularmente a un electrodo mientras oxidan la materia orgánica presente en las aguas residuales. Dichos microorganismos funcionan como un agente catalizador para la oxidación electroquímica de la materia orgánica, siendo el electrodo descrito como un bioánodo microbiano. El mecanismo de tratamiento de aguas residuales se puede modificar mediante una conexión eléctrica del bioánodo a un electrodo auxiliar que en este caso sería el cátodo, el mismo que se ocupará de las reacciones de reducción, como resultado de esta conexión que vincula el ánodo y el cátodo se generan ciertas reacciones entre los electrodos, ocasionando que los electrones generados por la reacción fluyan del ánodo al cátodo generando de esta manera así una corriente eléctrica (Rozenda, Hamelers, Rabaey, Keller, & Buisman, 2008).

El campo de la industria, la agricultura por lo general genera grandes cantidades de aguas residuales con alto contenido de materia orgánica disuelta que debe ser removida antes de ser descargada a su cauce natural. Hoy en día existen procesos enfocados en la remoción de estos contaminantes orgánicos presentes en estas aguas de desecho, en su mayoría estos procesos son tratamientos aeróbicos, la desventaja es que este tipo de tratamiento consume grandes cantidades de energía en el proceso de aeración. Sin embargo, con el pasar de los años el tratamiento de aguas residuales ha empezado a ser reconocido como una importante fuente renovable para la producción

de una energía limpia (electricidad) la cual podría ser empleada para el mismo proceso de tratamiento de efluentes (Aelterman, Rabaey, Clauwaert, & Verstraete, 2006; Logan & Regan, *Microbial Fuel Cells Challenges and Applications*, 2006).

2.3.3.5.2 Celda de combustible microbiana acoplada a un reactor anaerobio

Partiendo que de la materia orgánica presente en residuos tanto sólidos como líquidos se puede obtener una variedad de biocombustibles y subproductos siendo la glucosa la principal fuente de carbono (Logan B. E., 2004). Se ha acoplado las celdas de combustible microbianas a biorreactores para tratamiento de efluentes contaminados (Liu, 2004). Una gran cantidad de trabajos enfocados en el estudio de las CCMs, han optado por emplear cepas microbianas puras, entre las cuales se prioriza *Shewanella putrefaciens*, *Escherichia coli*, *Geobacter sulfurreducens* y *Rhodospirillum rubrum*, cabe recalcar que en las dos últimas cepas mencionadas se han resaltado como positivos por su alta eficiencia coulombica (~98%) con la que transfieren electrones hacia el ánodo a partir de compuestos como glucosa, acetato y butirato (Cheng, Liu, & Logan, 2006b), aunque esta característica no siempre implica una gran transferencia energética bacteriana, es por ello que es necesario percatarse de la densidad de potencia que se genera en estos sistemas. Por otra parte, se han realizado estudios investigativos y académicos, haciendo énfasis en el uso de consorcios y cultivos mixtos, en los cuales se han obtenido eficiencias coulombicas cercanas a las obtenidas con cultivos puros (~90%) (Rabaey K., 2004).

2.3.3.5.3 Biosensores

Son dispositivos pequeños y portátiles que podrían autoabastecerse energéticamente, son usados habitualmente en análisis ambientales (Choi, 2015), para lo cual se han diseñado distintas configuraciones como las CCMs a escala de laboratorio y las pilas de CCMs, estas últimas enfocan su estudio en la generación y entrega de energía lumínica en función de su capacidad para encender bombillas LED aplicadas con un grado considerable de éxito, gracias a la implementación de materiales comunes con el fin de brindar una alternativa energética de manera ecológica a las periféricas, las mismas que son caracterizadas por el acceso restringido de la energía eléctrica convencional (Yazdi, Alzate-Gaviria, & Zhiyong, 2015).

También estas celdas son aplicadas como biosensores de DBO (Zhang & Angelidaki, 2011), detectores de compuestos químicos como la glucosa (Kumlanghan, Liu, Thavarungkul, Kanatharana, & Mattiasson, 2007) y acetatos (Tront, Fortner, Ploetze, Hughes, & Puzrin, 2008) se considera también su aplicación útil para entender y modelar respuestas de los ecosistemas obteniendo datos del medio ambiente (Logan & Regan, *Microbial Fuel Cells Challenges and Applications.*, 2006).

Otra importante aplicación dentro del campo de los biosensores es la detección de compuesto tóxicos, ya que las bacterias presentes muestran una baja actividad metabólica cuando son inhibidas por compuestos tóxicos (Davila, Esquivel Bojorquez, Sabate, & Mas, 2011) dicho efecto causa una baja transferencia de electrones hacia el electrodo.

2.3.3.5.4 Deionización capacitiva (Capacitic Deionization)

Según Borole y Campbell (2011) la deionización capacitiva se basa en la electrosorción para la desalinización de aguas.

De esta manera, y según Ying et al; 2002, la electrosorción se define como:

La adsorción inducida por un potencial en la superficie de electrodos cargados, en los cuales pueden adsorberse los iones en solución al imponer el campo eléctrico (Ying, Yang, Yiacoumi, & Tsouris, 2002.)

Por otro lado, la deionización capacitiva por parte de Gabelich et al; 2002, se establece como:

Un proceso de electrosorción que sigue el principio descrito anteriormente empleando como electrodos aerogeles de carbono los cuales al encontrarse saturados con sales o impurezas, los electrodos se regeneran mediante descarga eléctrica liberando así los iones adheridos (Gabelich, Tran, & Suffet, 2002).

De acuerdo al estudio de Campbell y Borole en el año 2011, no se registra el empleo de forma directa de la energía generada por la celda de combustible microbiana, ya que se suministró un voltaje similar al generado por la CCM con un distinto dispositivo. El voltaje fue proporcionado hacia un dispositivo de deionización capacitiva que permitió tratar una solución de NaCl a 1500 ppm, como resultado del proceso. Dado a esto, los investigadores captaron que este proceso de deionización se genera, a pesar de que el mismo sea alimentado con bajos voltajes como es el caso de las CCMs.

2.3.3.5.5 Recuperación de metales pesados

De igual manera, este proceso ha sido adaptado a las celdas de combustible microbiana, ya que las recuperaciones de metales pesados han sido acoplados de forma paralela a la generación de energía. En la actualidad, se han generado nuevos métodos de estudio y tratamiento para la recuperación de cobre a través de la precipitación en el cátodo (Heijne, y otros, 2010) y zinc gracias al uso de las CCM acopladas a membranas líquidas soportadas (Fradler, Michie, Dinsdale, Guwy, & Premier, 2014), en los casos anteriormente expuestos en este párrafo, se obtuvo un resultado exitoso, ya que la recuperación del metal y la generación energética fue positiva, pero cae recalcar que esta aplicación se encuentra restringida para la aplicación en aguas residuales con elevados contenidos de metales pesados, como es el caso de los lugares donde se desarrollan procesos vinculados con la minería o industrias metalúrgicas (Pineda Marín & Rosas Tafur, 2016)

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y METODOS

3.1 Nivel de investigación

El proyecto de las celdas de combustión microbiana tiene la característica de ser una investigación de tipo explicativa ejecutada dentro de los laboratorios de Ciencias de la Vida pertenecientes a la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

3.1.1 Tipo y diseño de investigación

Enfoque EXPLICATIVO ya que engloba el concepto de causa y efecto, ya que el presente diseño de investigación se centra en un carácter de tipo EXPERIMENTAL puesto que el mismo controla las variables durante el proceso de obtención de energía eléctrica, modificando los niveles de sustrato o concentración de las bacterias entéricas responsables de la purificación del Agua Residual Sintética (ARS) y a su vez de la producción de energía eléctrica.

3.2 Población y muestra

Dado el hecho que la investigación está limitada a un estudio en forma piloto, la misma cuenta con una población accesible finita, de 3000 mL de agua residual sintética (ARS) elaborada en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

En la investigación se llevó a cabo un muestreo de tipo casual o accidental, en cuanto al tamaño de muestras para la cámara anódica, se tomó volúmenes de 40 mL de agua residual sintética para cada una de las corridas con el fluido de tipo batch, con un total de 720 mL de agua residual sintética utilizada. Y para la celda con el fluido de tipo continuo una muestra total de 1500 mL.

3.3 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Las técnicas que se emplearon para la recolección de datos fueron materializadas mediante la OBSERVACIÓN DIRECTA, a través de la tabulación de datos en el programa informático Microsoft Excel; de igual manera se consideró el ANÁLISIS DOCUMENTAL y de CONTENIDO.

3.4 Técnicas de procesamiento de datos

El procesamiento y análisis los datos obtenidos fue realizado mediante la investigación documental, análisis, clasificación y registro de contenidos, bases de datos, observación directa, cámara fotográfica, bitácoras, bases de datos, registros anecdóticos, fichas técnicas, cámaras fotográficas y un diario de eventos.

3.5 Protocolo

3.5.1 Fase 1

3.5.1.1 Aislamiento de Microorganismos

Como primer punto, se procedió a la toma de muestras de lodos activados, de pozos sépticos ubicados en el cantón Chordeleg (Ver imagen 1), perteneciente a la provincia del Azuay; las muestras fueron transportadas a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca bajo condiciones de temperatura ambiente y evitando el contacto a radiación solar. Finalmente, las muestras fueron incubadas en estufas a 37 °C para que las bacterias mesófilas inicien su crecimiento y proliferación.



Imagen 1. Toma de muestras, lodos activados.

Una vez que las bacterias proliferaron, se procedió a la dilución de los lodos activados, con el fin de disminuir la concentración de carga bacteriana presente; las muestras se diluyeron con agua peptonada en concentraciones de 1:10 (1 mL de muestra en 10 mL de agua peptonada) 1:100, 1:1000, respectivamente. (Ver imagen 2).

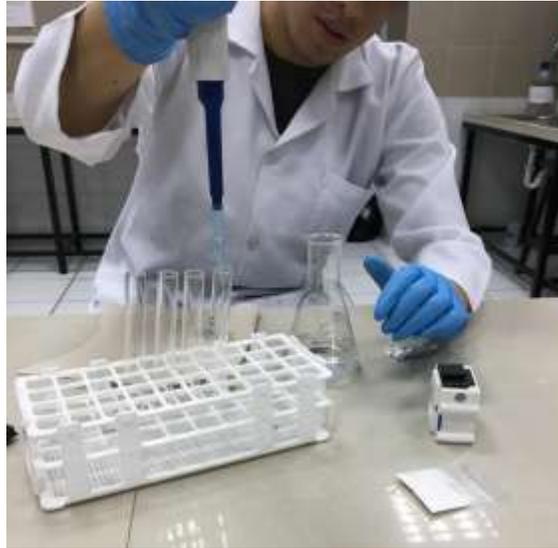


Imagen 2. Diluciones de lodos activados.

Posteriormente se procedió a sembrar dichas diluciones; inicialmente en medio de cultivo nutritivo para que todas las bacterias presentes en los lodos activados proliferen. Las muestras fueron incubadas a 37 °C por 72 horas. (Ver imagen 3).



Imagen 3. Siembra de diluciones en agar nutritivo.

Luego de este periodo de tiempo, se observó que la muestra con mayor proliferación bacteriana fue la dilución de 1:100, procediéndose por ende a resembrar esta en medio de cultivo selectivo Eosin Methylene Blue Agar (EMB) e incubarlas en las mismas condiciones antes citadas;

finalmente las muestras fueron analizadas por tinción de Gram, para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, (Ver imagen 4).

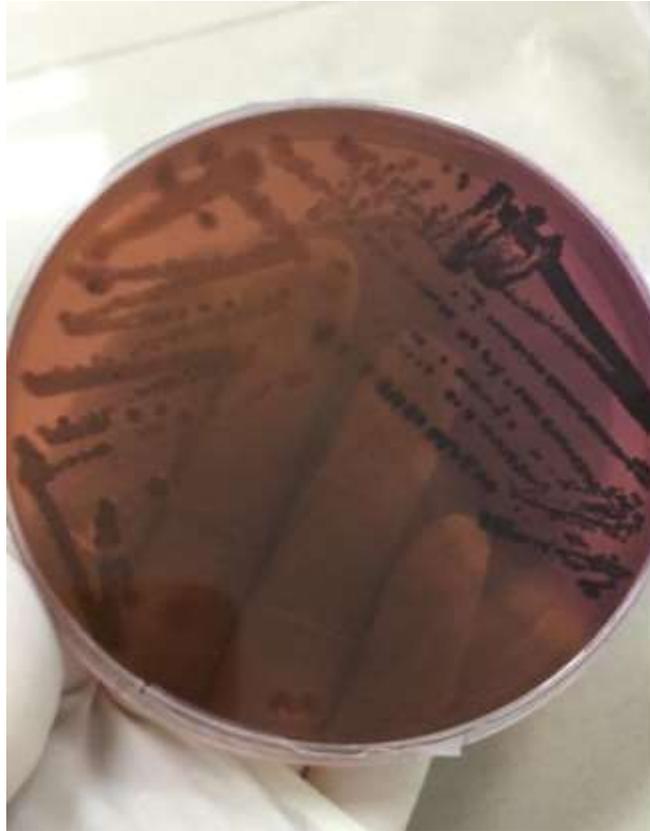


Imagen 4. Siembra en medio de cultivo selectivo EMB.

