

EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y DEL DESEMPEÑO ELÉCTRICO EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON AGUA RESIDUAL SINTÉTICA (SIMULADA CON ACETATO, GLUCOSA O LACTOSA).

ZULY DANIELA FAJARDO ENRIQUEZ

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BIOELECTROQUÍMICA (BEQ)
SAN JUAN DE PASTO
2015**

EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y DEL DESEMPEÑO ELÉCTRICO EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON AGUA RESIDUAL SINTÉTICA (SIMULADA CON ACETATO, GLUCOSA O LACTOSA).

ZULY DANIELA FAJARDO ENRIQUEZ

Trabajo de grado presentado al comité curricular y de investigaciones del Departamento de Química como requisito para optar al título de Químico

**Directores:
Ph.D. NELSON HURTADO
M.Sc. DOLLY REVELO
M.Sc. JAIME RUIZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BIOELECTEROQUÍMICA (BEQ)
SAN JUAN DE PASTO
2015**

Las ideas y conclusiones aportadas por el presente trabajo de grado, son de responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1º del acuerdo No.324 del 11 de octubre de 1966, emanado por el Honorable Consejo directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Nelson Humberto Hurtado
Director

Dolly Revelo Romo
Directora

Jaime Ruiz
Director

Fredy Pantoja Timaran
Jurado

Juan José Lozada
Jurado

San Juan de Pasto, Marzo de 2015.

AGRADECIMIENTOS

A mi fortaleza, mi salvador y guía el único y sabio Dios por acompañarme y llevarme a culminar una etapa más de mi vida, quien me formo como ser humano a lo largo de esta hermosa carrera en la cual puso a los mejores para enseñarme e instruirme como profesional.

A mis padres Orlando Fajardo y Tereza Enríquez, y hermanos por apoyarme en cada uno de mis logros y en especial por brindarme su inmenso amor.

A mis directores de tesis Nelson Hurtado, Dolly Revelo y Jaime Ruiz por darme la oportunidad de pertenecer al grupo en investigación en Bioelectroquímica (BEQ), por sus excelentes enseñanzas y paciencia en la dirección del presente trabajo de grado.

A los jurados por sus sugerencias, orientaciones y colaboración.

A Stefania López, Alejandra Ordoñez, Vanesa Pabón, Mario Arciniegas, Jorge Chamorro, y Jesús Viveros compañeros del grupo BEQ, quienes realizaron aportes valiosos en el presente trabajo y con los cuales he compartido gratas experiencias.

A mis amigos y compañeros de estudios Leidy Bolaños, Angélica Delgado, Francisco Enríquez, Yaneth Gómez, Natalia Mosquera, Maritza Román y en general a todas y cada una de las personas con quienes tuve la oportunidad de compartir durante mi carrera por su amistad incondicional y con quienes viví momentos agradables e inolvidables.

Al profesor Álvaro Burbano por su colaboración y valiosos aportes en el presente trabajo.

Al personal de los laboratorios de la Universidad de Nariño quienes facilitaron en muchas ocasiones el desarrollo de este trabajo por su colaboración y disposición en la asesoría del uso de diferentes equipos de la Universidad.

A todas las personas que colaboraron en la culminación de mi carrera por su valiosa compañía, enseñanza y/o brindarme un techo, mi tía Mercedes Fajardo, Darío Fajardo, Alicia Ramírez, Fanny y mi querida Laurita Puerz.

Zuly Daniela Fajardo Enríquez

RESUMEN

Se utilizaron CCMs y microorganismos del Relleno Sanitario Antanas - Pasto, RSA, con el fin de aprovechar la densidad energética contenida en el acetato, la glucosa y lactosa y de esta manera generar electricidad de una forma ecológica. Para esto se construyeron CCMs de doble cámara, que permitieran evaluar la disminución de materia orgánica, MO, en un agua residual sintética, a la vez, que se monitoreaba la generación de electricidad mediante los parámetros Demanda Química de Oxígeno, DQO, y la Eficiencia Coulombica, EC, respectivamente. Por otra parte, para promover la generación de voltaje se descartaron ciertos materiales empleados como electrodos en la cámara anódica de las CCMs, con base en la conductividad y el tamaño, también se empleó en el registro de voltaje, multímetros Fluker y el programa Statgrafis que permitió determinar la influencia de diferentes factores (ciclo, sustrato y concentración) en la DQO y la EC.