3.5.2 Fase 2

3.5.2.1 Construcción de la celda de combustible microbiana

Para el presente proyecto de investigación se requirió una celda de combustible microbiana desacoplable de doble cámara, que cumpla con el requisito de ser totalmente hermética. El primer prototipo fue diseñado en el programa simulador AutoCAD e impreso (3D) en un biopolímero denominado Polímero de Ácido Láctico (PLA) (Ver imagen 5).

Mediante el mismo método en 3D se procedió a la impresión de un segundo prototipo de celda, un sistema desacoplable de doble cámara, esta vez con una variación en cuanto al material, siendo este a base de un polímero conocido como ABS (acrilonitrilo butadieno estireno) con una modificación en cuanto al tamaño de las cámaras y mejorando la resistencia a factores ambientales. (Ver imagen 5).

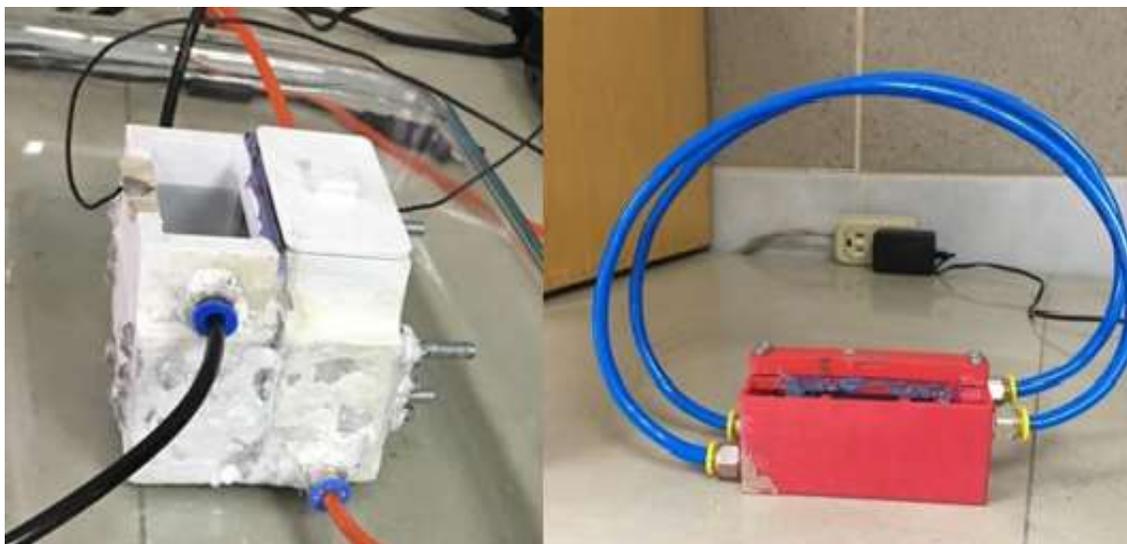


Imagen 5. Prototipos 1 y 2 CCM.

Desafortunadamente y luego de varias pruebas, los dos prototipos fueron descartados, ya que los materiales base no cumplieron con el requisito indispensable de la impermeabilidad.

Dado a los desfavorables resultados obtenidos, se optó por emplear un tercer diseño propuesto por Tibaquirá y Posner en el año 2009, el cual básicamente cuenta con un sistema desacoplable de doble cámara separado por una membrana de intercambio protónico.

Para este tercer prototipo se utilizó un termoplástico denominado *Grilon*, (un tipo de poliamida 6) debido que resultó ser mejor en cuanto a propiedades de hermeticidad y resistencia brindando las características óptimas para la materialización del presente trabajo de investigación, el modelo utilizado se detalla a continuación (Ver Imágenes 6 y 7)

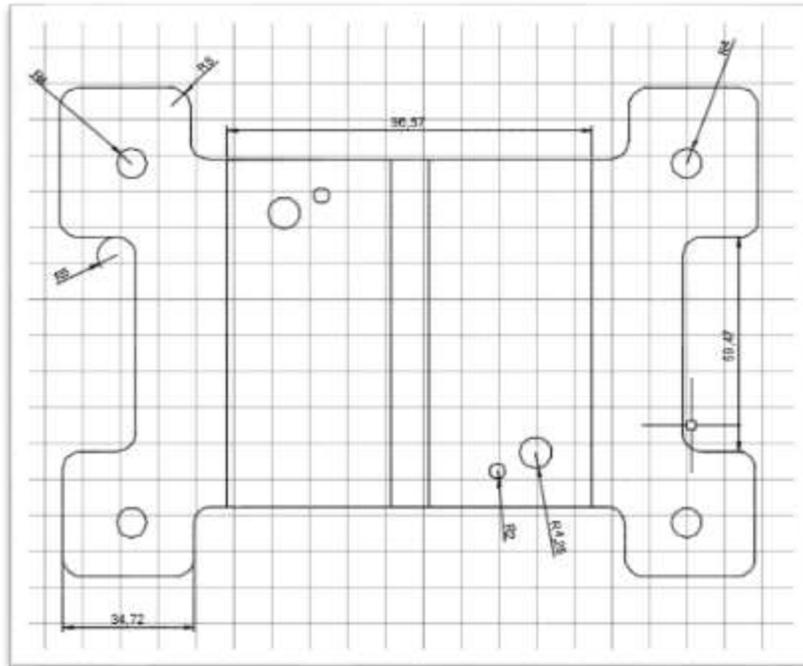


Imagen 6. Planos constructivos de la base de la celda de combustible. Dimensiones en (mm) (Autora).



Imagen 7. Prototipo final de la CCM. (Autora).

3.5.3 Fase 3

3.5.3.1 Preparación del equipo - tarjeta de adquisición de datos

Para la toma de datos funcionales generados por la celda de combustión microbiana: voltaje, amperaje; se elaboró una tarjeta de adquisición de datos (Ver Anexo 1) con el fin de filtrar los datos generados cada cierto límite de tiempo (10 minutos) para la posterior generación de la curva de crecimiento de potencial energético que se equipara a una curva de crecimiento microbiana de tipo logarítmica. Para lo cual se empleó el programa Arduino MEGA 8.1 con el siguiente código de programación en la misma interfaz de Arduino (Ver anexo 2).

Luego de la construcción de la CCM, se procedió a la instalación de la tarjeta de adquisición de datos, la misma que permitía procesar y almacenar la información en un lapso de tiempo de diez minutos de intervalo (este intervalo de tiempo fue ajustado a la técnica utilizada), dichas tarjetas en conjunto con las CCM permanecieron activas por un periodo de tiempo de cinco días (ciento veinte horas), con un resultado aproximado de 9000 datos.

Los resultados arrojados por las CCM, y almacenados en la tarjeta de adquisición de datos fueron comprobados a través de un multímetro, tal como muestra la imagen a continuación. (Ver imagen 8).



Imagen 8. Corroboración de datos.

Dichos valores se almacenaron en la memoria *EPROM* de Arduino, para luego ser leídos con la interfaz propia de Arduino; cabe recalcar que después de cada corrida se ejecutó el programa dentro de la misma interfaz de Arduino denominado *CLEAR*, con lo que se tuvo la posibilidad de deshacer la información almacenada en la memoria *EPROM*, con la finalidad de iniciar nuevas corridas desde cero.

3.5.3.2 Electroodos

Un factor muy importante dentro del diseño de la celda de combustible microbiana, son los electrodos, en el presente trabajo de investigación se empleó el modelo de placa colectora de electrodos para la celda de combustible propuesto por Tibaquiará y Posner (2009) diseño que se detalla en la Imagen 9 a continuación:

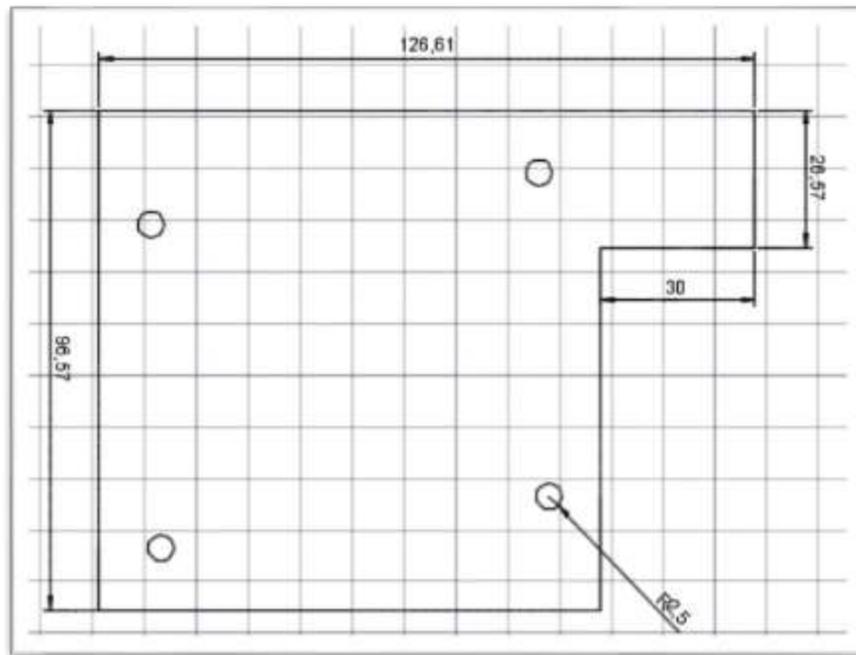


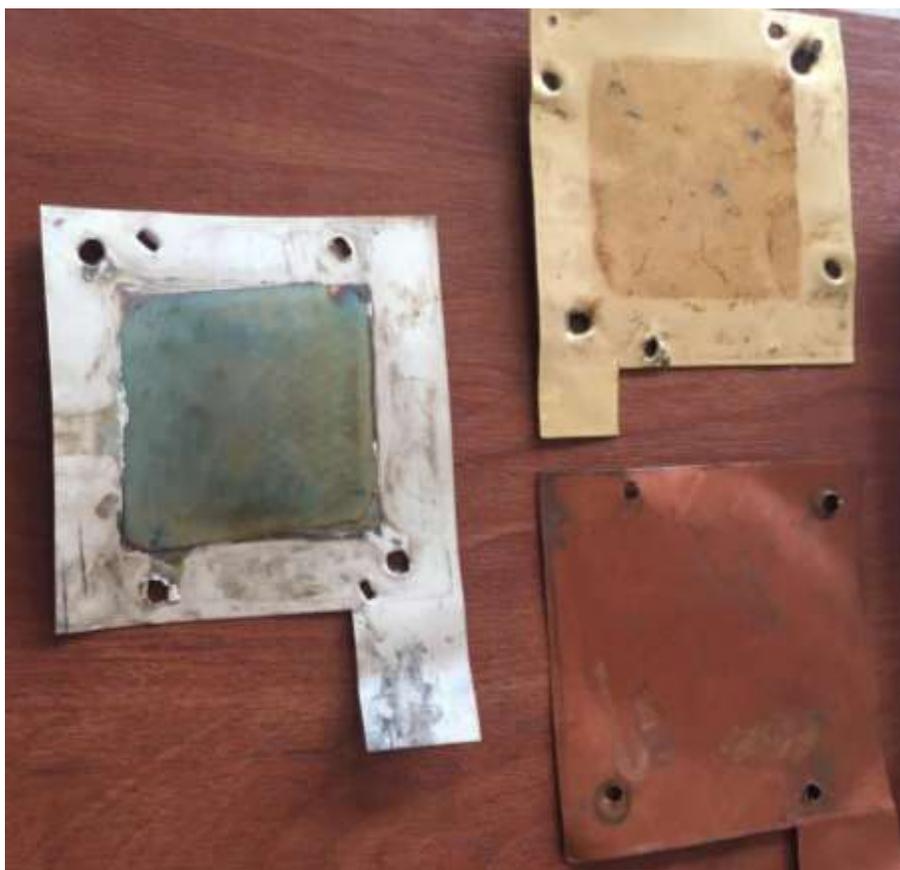
Imagen 9. Planos constructivos de los electrodos. Dimensiones en (mm) (Autora).

Partiendo de esto; se plantearon tres tipos de configuraciones de electrodos, las mismas que se detallan a continuación.

En la primera configuración, tanto para el ánodo como en el cátodo se utilizó electrodos construidos a base de Cobre (Cu); la segunda configuración fue de electrodos construidos a base de Plata (Ag); en cuanto a la tercera configuración se utilizaron electrodos de plata con chapado de oro.

En las tres configuraciones los electrodos estuvieron separados por una membrana e tipo Nitrilo, con una distancia de ánodo-membrana, membrana-cátodo semejante a las requeridas por el tamaño de la celda.

Para las tres configuraciones de electrodos, tanto el ánodo como el cátodo fueron construidos a base del mismo material. Los electrodos construidos para esta investigación se muestran a continuación en la Imagen 10.



*Imagen 10. Configuración de Electrodos (Cobre, Plata, Plata chapada con oro)
(Autora).*

3.5.4 Fase 4

3.5.4.1 Puesta en Marcha de la Celda de Combustible Microbiana

Para determinar el efecto generado por los electrodos dentro de los parámetros de funcionamiento de la celda, cada uno de los datos generados por cada uno de los electrodos fue realizado por triplicado, para su posterior validación estadísticamente.

Una vez finalizada las tres corridas con la configuración de electrodos de Cobre, se prosiguió con las corridas usando el electrodo de plata, y finalmente con la configuración de electrodos de plata con chapado de oro. A continuación, se detalla el procedimiento llevado a cabo en el presente trabajo de investigación.

Como primer punto se procedió a realizar la desinfección de la celda de combustible microbiana (CCM), luego se colocaron válvulas neumáticas para la entrada y salida de fluidos en cada una de los compartimientos de la celda. Una vez que todos los materiales fueron acondicionados se ensambló la celda (CCM) con el electrodo de Plata y membrana de nitrilo, se colocaron los empaques necesarios en cada una de las partes desmontables de la celda, para reforzar la hermeticidad de la celda. El sellado final se realizó con la utilización de pernos. (Ver Imagen 11).



Imagen 11. Sellado hermético de la Celda de combustible microbiana.

A la par de esto se procedió a la formulación y preparación del agua residual sintética (ARS), la misma que constó de una base de caldo de cultivo: Lauril Sulfato (mismo que es idóneo para la proliferación de Enterobacterias) enriquecida con 10 ppm de Nitrato de Sodio (NaNO_3) (Ver anexo 3).

Una fase previa a la alimentación del reactor fue la inoculación del consorcio bacteriano dentro del agua residual sintética, bajo condiciones mesofílicas ($15\text{-}35\text{ }^\circ\text{C}$) (Ver imagen 12).

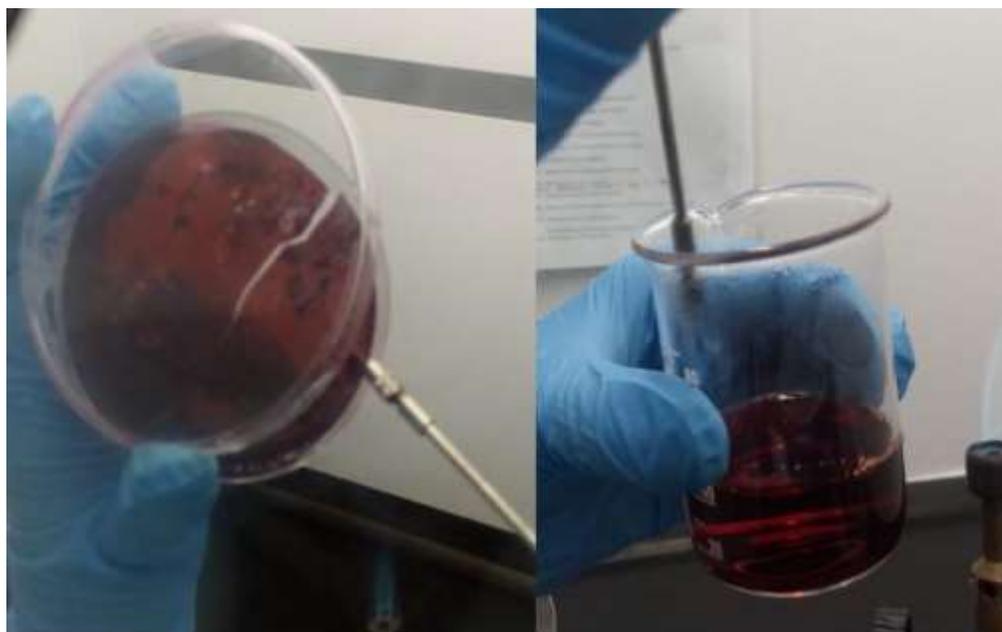


Imagen 12. Inoculación de bacterias en agua residual sintética. (ARS)

En cuanto a la fase de alimentación de la celda de combustible microbiana, dentro de la cámara anódica se ingresó el agua residual sintética, con las bacterias entéricas de la fase 1; para que se dé el proceso de aclimatación bacteriana por un periodo de tiempo de 72 horas. (Ver imagen 13).



Imagen 13. Alimentación de la celda de combustible microbiana.

A la par de lo anteriormente descrito, iniciaron los protocolos para la programación de la tarjeta de adquisición de datos. Teniendo en cuenta, que la toma de datos debía ser programada con un intervalo de tiempo de diez minutos.

Una vez que las bacterias se encontraban completamente aclimatadas, se procedió a realizar la conexión de los electrodos, mediante el uso de cables para pruebas tipo lagartos y bananos, los mismos que se conectaron a la tarjeta de adquisición de datos. (Ver imagen 14).

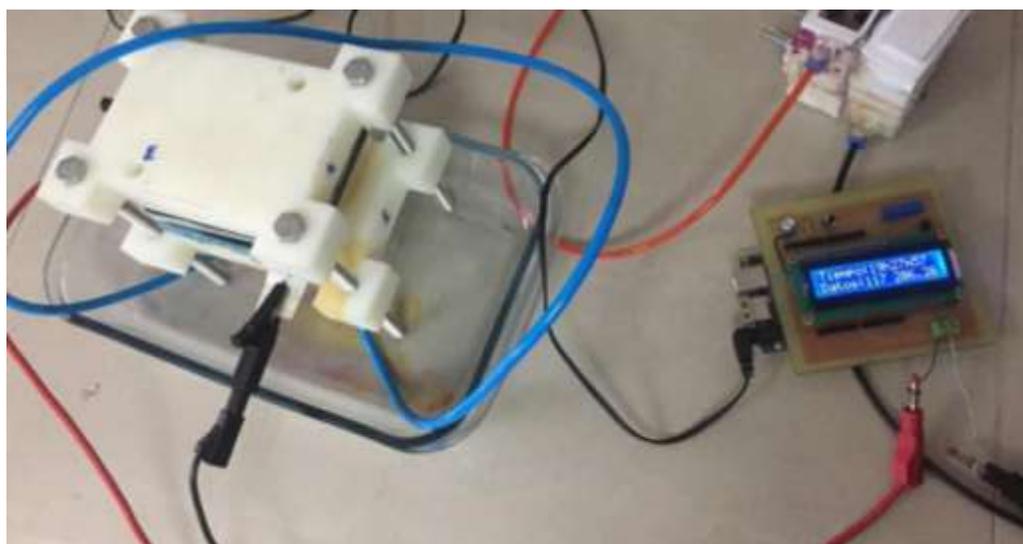


Imagen 14. Sistema conectado a la tarjeta de adquisición de datos

Una vez finalizado el procedimiento anterior, se inició la toma de datos, por un lapso de tiempo consecutivo de 8 días, los mismos que representan un periodo de ciento sesenta y ocho horas operacionales productivas.

Finalmente, los datos generados en cada corrida con cada configuración de electrodos fueron descargados a la tarjeta de adquisición de datos, y tabulados por el programa Microsoft Excel.

Por último, se procedió a la elaboración de las curvas de crecimiento de potencial energético.

Como una variante para determinar el efecto de los electrodos dentro de las características funcionales de la celda, como se menciona en el tercer objetivo específico, se realizó una variación en el tipo de alimentación intercambiando el flujo de tipo Batch al flujo de tipo continuo; procediéndose de la siguiente manera.

El ensamblaje de la celda de combustible microbiana se realizó de igual forma que con el flujo tipo Batch, con una variante que previo al ingreso del sustrato (ARS) al interior de la cámara anódica, se acopló un sistema para el control del caudal, con una regulación de 40 mL por minuto, para la alimentación de la celda.

El circuito del flujo de tipo continuo estuvo conformado por dos contenedores para la cámara anódica, uno de alimentación (ingreso) y otro de recepción (salida) de aproximadamente un litro de capacidad; el recipiente de alimentación requirió un volumen de 500 mL de sustrato (ARS) mismo donde fue inoculado el consorcio bacteriano aislado anteriormente. Para el funcionamiento con este tipo de flujo en la cámara catódica se ingresó 20 mL de solución salina (KCl).

Con el fin de que el sustrato circule dentro de la celda de combustible microbiana (CCM), se instaló una bomba de tipo sumergible para acuario con características funcionales de: 12 V, y 1200 L/H a la válvula de ingreso de la cámara anódica, mientras que la salida del sustrato hacia el contenedor de salida fue únicamente por la fuerza de gravedad.

Una vez ensamblado este circuito, se conectó la tarjeta de adquisición de datos y se procedió a la corrida de las muestras y la toma de datos, como ha sido descrito para el procedimiento con el flujo de tipo Batch.

El sistema descrito se muestra a continuación en la Imagen 15.



Imagen 15. Montaje del sistema flujo continuo.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Microorganismos aislados

Como resultado del aislamiento bacteriano y luego de aplicar la prueba de Tinción de Gram, se observó que los microorganismos analizados presentaron una coloración rosa (indicador de bacterias Gram -) y una estructura en forma de bastón, sumado a esto, el hecho que estos microorganismos proliferaron en un medio de cultivo selectivo para enterobacterias EMB. Concluyéndose así que son microorganismos de tipo *Enterobacterias Gram (-)* (Ver imagen 16).

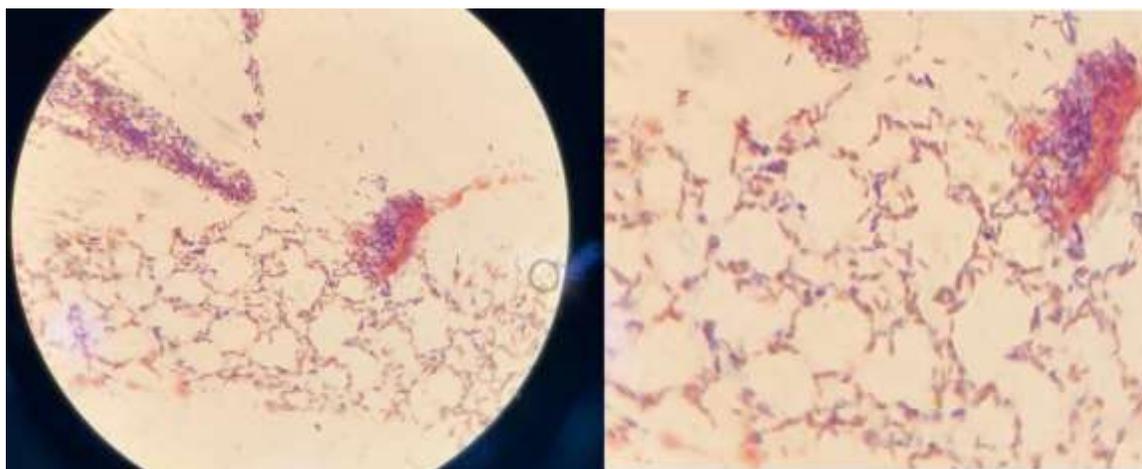


Imagen 16. Tinción de Gram al microscopio.

Debido a estos resultados y a la disponibilidad de Enterobacterias Gram (-) ATCC (American Type Culture Collection) en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, se vio conveniente utilizar estas cepas, las mismas que fueron sembradas en medio de cultivo selectivo EMB y posteriormente utilizadas en la celda de combustible microbiana.

4.2 Electrodo

Los electrodos son un factor importante en el diseño de la celda de combustión microbiana, para esta investigación se evaluaron diferentes metales conductores como: láminas de cobre, láminas

de plata y láminas de platas chapadas de oro. Ya que estos facilitan el flujo de electrones (intensidad), debido a la densidad de materia que presentan. Los resultados de la eficacia de voltaje promedio de las tres corridas que se obtuvo con cada configuración de electrodos se muestran a continuación en la tabla 1.