Con esta investigación se obtuvo una remoción de MO superior al 90%, a la vez que se generó corriente eléctrica a pequeña escala como lo demuestra el cálculo de la EC, donde se alcanzó un porcentaje superior al 10%. Adicionalmente, se pudo clasificar 31 colonias de microorganismos a partir de la biopelícula establecida sobre los ánodos, responsables de la DQO y EC obtenidas en esta investigación. Se demostró en esta investigación que el acetato promovió el desarrollo de un mayor número de colonias cultivables (propias para el sustrato), lo que probablemente fue el factor clave en la generación de voltaje dentro de las CCMs suplementadas con este sustrato; sin embargo estas colonias no ejercen el mismo efecto en la DQO puesto que experimentalmente se muestra un porcentaje de remoción de MO bajo.

Por otra parte en la CCMs con lactosa se logró remover un mayor porcentaje de MO (donde se encontró un menor número de colonias microbianas cultivables), esto posiblemente debido a que este sustrato fomentó el crecimiento de microorganismos con alta actividad microbiana en la degradación de este sustrato orgánico, no obstante se obtuvieron los menores porcentajes en la EC indicando así que la comunidad establecida en los electrodos al final del experimento tienen metabolismos de fermentación y metanogénesis, de los cuales se conoce su no contribución en la generación de electricidad.

Con el desarrollo de este trabajo se encontró que para generar electricidad en CCMs es mejor emplear acetato a una concentración de 0,1M, y la eficiencia incrementara en el sistema con el número de ciclos, es decir, la comunidad microbiana sobre los electrodos se vuelve más específica en este parámetro con el tiempo, por otro lado si el objetivo es remover MO experimentalmente se encontró que la lactosa es el sustrato más fácilmente biodegradado por los microorganismos presentes en el lodo del RSA con el cual se podría remover MO aún en concentraciones superiores a 0,25M.

ABSTRACT

CCMs and microorganisms taken from the Antanas sanitary landfill, located in Pasto Nariño RSA, were used to take benefit of its energetic density contained in acetate, glucose and lactose, and thereby generate electricity like an ecological way. CCMs dual camera were built to evaluate the diminution of organic material, OM, in synthetic wastewater while the electricity generation has been monitored by Chemical Oxygen Demand (COD), and Efficiency Coulomb, CE, parameters respectively. Moreover, to the generation of voltage, certain materials were discarded used as electrodes, based on the conductivity and size, also were employed multimeters Fluker in theregister the voltage and Statgraphics program allowed to determine the influence of different factors (cycle, substrate and concentration) in COD and CE.

With this research, a 90% higher removal OM was obtained, while electric current is generated on small scale as evidenced by the calculation of CE, which achieved a higher percentage of 10%. Additionally, it could to classify 31colonies of microorganisms from thebiofilmes tablished onthe anodes, responsible for COD and CE obtainedin this research. As it demostration in this research, acetate promoted the development of a higher number of arable colonies (own for the substratum), which probablywas thekeyfactorin generating of voltage within of the CC Mssupplemented withthis substrate; however this colonies don't exert the same effecton theCOD because experimentally removal percentage of OMwas low.

MoreoverinCCMswith lactosewas managedto removea higher percentage of OM(whereit found less number of cultivablemicrobial colonies),this possibly because thiss ubstrate fostered the growth of microorganisms withhighmicrobial activityin the degradation of this organic substrate, howeversmaller percentageswere obtainedin CEindicatingthat the communityestablished onthe electrodesat the en dof the experimetha vefermentation and methano genesis metabolisms, of whichits know ncontribution notin power generation.