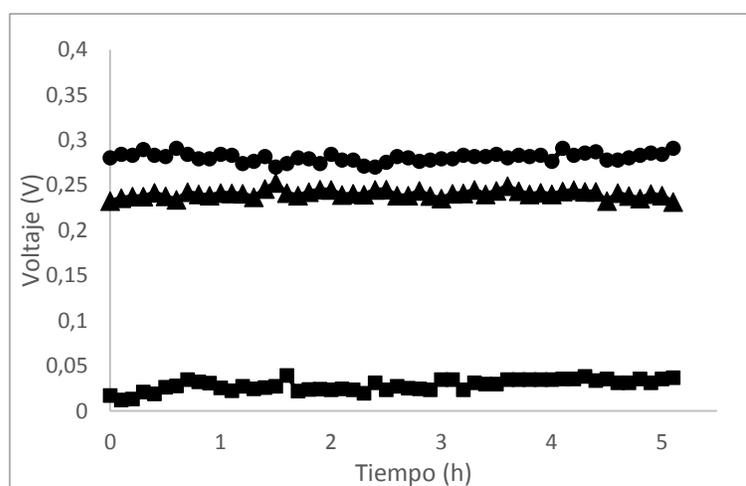
Tabla 1 Eficiencia de cada configuración de electrones (Autora).

Configuración de Electroodos		Voltaje Máximo
Ánodo	Cátodo	
Cobre	Cobre	69.92 mV
Plata	Plata	358.45 mV
Plata-Oro	Plata-oro	550.02 mV

4.3 Caracterización y ensayos de la celda de combustible microbiana con sistema de flujo tipo Batch y diferentes electrodos

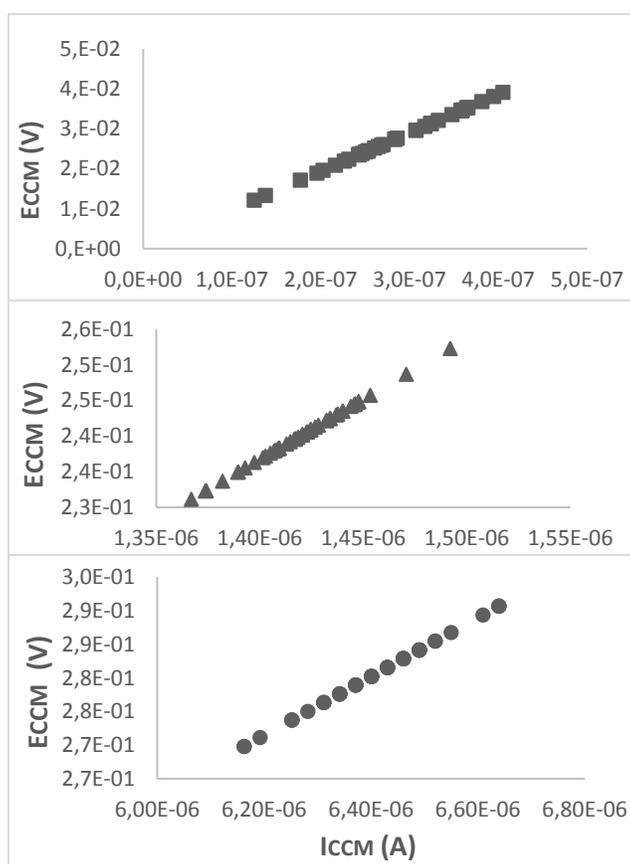
4.3.1 Obtención de la resistencia interna de la celda de combustión microbiana, utilizando electrodos de cobre, plata y plata-oro

En la gráfica 1 se observa la variación del voltaje a circuito abierto para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata y oro (●, círculos llenos) en función del tiempo.



Gráfica 1. Voltaje a circuito abierto con respecto al tiempo para la celda de combustible microbiana puesto en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).

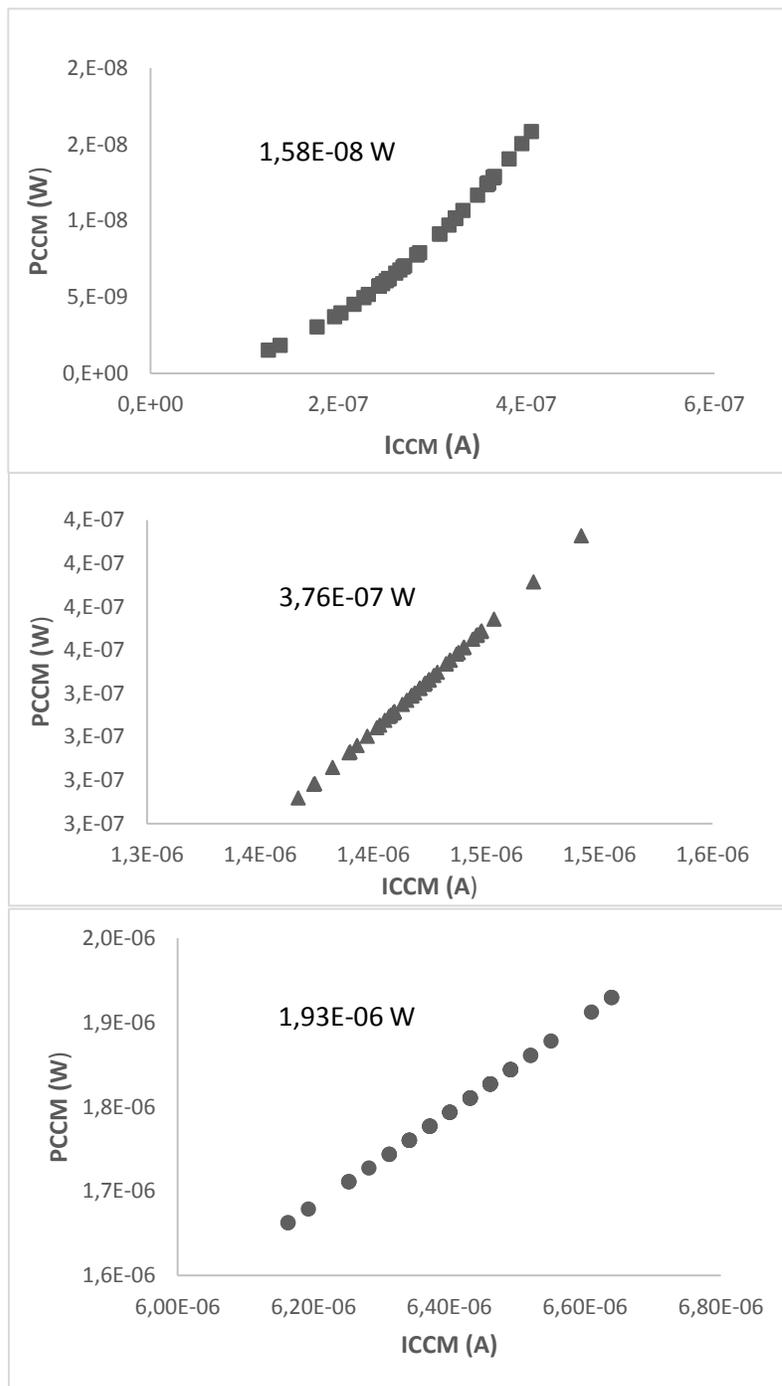
La resistencia interna es una de las características esenciales de la CCM, ya que de acuerdo con el Teorema de Jacobi de la máxima potencia generada, cuando la celda de combustible microbiana opera con una resistencia externa que es igual a su resistencia interna, se obtiene la potencia máxima de la celda. Bajo este teorema, se llevó a cabo la curva de polarización de la CCM, entre el voltaje de la celda (ECCM) y la intensidad de corriente (ICCM) para calcular la resistencia Interna (R_{int}) del sistema que de acuerdo a diversos autores (He, Minteer, & Angenent, 2005; Kim, Jung, Regan, & Logan, 2007; Zhao, y otros, 2006; Zuo, Maness, & Logan, 2006) la resistencia interna de una celda de combustible microbiana, se puede extraer mediante la pendiente de la curva de polarización. Por ende, se calculó la pendiente promedio de la curva de polarización dando valores de 94463.55Ω ; 169080.82Ω y 43778.24Ω para la resistencia interna de la CCM puesta en marcha con electrodo tipo cobre, plata y plata con oro respectivamente.



Gráfica 2. Método gráfico para encontrar la Resistencia interna la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).

Valores altos de resistencia interna ocasionan valores bajos en la potencia de la celda, lo que es generado por valores bajos en la diferencia de potencial (ECCM) e intensidad de corriente (ICCM) de la CCM, esto se atribuye a pérdidas ocasionadas por la resistencia interna, lo que afecta directamente la transferencia de electrones.

Según Rabaey y Verstrate (2005) estos valores elevados de la R_{int} , se deben principalmente a los materiales de construcción de la celda de combustible microbiana, como es el caso del material de la membrana de intercambio protónico, la configuración de electrodos, el tipo de flujo; resistencia de los electrodos, resistencia del electrolito, entre otros. Otro aspecto influyente sobre la R_{int} de la celda de combustible microbiana es la temperatura interna del sistema; a mayor temperatura mayor resistencia interna. En la gráfica 3 se muestran los valores de potencia máxima obtenida en la celda de combustible microbiana para cada configuración de electrodos.



Gráfica 3. Potencia máxima obtenida para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).

En la Tabla 2 se compilan los resultados de la caracterización de la CCM flujo continuo puesta en marcha con electrodos tipo Cobre, Plata y Plata – Oro (durante 5 horas luego de la aclimatación de la celda.) Al comparar los resultados de la caracterización de la celda, se puede observar que en la CCM que se trabajó con electrodo tipo plata y oro, la resistencia interna fue menor que al utilizar los electrodos de plata y cobre. La causa de una menor resistencia interna en la CCM puesta en marcha con electrodos de plata y oro se proporcionó por la conductividad de los metales base de los electrodos, ya que resultó que la aleación de la plata y el oro presentó una mayor conductividad en comparación con los electrodos de plata y el cobre.

Tabla 2 Resultados de la caracterización de la celda de combustible microbiana flujo Batch y diferentes configuraciones de electrodos.

PARÁMETRO	FLUJO BATCH ELECTRODO COBRE	FLUJO BATCH ELECTRODO PLATA	FLUJO BATCH ELECTRODO PLATA/ORO	FLUJO CONTINUO ELECTRODO PLATA/ORO
Rint (Ω)	169080.82	96463.55	43778.24	89923.06
ECCM-Max (V)	3.91E-02	2.52E-01	2.91E-01	1.05E-01
ECCM-prom (V)	2.84E-02	2.40E-01	2.81E-01	7.44E-02
ICCM-Max (mA)	4.05E-07	1.49E-06	6.64E-06	1.17E-06
ICCM-prom (mA)	2.94E-07	1.42E-06	6.41E-06	8.27E-07
PCCM-Max (W)	1.58E-08	3.76E-07	1.93E-06	1.23E-07
PCCM-prom (W)	8.77E-09	3.41E-07	1.80E-06	6.41E-08

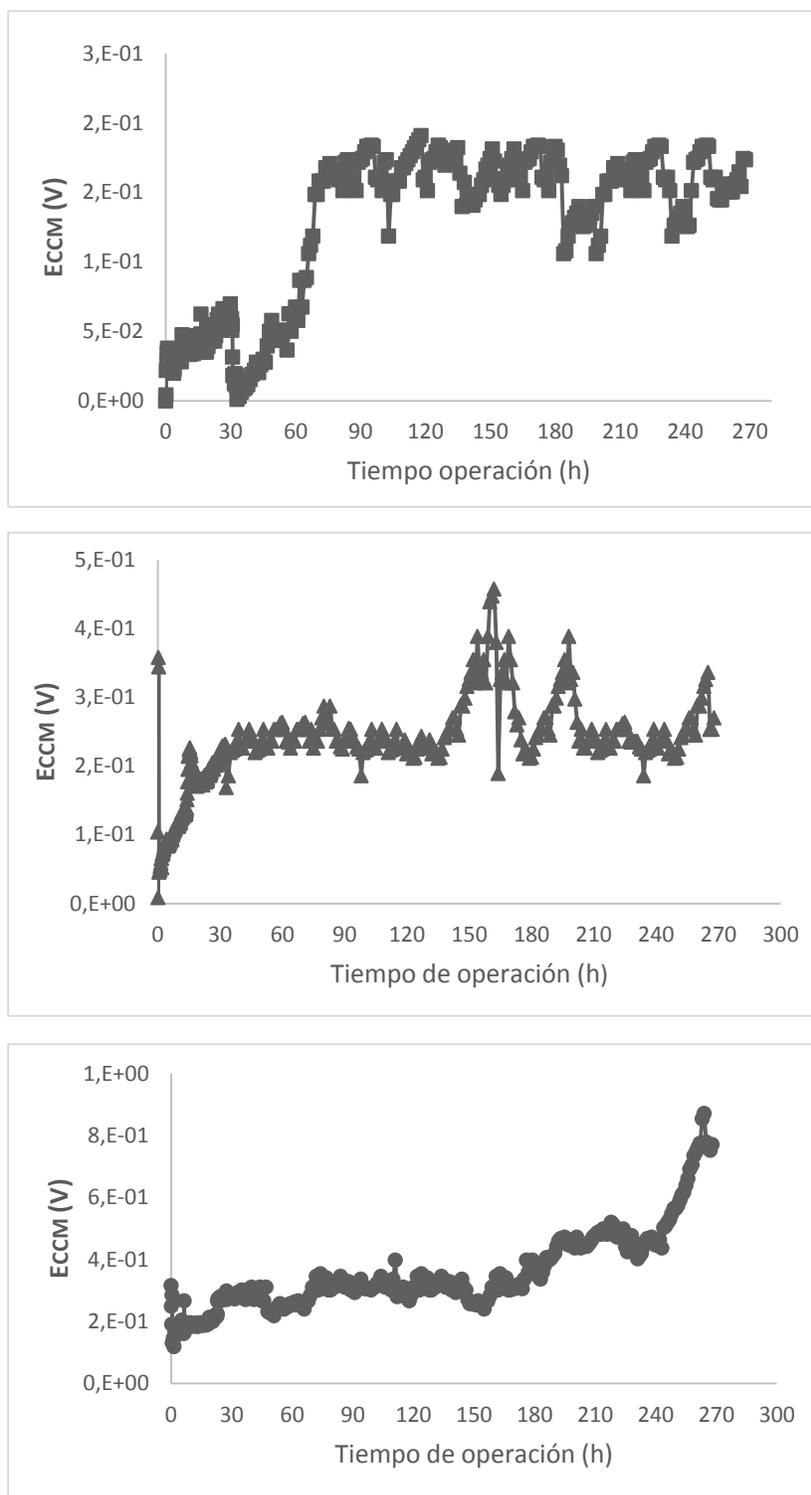
4.3.2 Ensayo general de la celda de combustible microbiana flujo Batch: Influencia del tipo de electrodos

La Gráfica 4 a continuación, muestra el voltaje a lo largo 300 h de operación de la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de Cobre, Plata y Plata-Oro.

Todas las variables mostraron un mejor desempeño con electrodos de Plata - Oro que al usar electrodos de plata y cobre. En la gráfica 4 presentada se observa que desde la hora 0 hasta la hora

32 la celda trabajó a circuito abierto sin ningún tipo de resistencia externa, presentando valores máximos de voltaje de 0.070V; 0.358V; 0.316 V respectivamente para los electrodos de cobre, plata y plata-oro. A partir de la hora 32 se conectó a una resistencia externa (R_{int}) y se observaron valores máximos de voltaje de 0.067V; 0.252V; 0.550V con electrodos de Cobre, Plata y Plata-Oro respectivamente.

En los dos primeros casos, electrodos tipo Cobre y Plata, el voltaje disminuyó cuando la CCM se conectó a una resistencia externa y fue consecuencia del alto valor de la resistencia interna de la CCM, en el tercer caso, electrodos tipo plata-oro por el contrario el voltaje mostró un ligero aumento, constatándose que a menor resistencia interna la CCM presenta un mejor rendimiento.



Gráfica 4. Generación de electricidad en la celda de combustible microbiana (300 h) puesta en marcha con electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).

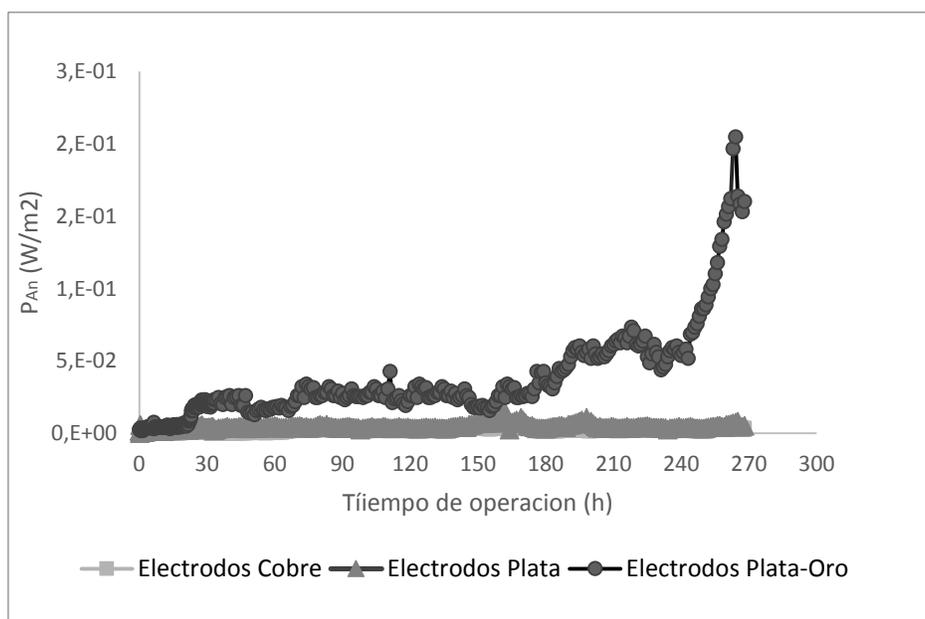
La Tabla 2 muestra los mejores resultados y los valores promedio para cada configuración de la CCM flujo Batch durante las 300 h de operación.

Tabla 3 Desempeño de la celda de combustible microbiana usando diferentes configuraciones de electrodos.

PARÁMETRO	BATCH ELECTRODO COBRE	BATCH ELECTRODO PLATA	FLUJO BATCH ELECTRODO PLATA/ORO	FLUJO CONTINUO ELECTRODO PLATA/ORO
PAn-MAX(W/m)	4.47E-03	1.47E-02	2.05E-01	1.16E-02
PAn -PROM (W/m²)	1.81E-03	3.90E-03	2.80E-02	2.76E-03
ECCM-Max (V)	1.91E-01	4.58E-01	8.71E-01	6.98E-01
ECCM-prom (V)	9.72E-02	2.12E-01	3.08E-01	1.41E-01
ICCM-Max (mA)	1.98E-06	2.71E-06	1.99E-05	3.30E-06
ICCM-prom (mA)	1.37E-06	2.12E-01	6.24E-06	1.33E-06
PCCM-Max (W)	3.78E-07	1.24E-06	1.73E-05	9.79E-07
PCCM-prom (W)	1.53E-07	3.30E-07	2.37E-06	2.34E-07

Con la intención de obtener un índice que permita comparar la corriente y la potencia generada por la celda éstos fueron caracterizados con respecto al área efectiva del ánodo como densidad de potencia (PAn) y densidad de corriente (IAn)

Las densidades de potencia anódica máxima usando diferentes configuraciones de electrodos fueron; 0.0044 W/ m²; 0.147 W/ m² y 0.205 W/m² con los electrodos de Cobre, Plata y Plata-Oro respectivamente (Gráfica 5). De cualquier forma, las densidades de potencia fueron menores a valores reportados recientemente.



Gráfica 5. Densidad de potencia anódica de la celda de combustible microbiana, usando electrodos de cobre (■, cuadros llenos) electrodos de plata (▲, triángulos llenos) y electrodos de plata con oro (●, círculos llenos).

En la Tabla 4 se muestra una compilación de trabajos de las celdas de combustible microbianas; parecen predominar estudios con cepas puras (miembros de *Protobacteria* de la familia *Geobacteraceae*), aunque en los últimos años análisis de diferentes trabajos relacionados a la misma línea de investigación, han presentado buenos resultados con consorcios microbianos, como se puede apreciar a nivel global predominan los estudios de celdas microbianas de doble cámara y únicamente a escala laboratorio. En lo que concierne a estudios relacionados dentro de nuestro país, la gran mayoría de las investigaciones enfoca sus resultados y discusiones únicamente hacia la generación de potencial eléctrico e intensidad de corriente desde la celda de combustión microbiana, claro está, centrándose cada una en diferentes aspectos funcionales tales como diferentes tipos de sustratos, membranas, electrodos, etc. Lamentablemente en cuanto a resultados no se ha tomado en cuenta uno de los principales aspectos en lo relacionado a la generación de energía a partir de las CCMs que es en primera instancia el cálculo de la resistencia interna del sistema lo que se equipara al rendimiento

real de la celda, a más de esto el cálculo de la potencia en función del electrodo (ánodo) que genera la celda, lo que se equipara a la generación neta de corriente aprovechable.

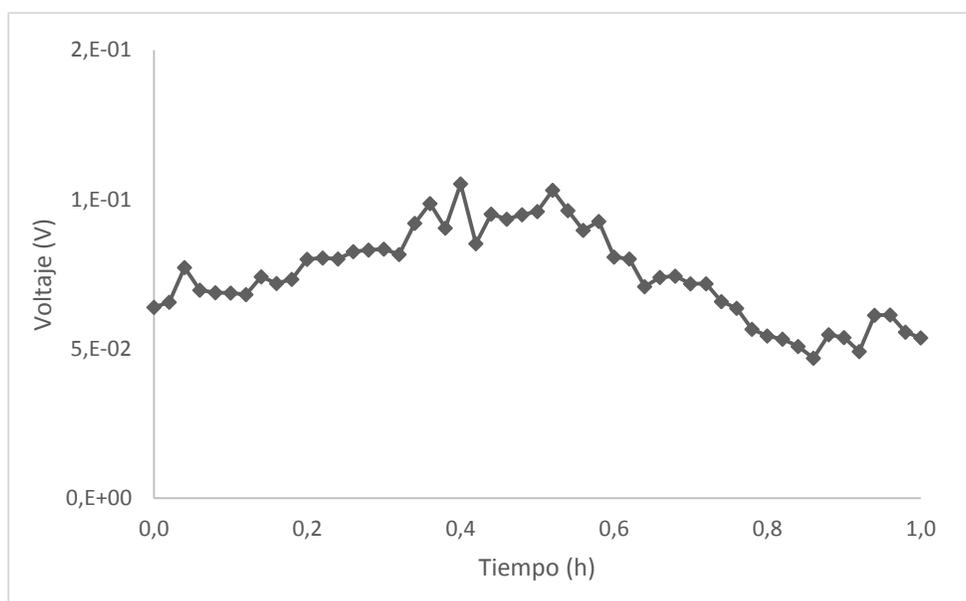
Tabla 4. Comparación del desempeño del presente trabajo con trabajos publicados actualmente.

Celda	Inóculo	Sustrato	Operación	Desempeño	Membrana	Referencia
Doble cámara	<i>G. sulfurreducens</i>	Acetato [5 mM]	T=30°C, Ot=960h, pH=6.8	PAn=16 mW m ⁻²	Sin membrana	Bond, 2002
Doble cámara	<i>G. fermentans</i>	Acetato, propionato, malato, lactato y succinato [5mM]	Ot=960h	N.M.	Nafion 117	Bond y Lovley, 2005
Cátodo concéntrico	<i>G. metallireducens</i> ;	Agua residual	T=30°C HRT=33d	PAn=26 mW m ⁻² ηCoul=12%	Nafion 117	Liu et al., 2004
Doble cámara	<i>R. ferrireducens</i>	Glucose [2mM]	25°C, Ot=1000h	Ian=30 mA m ⁻²	Nafion 117	Chaudhuri y Lovley, 2003
Flujo ascendente	Lodo anaerobio	Sucrose	T=35°C; TRH=1d	PAn=170 mW m ⁻² ; ηCoul=8,1%	CMI-7000	He et al., 2005
Doble cámara	Lodo anaerobio	Agua residual modificada	T=30°C; Ot=50h	PAn=8 mW m ⁻² ; ηCoul=40%	Nafion 117	Kim et al., 2005
Una cámara	Lodo anaerobio	Agua residual modificada con glucosa	T=30°C; Ot=120h	PAn=262 mW m ⁻² ; ηCoul=55%	Nafion 117	Lui y Logan, 2004
Una cámara	Agua residual	Agua residual modificada con acetato	T=32-20°C	PAn=1200 mW m ⁻² ; ηCoul=61,4%	Sin membrana	Lui et al., 2005 a
Una cámara	Agua residual	Agua residual modificada con butirato	Ot=60h	PAn=500 mW m ⁻² ; ηCoul=30%	Sin membrana	Liu et al., 2005 b
Doble cámara	Sedimento marino.	Acetato [0.1 mM]	22°C, pH=6.8 Ot=1920h N.M	N.M	Nafion 118	Holmes et al., 2004
Una cámara	Consorcio metano génico	Mezcla de ácidos y solventes orgánicos	T=37°C, Ot=50h	PAn=1.04 mW m ⁻² ; ηCoul=0.12%	Nafion 117	Carmona, 2008
Una cámara	Consorcio sulfato redactor	Mezcla de ácidos y solventes orgánicos	T=37°C, Ot=50h	PAn=12.3 mW m ⁻² ; ηCoul=1.22%	Nafion 117	Carmona, 2008
Doble Cámara	Consorcio <i>Enterobacterias gram-</i>)	Agua Residual Sintética	T= 30°C Ot=300h Flujo:Batch Electrodo Plata-Oro	PAn= 2,05E-01 W m ²	Nitrilo	Este trabajo
Doble Cámara	Consorcio <i>Enterobacterias gram</i> (-)	Agua Residual Sintética	T= 30°C Ot: 300h Flujo:Continuo Electrodo Plata-Oro	PAn= 1,16E-02 W m ²	Nitrilo	Este trabajo