With the development of this work it found to generate electricity in CCMs os betterto use acetate in a concentration of 0,1M, and efficiency will increase in the system with the number of cycles, that is, the microbial community on the electrodes becomes more specifically in this parameter with the time, on the other hand if the objective is to remove OM experimentally it found that lactose is the substrate more easily biodegraded by the microorganisms in the sludge of the RSA which could be removed OM even in concentrations higher to 0,25M.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	18
1.1 OBJETIVO GENERAL	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2. MARCO REFERENCIAL.....	19
2.1 MARCO TEÓRICO	19
2.1.1 Celdas de combustible microbianas CCMs.....	19
2.1.1.1 Fundamentos.....	19
2.1.1.2 Nuevos diseños.....	20
2.1.1.3 CCMs con diferentes especies microbianas (catalizadores).....	21
2.1.1.4 Sustratos empleados en las CCMs.....	22
2.1.1.5 Aplicaciones.....	24
2.1.1.5.1 Tratamiento de aguas residuales	24
2.1.1.5.2 Generación de electricidad.....	25
2.1.1.5.3 Biosensor	25
2.1.1.6 Parámetros analíticos.....	25
2.1.1.6.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	25
2.1.1.6.2 Desempeño Eléctrico.....	26
2.1.1.7 Células viables presentes en la biopelícula establecida sobre el ánodo.....	27
2.2 ESTADO DEL ARTE.....	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 MATERIALES Y EQUIPOS.....	30
3.1.1 Configuración de la CCM	30
3.1.2 Solución de la cámara anódica	30
3.1.3 Solución de la cámara catódica	31
3.1.4 Inóculo microbiano para la solución anódica.....	31
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	32

3.3 MÉTODOS	33
3.3.1 Aclimatación y formación de biopelícula en el electrodo y lecho.....	33
3.3.2 Operación de la CCM.....	34
3.3.3 Parámetros analíticos.....	35
3.3.3.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	35
3.3.4 Medición de voltaje.....	36
3.3.4.1 Densidad de Potencia (DP).....	37
3.3.4.2 Eficiencia Coulómbica (EC).....	37
3.2.5 Conteo de células viables a partir de las biopelículas de los ánodos.....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1 ANÁLISIS DE LA ARQUITECTURA DE LAS CCMs EMPLEADAS EN ESTA INVESTIGACIÓN	38
4.2 ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE LAS SOLUCIONES ANÓDICA (AGUA RESIDUAL SINTÉTICA-ARS) Y CATÓDICA.....	39
4.3 CONTEO DE COLONIAS MICROBIANAS CULTIVADAS A PARTIR DE LAS BIOPELÍCULAS DE LOS ÁNODOS	40
4.4 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO ELECTRICO EN LAS CCMs	42
4.4.1 Generación de voltaje en las ccms de cátodo aireado.....	42
4.4.2 Evaluación de la Densidad de Potencia (DP).....	46
4.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).....	49
4.5.1 Análisis curva de calibración.....	49
4.6 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA COULOMBICA.....	52
CONCLUSIONES.....	58
RECOMENDACIONES.....	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60

LISTA DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Configuraciones de las CCM y reacciones electroquímicas. (A) CCM de doble cámara usando oxígeno como aceptor de electrones en el cátodo. (B) CCM de una sola cámara con cátodo aireado (Liu y Logan 2004). M, mediador; CHO, compuestos orgánicos; PEM, membrana intercambiadora de protones.....	15
Figura 2. CCM de doble cámara. (a) Diseño del grupo de investigación en Bioelectroquímica (BEQ) de la Universidad de Nariño, (b) Puente salino Agar-KCl,(c) Lecho de grafito; (d) cátodo; (e) ánodo.....	28
Figura 3. Laguna de igualación RSA recolección de lodo anaerobio.....	30
Figura 4. Aclimatación y formación de biopelícula.....	32
Figura 5. (a) Operación de CCM, (b) Monitoreo de CCMs Registro de voltaje multímetros fluker, (c) Registro voltaje sistema SAD.....	32
Figura 6. Combinaciones de efectos en un diseño 3 ³	32
Figura 7. (a)Termoreactor E&Q; (b) Soluciones de la curva de calibración.....	34
Figura 8. a) Biopelícula establecida en ánodos de grafito en CCMs al final del experimento, b) algunas colonias microbianas procedentes de la biopelícula de los ánodos.....	37
Figura 9. Factores que inciden en el establecimiento de colonias diferentes sobre los ánodos de las CCMs.....	39
Figura 10. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos a 0,05M. a) Primer ciclo, b) segundo ciclo y c) tercer ciclo.....	41
Figura 11. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos a 0,1M a) primer ciclo, b) segundo ciclo y c) tercer ciclo.....	42
Figura 12. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos 0,25M a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo.....	44
Figura 13. Curva de calibración para la cuantificación de DQO.....	48
Figura 14. Interacciones de los efectos en disminución de MO a) sustrato y concentración, b) ciclo y sustrato.....	47
Figura 15. Interacciones de los factores: sustrato, concentración y ciclo en la EC.....	51
Figura 16. Efectos principales de cada factpr sobre la EC.....	53