4.4 Caracterización y ensayos de la celda de combustible microbiana con sistema de flujo tipo continuo y electrodos tipo Plata-Oro

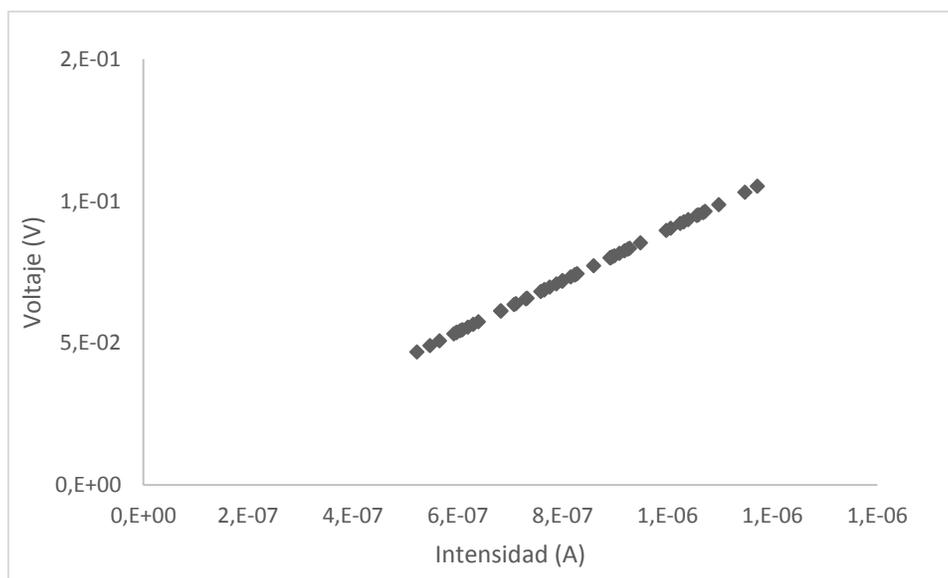
4.4.1 Obtención de la resistencia interna de la celda de combustible microbiana

Para trabajar la celda de combustible microbiana con flujo tipo continuo, se tomó en cuenta los resultados más favorables de la caracterización con flujo tipo batch. En la gráfica 6 a continuación se muestra la variación del voltaje a circuito abierto para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de Plata-Oro.



Gráfica 6. Voltaje a circuito abierto con respecto al tiempo para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de plata con oro.

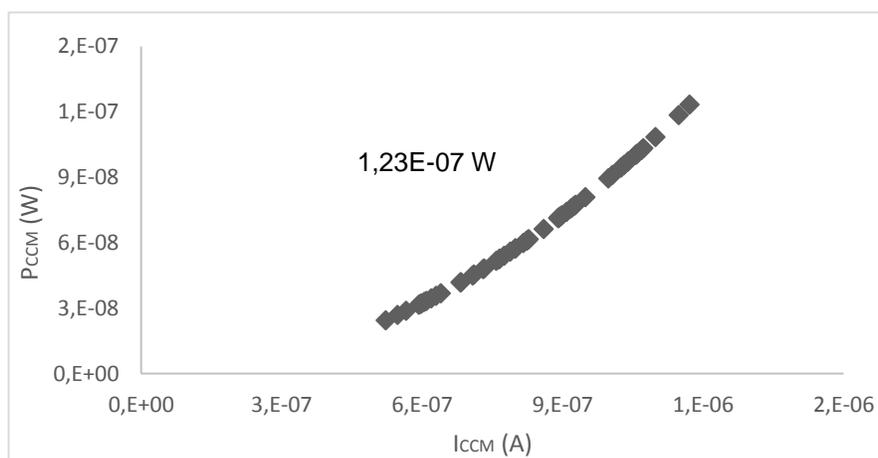
De igual manera que en la caracterización con flujo Batch, para este tipo de flujo también se realizó la curva entre el voltaje de la celda (ECCM) y la intensidad de corriente (ICCM) para calcular la resistencia interna (R_{int}) del sistema que se equipara a la pendiente de la curva de polarización de la celda como lo explicado anteriormente en el apartado 4.3.1. Dado esto se procedió al cálculo de la pendiente promedio de la curva, obteniendo un valor $89923 \text{ K}\Omega$; para la resistencia interna de la CCM. (Gráfica 7).



Gráfica 7. Método gráfico para encontrar la resistencia interna de la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos tipo plata con oro.

Más tarde, se monitoreó el voltaje a circuito abierto y se encontró un valor de 1.05×10^{-1} V (Gráfica 6). La CCM mostró un valor de potencia máximo cercano a 1.23×10^{-7} W (Gráfica 8)

Este valor es considerado bajo, en comparación de los valores obtenidos por los electrodos con el flujo tipo batch, esto debido a que la celda trabajó con flujo tipo continuo únicamente por 3 horas, por ende, no tuvo suficiente tiempo para que los microorganismos puedan adaptarse y operar eficientemente.

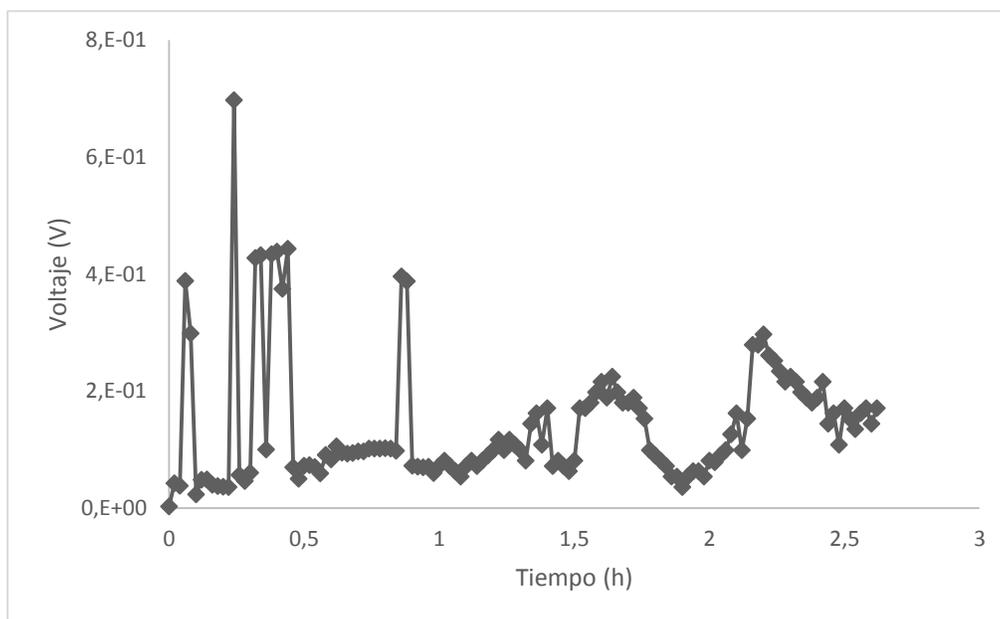


Gráfica 8. Potencia máxima obtenida para la celda de combustible microbiana puesta en marcha con electrodos de plata con oro.

4.4.2 Ensayo general de la celda de combustible microbiana flujo continuo: influencia del tipo de electrodo.

A continuación, se presenta el voltaje a lo largo de las tres horas continuas de operación de celda de combustible microbiana con configuración de electrones tipo Plata-Oro.

En la gráfica 9 se observa que desde la hora 0 hasta la hora 1 la celda trabajó a circuito abierto sin ningún tipo de resistencia externa, presentando valores máximos de voltaje de $6.98E-01$ V. A partir de la hora 1 se conectó a una resistencia interna (R_{int}) y se observaron valores máximos de voltaje de $4.33E-01$ V



Gráfica 9. Generación de electricidad en la celda de combustible microbiana (3 h) puesta en marcha con flujo tipo continuo y electrodos de plata con oro.

Se evidencia que el voltaje disminuyó cuando la CCM se conectó a una resistencia externa, y fue consecuencia del alto valor de la resistencia interna de la celda al ser comparada con trabajos en la misma línea de investigación recientemente publicados donde se reportan valores bajos de

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Los microorganismos que se emplearon fueron propios de los lodos activados, por esta razón se decidió utilizarlos para evaluar su capacidad electrogénica dentro de la CCM. De los lodos activados se lograron aislar varias Enterobacterias endémicas, que para la presente investigación fueron empleadas en consorcios, ya que según Richter y otros (2008) existe mejor rendimiento en la celda de combustible microbiana al trabajar con dichos consorcios bacterianos, debido a que la diversidad de microorganismos genera un mejor Biofilm (Watanabe, 2008) dentro del electrodo (ánodo) favoreciendo esto a la obtención de valores esperados en cuanto a los parámetros eléctricos funcionales de CCM.

El sistema operó de manera eficiente con este consorcio bacteriano, sin precedentes algunos en trabajos de la misma línea de investigación. Por lo cual se comprobó que el consorcio de Enterobacterias generó valores de voltaje y amperaje promedios estables en cada una de las configuraciones de electrodos y de tipo de flujo.

Todas las variables mostraron un mejor desempeño al usar electrodos de Plata - Oro ya que fue la que demostró alcanzar los mejores resultados tanto en voltaje y amperaje (Ver Tabla 2) debido a las propiedades físicas que presentan estos metales como conductores eléctricos. En cuanto a la configuración de flujo, la que mejores resultados mostró fue la configuración con flujo tipo Batch, por efecto de un mayor tiempo de contacto bacteriano con el electrodo (ánodo) y por ende una mayor superficie en la formación del Biofilm. (Ver Anexo 4)

El aspecto eléctrico de la CCM se ve afectado en gran parte por la cantidad de materia orgánica presente en el sustrato (ARS) y por el periodo de aclimatación de las bacterias en la cámara anódica, una vez alcanzado un equilibrio en estos aspectos, la celda generara una mejor estabilidad y un crecimiento progresivo de tipo logarítmico en cuanto a voltaje.

Los resultados obtenidos permitieron concluir que la hipótesis de la presente investigación se cumple ya que se evidenció que el tipo de electrodo utilizado dentro de una CCM afecta notoriamente en la generación de energía eléctrica.

En conclusión, las celdas de combustible microbianas (CCMs), en la actualidad son consideradas como una tecnología de nueva era que podría sustituir el uso de combustibles fósiles, para generar energía eléctrica, como es el caso de países desarrollados como Estados Unidos, Japón y Alemania; lamentablemente en nuestro país todavía se encuentran en procesos netamente investigativos y de prototipado, manteniéndose únicamente como investigaciones a escala de laboratorio o forma piloto.

Debido a esto el presente trabajo de investigación hace un aporte en cuanto a aspectos de diseño de la celda (configuración de electrodos), con el fin de mejorar la eficiencia en los procesos bioelectroquímicos y en el desempeño eléctrico, para en un futuro no muy lejano las celdas de combustible microbianas puedan ser aplicadas a mayor escala y poco a poco poder consolidarlas como una tecnología rentable para la generación de energía eléctrica.

5.2 Recomendaciones

Para futuros trabajos experimentales dentro de la misma línea de investigación, se recomienda que para la toma de datos para la gráfica de la curva de polarización se trabaje con resistencias externas máximas (Ω) para poder determinar la intensidad y resistencia máxima del sistema. Para completar el sistema de adquisición de datos de la tarjeta, se propone también la implementación de un potenciómetro para la variación de la resistencia evaluando el comportamiento de la CCM ante esta variación.

En lo que concierne a la construcción de la celda, continuar con la búsqueda de materiales alternativos para lograr una superior hermeticidad del sistema, para evitar la pérdida de sustrato (ARS) aumentando la estabilidad electroquímica del montaje.