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbiano (CCMs) y la corriente máxima producida.....	20
Tabla 2. Composición de aguas residuales sintéticas (Chen <i>et al.</i> , 2008).....	29
Tabla 3. Diseño factorial 3^3	30
Tabla 4. Diseño experimental combinaciones de efectos en el diseño 3^3	30
Tabla 5. Análisis de Varianza para Riqueza	39
Tabla 6. Voltajes generados y DP calculadas para las CCMs-BEQ de cátodo aireado.....	44
Tabla 7. Porcentaje de remoción de MO en CCMs de cátodo aireado, DQO.....	48
Tabla 8. Análisis de Varianza para DQO	47
Tabla 9. Porcentaje de EC generado en cada CCM de cátodo aireado.....	50
Tabla 10. Análisis de Varianza para EC.....	52

LISTA DE ANEXOS

	Pag
Anexo A. Análisis fisicoquímico de lodos anaerobios del RSA, laboratorios Universidad de Nariño.....	68
Anexo B. Generación de corriente en las CCMs empleando diferentes sustratos y concentraciones a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo	69
Anexo C. Recuento de colonias microbianas en la biopelícula de los ánodos.....	71
Anexo D. Datos de remoción de MO al inicio y final del ciclo.....	82

GLOSARIO

AGUA RESIDUAL SINTÉTICA: agua con la carga orgánica macro y micronutriente creada en el laboratorio que se asemeja a el agua residual natural.

ANAEROBIO: ausencia de oxígeno (favorece el crecimiento de microorganismos anaerobios capaces de generar electricidad)

ÁNODO: electrodo receptor de electrones provenientes de la cadena respiratoria de los microorganismos.

BIOCATÁLISIS: aceleración de los procesos de degradación de la materia orgánica por microorganismos.

BIOPELÍCULA: crecimiento microbiano sobre superficies inertes o tejido vivo. La biopelícula puede estar formada por una sola especie bacteriana, aunque también pueden consistir muchas especies de bacterias, hongos, algas y protozoos

CÁMARA ANÓDICA: lugar donde se lleva a cabo la oxidación de la materia orgánica.

CÁTODO: electrodo receptor de los electrones provenientes de la cámara anódica.

CÁMARA CATÓDICA: sitio donde se reduce el oxígeno con los electrones provenientes de la cámara anódica.

CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS: Biotecnología que utiliza microorganismos para convertir la energía química contenida en la materia orgánica en energía eléctrica.

CICLO: tiempo establecido para determinar la eficiencia de las CCMs en remoción de MO y generación de electricidad, delimitado por la generación de 3 mV en las celdas.

CONDUCTOR: Material en el que existe un gran número de cargas en su interior y estas se mueven fácilmente de un lugar a otro.

CORRIENTE ELECTRICA: Es la circulación de la carga a través de un material conductor.

COLONIAS: Población microbiana formada a partir de una célula microbiana viva.

CURVA DE CALIBRACIÓN: Grafica que indica la variación de la señal analítica respecto a la cantidad de analito.

DENSIDAD DE POTENCIA: máxima potencia generada por unidad de área del electrodo.

DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO: mide la materia orgánica presente en cualquier agua.

ELECTRODO: es un conductor eléctrico que puede estar en contacto con un líquido o gas. Sistema físico en el que se produce una semireacción redox.

EFICIENCIA COULOMBICA: relación entre la carga generada en un sistema frente a la carga teórica que podría generar el mismo.

ELECTRICIDAD: es una forma de energía que presenta un sinnúmero de aplicaciones genera trabajo mecánico, luz, calor, entre otros.

INOCULO: Es una suspensión de microorganismos vivos que se han adaptado para reproducirse en un medio específico.

LODOS: semisólido que contienen una gran cantidad de materia orgánica, inorgánica y microorganismos en suspensión.

MICROORGANISMOS: son seres vivos, unicelulares cuya fuente de energía es por lo general la materia orgánica, en este grupo se encuentran los virus, las bacterias, levaduras y mohos.

POTENCIAL DE REDUCCIÓN: característica fisicoquímica de los elementos a reducir otros elementos (donación de electrones) mientras estos se oxidan (perdida de electrones).

REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA: disminución de compuestos orgánicos de un sistema.

RELLENO SANITARIO: sistema diseñado para la disposición final de los residuos sólidos no aprovechables (producidos por una ciudad, población o zona habitada) que minimiza los efectos en la salud y el medio ambiente.

RESISTENCIA INTERNA: factores que disminuye la generación de electricidad en las CCMs.

SUSTRATO: fuente de carbono (nutriente) importante para cualquier proceso biológico y fuente de energía.

VOLTAJE: diferencia de potencial generada en una resistencia debida al flujo de electrones a través de ella.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ARS: agua residual sintética

AM: azul de metileno

AMel: azul de meldola

CCMs: celdas de combustible microbiano

CCMs-BEQ: celdas de combustible microbiano configuradas por el grupo en investigación en Bioelectroquímica de la Universidad de Nariño

CHO: compuestos orgánicos

DQO: demanda química de oxígeno

DBO: demanda biológica de oxígeno

ECE: eficiencia de conversión de energía.

ECmáx: eficiencia coulombica máxima

g/L: gramos por litro

HNQ: 2-hidroxi-1,4-naftoquinona

MIP: membrana Intercambiadora de Protones (permeable al paso de protones H^+)

mg: miligramos

mL: mililitros

MO: materia orgánica

mV: mili voltios

PEM: membrana intercambiadora de protones

Rin: resistencia Interna (dentro de las CCMs que disminuye la generación de electricidad en estos dispositivos)

RN: rojo neutro

RSA: relleno sanitario Antanas

Vmáx: voltaje máximo

INTRODUCCIÓN

Una CCM es un dispositivo encargado de convertir la energía química presente en los enlaces de los compuestos orgánicos, en energía eléctrica. En este tipo de celdas este proceso se hace mediante reacciones biocatalizadas por microorganismos bajo condiciones anaerobias (Pant *et al.* 2010). En este proceso los electrones generados en la cámara anódica fluyen hacia la cámara catódica en donde debido a la presencia de H^+ y O_2 se produce agua. Este mecanismo de reducción que ocurre en la cámara catódica de la CCM es el que genera la corriente eléctrica. Por el contrario, en la cámara anódica ocurre la oxidación de la MO, lo que es muy importante si el objetivo es descontaminar aguas residuales.

Con las CCMs se podrían abordar dos aspectos que actualmente generan un impacto negativo sobre el ecosistema como lo son: el exceso de MO en las aguas residuales, la que puede ser removida como se mencionó anteriormente, por oxidación y la contaminación en la atmosfera con el uso de combustible fósil por la generación de energía, que es otra alternativa de este tipo de dispositivos, ya que de acuerdo a recientes investigaciones (Pant *et al.*, 2010 y Burgos, 2012) la corriente eléctrica en este tipo de celdas puede ser aprovechable sin incrementar la concentración de CO_2 en la atmosfera dado que la transformación de la energía química a eléctrica se hace sin pasar por el proceso de combustión (Burgos, 2012).