Los resultados observados con enterobacterias endémicas mostraron favorables rendimientos, sin embargo y según (Lovley, 2008) el uso de consorcios de bacterias electrogénicas es favorable para la formación de la biopelícula microbiana en el ánodo lo que favorece el movimiento de electrones dentro de la celda de combustible microbiana, debido a esto para futuros trabajos de investigación se recomienda su aislamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Aelterman, P., Rabaey, K., Clauwaert, P., & Verstraete, W. (2006). Microbial fuel cells for wastewater treatment. *Water Science & Technology Vol. 54(8).*, 9-15.
- Alzate Gaviria, L. A. (2008). GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A PARTIR DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA TIPO PEM. *Interciencia, Vol. 33 N° 7.*, 503-509.
- Alzate-Gaviria, L., González, K., Peraza, I., García, O., Domínguez-Maldonado, J., Vázquez, J., . . . Canto-Canché, B. (2010). EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO E IDENTIFICACIÓN DE EXOELECTRÓGENOS EN DOS TIPOS DE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS CON DIFERENTE CONFIGURACIÓN EN EL ÁNODO. *Interciencia, vol. 35, núm. 1.*, 19-25.
- ARCONEL. (2015). *Ecuador posee un 51,78% de energía renovable*. Obtenido de Ecuador posee un 51,78% de energía renovable.: <https://www.regulacioneolica.gov.ec/ecuador-posee-un-5155-de-energia-renovable/>
- Bassante Acuña, N. (2018). *Evaluación del efecto de polímeros conductores en el tratamiento de aguas residuales domésticas utilizando celdas de combustible microbianas*. Quito.: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Química.
- Bennetto, H. (1990). Electricity generation by microorganisms. *Biotechnology education. Vol 1, N° 4*, 163-168.
- Borole, A. P., Hamilton, C. Y., Vishnivetskaya, T., Leak, D., & Andras, C. (2009). Improving power production in acetate-fed microbial fuel cells via enrichment of exoelectrogenic organisms in flow-through systems. *Biochemical Engineering Journal, 48(1).*, 71-80. .
- Borole, A., & Campbell, R. (2011). Produced Water Treatment Using Microbial Fuel Cell Technology. *U.S. Department of Energy, Office of Scientific and Technical Information.*, United States.
- Buenas Tareas.* (19 de Mayo de 2012). Obtenido de Buenas Tareas: <https://www.buenastareas.com/ensayos/Agente-Oxidante/4235196.html>
- Buitron, G., & Pérez, J. (2011). Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas.*, 5-11.

- Carmona Martínez, A. A. (2008). *Obtención de energía eléctrica directa de una celda de combustible microbiana mediante el tratamiento de lixiviados de la producción fermentativa de H₂*. Mexico, D.F: CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL .
- Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. (s.f.). *Informacion Tecnologica*. Vol 24 (69).
- Chaudhuri, S. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*, 1229-1232.
- Chavez, I. (. de . de 2016). *Celdas electroquímicas*. Obtenido de La acumulación de energía eléctrica tiene en la química un poderoso aliado.: <http://www.cubasolar.cu/biblioteca/energia/Energia16/HTML/articulo04.htm>
- Cheng, S. L. (2006). Increased Power Generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. *Environmental Science & Technology*, 2426-2432.
- Cheng, S., Liu, H., & Logan, B. E. (2006). Power Densities Using Different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells. *Environment Science Technology*, vol 40., 364-369.
- Cheng, S., Liu, H., & Logan, B. E. (2006b). Increased of power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. . *Environ. Sci. technol.* 40., 2426-2432.
- Choi, S. (2015). Microscale microbial fuel cells: Advances and challenges. *Biosensors & bioelectronics* 69., 8-29.
- Clauwaert, P., Rabaey, K., Aelterman, P., Schampelaire, L. D., Pham, T. H., Boeckx, P., . . . Verstraete, W. (2007). Biological Denitrification in Microbial Fuel Cells. *Environment Science Technology*. 41 (9), 3354-3360.
- Davila, D., Esquivel Bojorquez, J. P., Sabate, N., & Mas, J. (2011). Silicon-based microfabricated microbial fuel cell toxicity sensor. *Biosens Bioelectron*. Vol. 26(5), 2426-2430.
- Derpich, C. J. (2016). Reacciones REDOX. *Pura Química*, .
- DesireJewelry. (2016). *desirejewelry*. Obtenido de desirejewelry.: <http://www.desirejewelry.com.mx/que-es-gold-filled/>
- Dickinson, B. (2013). *INSTRUCCIONES DE USO –MEDIO EN PLACAS LISTO PARA SU USO*. Germany: Becton, Dickinson and Company. ©.

- ECURED. (2013). Electroquímica. *ECURED*, 196-485.
- EducarChile. (2012). CONDUCTIVIDAD EN DISOLUCIONES QUÍMICAS; CONDUCTIVIDAD ELECTRICA. *Química 2º Medio: Conductividad en Disoluciones Químicas*, 1-2.
- Electrobacters. (2016). *Celdas De Combustible Microbiana: Electricidad Por Desechos Orgánicos*. D. F. México: Escuela Nacional Colegio de Ciencias y Humanidades (UNAM).
- Energias, R. (Diciembre de 29 de 2014). *Pilas de combustibles: tipos*. Obtenido de Pilas de combustibles: tipos.: <http://www.energiarenovablesinfo.com/hidrogeno/pilas-combustibles-tipos/>
- Esteve-Nuñez, A. (2008). Bacterias productoras de electricidad: una antigua y nueva forma de energía. *La noche de los investigadores.*, s/n.
- Falcón, A., Lozano, J. E., & Juárez, K. (2009.). Bioelectricidad. *BioTecnología, Vol. 13 No. 3*, 40-52.
- Fibras y Normas de Colombia, S. (12 de Marzo de 2014). *Blog de Fibras y Normas de Colombia S.A.S ingenieria en agua*. Obtenido de Blog de Fibras y Normas de Colombia S.A.S ingenieria en agua.: <https://www.fibrasynormasdecolombia.com/terminos-definiciones/lodos-definicion-clasificacion-tipos/>
- Fradler, K. R., Michie, L., Dinsdale, R. M., Guwy, A. J., & Premier, G. C. (2014). Augmenting Microbial Fuel Cell power by coupling with Supported Liquid Membrane permeation for zinc recovery. *Water Research. Vol. 55*, 115-125.
- Fullmecanica. (01 de 01 de 2014). *Definiciones y conceptos de Mecánica* . Obtenido de Intensidad de corriente: <http://www.fullmecanica.com/definiciones/i/636-intensidad-de-corriente>
- Gabelich, C. J., Tran, T. D., & Suffet, I. H. (2002). Electrosorption of Inorganic Salts from Aqueous Solution Using Carbon Aerogels. *Environment Scienc. Technology. Vol. 36 (13)*., 3010–3019.
- Gil, G.-C., Chang, I.-S., Kim, B. H., Kim, M., & Jang, J.-K. (2003). Operational parameters affecting the performannce of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics Vol. 18* , 327- 334.
- Gil-Carrera, L. E. (2013). Performance of a semi-pilot tubular microbial electrolysis cell (MEC) under several hydraulic retention times and applied voltages. *Bioresource Technology 146*., 63–69.
- Giordano, J. L. (13 de 04 de 2018). *EcuRed*. Obtenido de El conductor eléctrico (Ley de Ohm) Profísica: https://www.ecured.cu/Conductor_el%C3%A9ctrico

- Gomez, M. (2007). *Situación actual de biocombustibles en México*. Guadalajara: Universidad Autónoma de Guadalajara.
- Grilon., N. (s.f.). *NTH Grilon*. Obtenido de NTH Grilon.:
<http://www.nth.com.ar/es/semielaborados/105-plancha-grilon.html>
- Guambo, A. F. (2015). *ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE*. Riobamba: ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO, ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS.
- He, Z., Huang, Y., Manohar, A. K., & Mansfeld, F. (2008). Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an air-cathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry* Vol. 74, 78–82.
- He, Z., Minteer, S. D., & Angenent, L. T. (2005). Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell. *Environment Science Technology* 39 (14), 5262-5267.
- Healy, J., Hayden, C., Xie, T., Olson, K., Waldo, R., Brundage, M., . . . Abbott, J. (2005). Aspects of the Chemical Degradation of PFSA Ionomers used in PEM Fuel Cells. *Topical Issue, Polymer Membranes I*, 302-308.
- Heijne, A. T., Liu, F., Weijden, R. V., Weijma, J., Buisman, C. J., & Hamelers, H. V. (2010). Copper Recovery Combined with Electricity Production in a Microbial Fuel Cell. *Environment Science Technology*. Vol 44 (11)., 4376–4381.
- Hernández, R. (2012). *DESARROLLO DE MEMBRANAS DE INTERCAMBIO PROTÓNICO DE ABPBI-LI CON APLICACIÓN EN CELDAS DE COMBUSTIBLE*. Nuevo Leon (MEXICO): UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, ESCUELA DE GRADUADOS EN CIENCIAS.
- Huang, L., Regan, J. M., & Quan, X. (2011). Electron transfer mechanisms, new applications, and performance of biocathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. Volume 102, Issue 1, 316-323.
- Jara, C. E. (2015). Celdas de combistble: ¿Qué son y cómo funcionan?. *Hydrogen.*, 1-2.
- Kim, J. R. (2005). Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, 23-30.
- Kim, J. R., Jung, S. H., Regan, J. M., & Logan, B. E. (2007). Electricity generation and microbial community analysis of alcohol powered microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 98., 2568–2577.

- Kim, J. R., Zuo, Y., M. Regan, J., & Logan, B. E. (2008). Analysis of Ammonia Loss Mechanisms in Microbial Fuel Cells Treating Animal Wastewater. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99, No. 5., 1120-1126.
- Kumlanghan, A., Liu, J., Thavarungkul, P., Kanatharana, P., & Mattiasson, B. (2007). Microbial fuel cell-based biosensor for fast analysis of biodegradable organic matter. *Biosens Bioelectron*. Vol. 22(12), 2939-2944.
- Larminie, J., & Dicks, A. (2003). *Fuel Cell Systems Explained. Second Edition*. England.: John Wiley & Sons Ltd.
- Li, W.-W., Sheng, G.-P., Liu, X.-W., & Yu, H.-Q. (2011). Recent advances in the separators for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. Volume 102, Issue 1, 244-252.
- Liu, H. &. (2004). Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Env. Sci. Technol*. 38., 4040-4046.
- Livano Garcia, S. (2012). Pilas de combustible, electricidad para el futuro inmediato. *Técnica Industrial 300.*, 53-62.
- Logan, B. E. (2004). Cathode Performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environment Science Technology*, Vol.38, 4900-4904.
- Logan, B. E. (2008). *Microbial Fuel Cells*. Hoboken, New Jersey.: WILEY INTERCIENCE Jhon Wiley & sons, Inc., Publication.
- Logan, B. E., & Regan, J. M. (2006). Microbial Fuel Cells Challenges and Applications. *Environment Science Technology Vol. 40 (17)*, 5172–5180.
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., & and Rabaey, K. (2006.). Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental Science & Technology*. Vol, 40 (17), 5181-5192.
- Lovely, D. R. (1991). Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction. *Microbiological Reviews.*, 259-287.
- Lovley, D. R. (2008). Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more. *Geobiology*. Vol.6 (3), 225-31.
- makerspace, H. (20 de enero de 2016). *hubmakerspace*. Obtenido de hubmakerspace: <http://hubmakerspace.do/blog/arduino-intro/>

- Mara, D. D. (1990). *Directrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretas en agricultura y acuicultura : medidas de protección de la salud pública*. Ginebra.: Organización Mundial de la Salud (OMS),.
- Metz, B., Davidson, O., Bosch, P., Dave, R., & Meyer, L. (2007). *Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. : IPCC AR4 WG3.
- Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. (2006.). *Environmental Science & Technology*. vol 40, 179, 5181-5192.
- Min, B. L. (2004). Cathode Performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environment Science Technology*, Vol.38., 4900-4904.
- Niessen, J., Harnisch, F., Rosenbaum, M., Schroder, U., & Scholz, F. (2006). Heat treated soil as convenient and versatile source of bacterial communities for microbial electricity generation. *Electrochemistry Communications* 8 , 869–873.
- O. Lefebvre, A. U. (2011). Conception and optimization of a membrane electrodeassembly microbial fuel cell (MEA-MFC) for treatmentof domestic wastewater. *Water Science & Technology*. 64.7 Division of Environmental Science andEngineering, 1527-1532.
- Palacios, L. (23 de Abril de 2016). *EDUKATIVOS.COM. Apuntes para universitarios*. Obtenido de Electroquímica, historia y aplicaciones.: <https://www.edukativos.com/apuntes/archives/7974>
- Park, D. H., & Zeikus, G. J. (2003). Improved Fuel Cell and Electrode Designs for Producing Electricity from Microbial Degradation. *Biotechnol Bioeng*, Vol. 81., 348-355.
- Pérez Porto, J., & Merino, M. (2017). *Definicion.De*. Obtenido de Definicion.De: <https://definicion.de/corriente-electrica/>
- Pineda Marín, A. d., & Rosas Tafur, M. L. (2016). *ESTADO DEL ARTE EN CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (CCM)*. BOGOTÁ D.C.: UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS. FACULTAD DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. .
- Pistonesi, C. (2010). *Diferentes alternativas a los procesos de los tratamientos de aguas residuales para obtener energía ecológicamente limpia*. Buenos Aires, Argentina.: Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional.
- Pistonesi, C., Luis, H. J., & D'Elmar, R. (2010). *Energia apartir de las aguas residuales*. Argentina: Editorial de la Universidad Técnica Nacional.
- Pozueta., M. A. (2015). *AISLANTES Y CONDUCTORES UTILIZADOS EN LAS MAQUINAS ELECTRICAS*. España: Universidad de Cantabria.

- Rabaey K., B. N. (2004). Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl Environ Microbiol* 70(9):, 5373-5382.
- Rabaey, K., & Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology Vol.23 No.6* , 291-297.
- Racines Guzmán, Y., & Marylin, S. B. (2015). *DISEÑO E IMPLEMENTACION DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO A PARTIR DE AGUA RESIDUAL DOMESTICA*. Barranquilla. Colombia: Universidad de la Costa, CUC.
- Remtavares. (19 de Diciembre de 2012). *Pilas de combustible microbianas de agua residual. Un poco de historia*. Obtenido de Pilas de combustible microbianas de agua residual. Un poco de historia.: <http://www.madrimasd.org/blogs/remtavares/2012/12/19/131838>
- Resinex. (2019). *Resinex.es*. Obtenido de Resinex.es: <https://www.resinex.es/tipos-de-polimeros/abs.html>
- Revelo, D. M., Hurtado, N. H., & Ruiz, J. O. (2013). Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la remocion de materia organica y generacion de energia electrica. *Informacion Tecnologica. Vol 24(6)*, 17-28.
- Richter, H., McCarthy, K., Nevin, K. P., Johnson, J. P., Rotello, V. M., & Lovley, D. R. (2008). Electricity generation by *Geobacter sulfurreducens* attached to gold electrodes. *Langmuir. Vol 24 (8)*, 4376-4379.
- Rios Lara, S. (2016). *Generación de bioelectricidad microbiana con estiércol de ganado vacuno, mediante celdas de combustible microbiano, estación experimental Tunshi ESPOCH*. Riobamba: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS.
- Rodriguez Varela, F., Solorza Feria, O., & Hernandez Pacheco, E. (2010). *Celdas de Combustible*. Canadá.: ISBN.
- Rozenda, R. A., Hamelers, H. V., Rabaey, K., Keller, J., & Buisman, C. J. (2008). Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *TRENDS IN BIOTECHNOLOGY. Vol. 26(8)*., 450-459.
- Rozendal, R. A., Hamelers, H. V., Molenkamp, R. J., & Buismanab, C. J. (2007). Performance of single chamber biocatalyzed electrolysis with different types of ion exchange membranes. *Water Research* 41(9), 1984-1994.
- ROZO. Q, S. M., & TIBAQUIRÁ G, J. E. (2007). CELDAS DE COMBUSTIBLE TIPO MEMBRANA DE INTERCAMBIO PROTÓNICO. *Scientia et Technica Año XIII, No 37.*, 279-283.

- Sanchez Miño, A. (2014). *AGUAS RESIDUALES: realidad y perspectivas*. Quito: Secretaria Nacional de Agua.
- Sell, D., Kramer, P., & Kreysa, G. (1989). Use of an oxygen gas-diffusion cathode and a 3-dimensional packed-bed anode in a bioelectrochemical fuel-cell. *Microbiological Biotechnology*. VOL 31, 211-213.
- Shimoyama, T. K. (2008). Electricity generation from model organic wastewater in a cassette-electrode microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*., 80-325.
- Shukla, A. (2004). Biological fuel cells and their applications. *Current Science*, Vol. 87., 455-468.
- Su, L., Jia, W., Hou, C., & Leia, Y. (2011). Microbial biosensors: a review. *Biosensors and Bioelectronics*. Vol. 26 (5), 1788-1799.
- Tecnología/plásticos. (8 de Agosto de 2011). *Tecnología de los plásticos. blogspot*. Obtenido de Tecnología de los plásticos. blogspot: <http://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/08/poliacido-lactico-pla.html>
- Tibaquiara, J., & Posner, J. (2009). DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE TIPO MEMBRANA DE DE COMBUSTIBLE TIPO MEMBRANA DE INTERCAMBIO PROTÓNICO. *Scientia et Technica Año XV, No 42.*, 75-80.
- Torres Lozada, P., Foresti, E., & Vazoller, R. F. (1996). COMPOSICIÓN Y USO DE AGUA RESIDUAL DOMÉSTICA EN REACTORES A ESCALA DE LABORATORIO. *Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, (págs. 25 - AIDIS.). México, D.F.: Consolidación para el desarrollo.
- Tront, J., Fortner, J. D., Ploetze, M., Hughes, J. B., & Puzrin, A. (2008). Microbial fuel cell biosensor for in situ assessment of microbial activity. *Biosensors & bioelectronics.*, 586-5890.
- Trujillo-Piña, A. L., Vega Sánchez, P., & Barajas Bermúdez, L. (2013). Potenciometría: Usos y Aplicaciones. *Revista de divulgación científica CienciAcierta. Edicion digital N° 38.*, 1-3.
- UNESCO. (2017). *Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017*. División de Ciencias del Agua, UNESCO., Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas. Italia.: WWDR.
- Venkata, M., Raghavulu, S. V., Sandipam, S., & PN., S. (2007). Bioelectricity production by mediatorless microbial fuel cell (MFC) under acidophilic condition using wastewater as substrate: influence of substrate loading rate. *CURRENT SCIENCE, VOL. 92, NO. 12.*, 1720-1725.

- Wang, J. L. (2010). Potential and flux landscapes quantify the stability and robustness of budding yeast cell cycle network. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(18), 195-200.
- Watanabe, K. (2008). Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy. *Journal of Bioscience and Bioengineering. Volume 106 (6)*, 528-536.
- Wei, J., Liang, P., & Huang, X. (2011). Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 102., 9335-9344.
- Yazd, H., Christy, A. D., M.Carver, S., Yu, Z., Dehority, B. A., & H.Tuovinen, O. (2011). Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fuel cells. *Bioresource Technology. Vol 102*, 278-283.
- Yazdi, H., Alzate-Gaviria, L., & Zhiyong, J. (2015). Pluggable microbial fuel cell stacks for septic wastewater treatment and electricity production. *Biosource Technology.*, 258-263.
- Ying, T.-Y., Yang, K.-L., Yiaccoumi, S., & Tsouris, C. (2002.). Electrosorption of Ions from Aqueous Solutions by Nanostructured Carbon Aerogel. *Journal of Colloid and Interface Science. Vol. 250.*, 18-27.
- Youngjin, C., Namjoon, K., Sunghyun, K., & Seunho, J. (2002). Dynamic Behaviors of Redox Mediators within the Hydrophobic Layers as an Important Factor for Effective Microbial Fuel Cell Operation. *Bull. Korean Chem. Soc. 2003 Vol. 24, No. 4* , 437-439.
- Zhang, Y., & Angelidaki, I. (2011). Submersible microbial fuel cell sensor for monitoring microbial activity and BOD in groundwater: focusing on impact of anodic biofilm on sensor applicability. *Biotechnology Bioengener.*, 39-47.
- Zhao, F., Harnisch, F., Schröder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P., & Herrmann, I. (2006.). Challenges and Constraints of Using Oxygen Cathodes in Microbial Fuel Cells. *Environment Science Technology* 40, (17), 5193-5199.
- Zuo, Y., Maness, P.-C., & Logan, B. E. (2006). Electricity Production from Steam-Exploded Corn Stover Biomass. *Energy Fuels* 20 (4) , 1716-1721.


```

*----- VISUALIZACIÓN LCD -----/
oid visu_LCD() {
  lcd.setCursor(7,0);
  lcd.print(hora);
  lcd.print("h");lcd.print(minu); //lcd.print(" ");
  lcd.print("m");lcd.print(seg); //lcd.print(" ");
  lcd.setCursor(6,1); lcd.print(addr - 4); lcd.print(" "); lcd.print(val/0.255);

  -----
*----- TEMPORIZADOR -----/
oid tiempo() {
  tiempo2 = millis();
  if(tiempo2 - tiempo1 > 1000){ //Si ha pasado 1 segundo
    tiempo1 = millis(); //Actualiza el tiempo actual
    seg = seg - 1;
    if (seg >= 60){
      minu = minu + 1;
      seg = 0;
      lcd.clear();
      lcd.print("Tiempo:");
      lcd.setCursor(0,1);
      lcd.print("Datos: ");
      if (minu >= 60){
        hora = hora + 1;
        ~
}
}

}----- Variables del Programa -----
int muestreo = 10; //Periodo de muestreo (minutos)

}----- INICIALIZACIÓN DE VARIABLES -----/
void setup () {
  pinMode (13, INPUT);
  Serial.begin(9600);
  analogReference(EXTERNAL); //máximo de lectura (100 mV)
  lcd.Begin (16,2); //Inicializa el LCD y dimensiones (Col, Filas)
  hora = EEPROM.read(0); minu = EEPROM.read(1); seg = EEPROM.read(2);
  addr = EEPROM.read(3);
  lcd.print ("Iniciando...");
  for (int i=0; i<=2000; i++) {
    val = analogRead (0) /4;
    delay (1); }
  lcd.clear ();
  tiempo1 = millis ();
  lcd.print("Tiempo:");
  lcd.setCursor (0,1);
  lcd.print ("Datos: ");
}

```

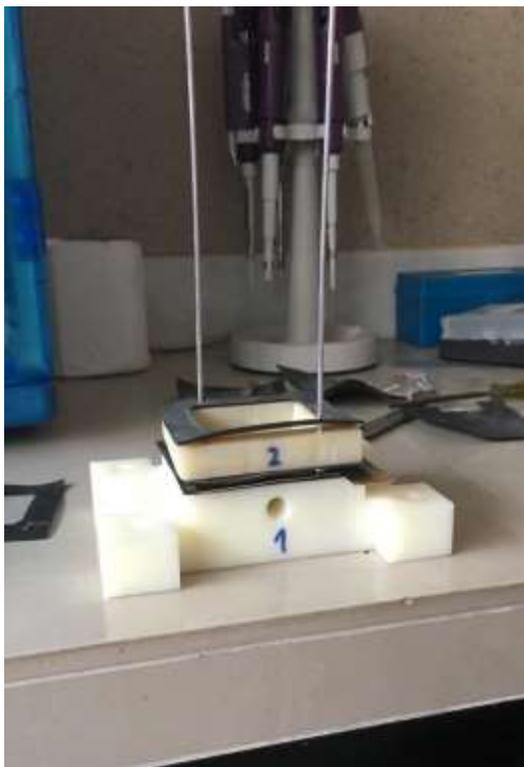
Anexo 2. Código de programación de tarjeta de adquisición de datos.

Digerido enzimático de caseína	20 g
Lactosa	5 g
Cloruro de sodio	5 g
Fosfato disódico	2.75 g
Fosfato monopotásico	2.75 g
Lauril sulfato de sodio	0.1 g
Nitrato de Sodio (10 ppm NO ₃)	1.369 mg

Anexo 3. Formulación de agua residual sintética.



Anexo 4... Formación del Biofilm sobre el electrodo.



Anexo 5. Ensamblado de la CCM.



Anexo 6. Electrodo de Plata chapada con oro



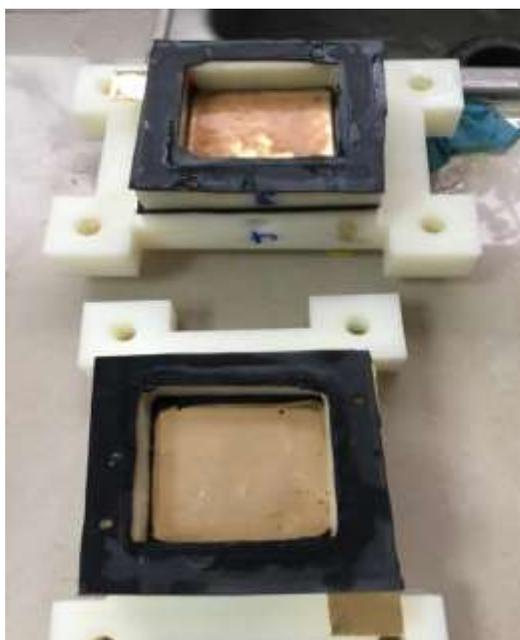
Anexo 7. Ingreso de Solución salina (CIK) a la celda.



Anexo 8. Tinción de Gram.



Anexo 9. Ajuste Caudalímetro.



Anexo 10. Formación de Biofilm.