Este trabajo de investigación se enfoca principalmente en el primer aspecto, es decir lograr descontaminar a futuro aguas residuales enriquecidas con MO provenientes de diversas industrias. Debido a la gran complejidad de este tipo de efluentes, una primera aproximación es utilizar una CCM para estudiar la eficiencia de la oxidación en un agua preparada sintéticamente con MO simple que simule la carga orgánica que contienen las aguas residuales de origen industrial.

Es por ello que en este estudio se emplearon Aguas Residuales Sintéticas, ARS, que contenían acetato, glucosa y lactosa en diferentes concentraciones 0.05 M, 0.1 M y 0.25 M, se utilizaron este tipo de compuestos ya que son los que se encuentran en mayor concentración en las aguas residuales de la industria láctea (lactosa) y son de fácil biodegradación (acetato, glucosa). La lactosa es considerada como un sustrato altamente contaminante, porque durante el proceso de obtención del queso se genera suero residual en el que se encuentra el 95% del total de la lactosa presente en la leche y el volumen de suero generado es de 7 a 10 veces mayor que el queso producido (Engler, 2003).

En el Departamento de Nariño además de la industria láctea otra actividad fuertemente establecida es la agricultura en la que se produce café, caña de azúcar, maíz, plátano y un sinnúmero de alimentos, de las cuales se originan grandes cantidades de MO rica en sustratos como los mono y disacáridos y desechos lignocelulósicos que una vez culminada la cosecha, normalmente son quemados produciendo grandes cantidades de CO_2 que favorece el calentamiento global ó son dejados al aire libre para su descomposición (putrefacción) lo cual hace que directa o indirectamente contaminen las fuentes hídricas.

Con el propósito de elucidar el comportamiento de estos dispositivos a micro-escala y que en el futuro puedan utilizarse a mayor escala para depurar aguas residuales industriales, en el grupo de Grupo de Investigación en bioelectroquímica (BEQ) de la Universidad de Nariño, se diseñó una celda de combustible microbiana la cual usa microorganismos que participan en el proceso de oxidación (catalizadores) presentes en los lodos provenientes del RSA, una materia prima que existe en la región, y también electrodos de grafito con cátodo aireado. El grado de degradación de la MO se evaluó monitoreando la DQO y la generación de energía se valoró midiendo la EC.

Con estos ensayos se logró estudiar el comportamiento de la CCM a escala de laboratorio bajo diferentes fuentes de carbono. En la primera fase de este trabajo se evaluó durante un año y dos meses la formación y aclimatación de la biopelícula en los electrodos de grafito, y en la segunda fase se utilizaron los electrodos de grafito con biopelícula para evaluar los objetivos propuestos: degradación de MO y generación de electricidad.

Con el uso de las CCMs-BEQ se generó electricidad de una forma ecológica, encontrándose que la disminución en MO determinada mediante la DQO fue representativa con cada sustrato. Se generó corriente eléctrica a pequeña escala como lo demuestra el cálculo de la EC. Además, se pudo clasificar por características macroscópicas las colonias cultivables a partir de la biopelícula establecida sobre los ánodos, microorganismos responsables de la DQO y EC obtenidas en esta investigación.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la remoción de materia orgánica (MO) y el desempeño eléctrico en una Celda de Combustible Microbiana (CCM) con Agua Residual Sintética (ARS).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Valorar la remoción de diferentes fuentes de carbono en una CCM usando lodos anaerobios como biocatalizador.

Determinar el efecto de diferentes fuentes de carbono a diferentes concentraciones sobre el desempeño eléctrico de una CCM.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS CCMs

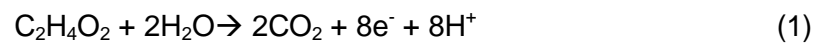
2.1.1.1 Fundamentos

Las CCMs son dispositivos bioelectroquímicos que utilizan el metabolismo biológico para la generación de energía eléctrica y la descontaminación de aguas residuales (Schroder, 2007; Pant *et al.*, 2011). En estos dispositivos las bacterias anaerobias realizan una transformación directa de la energía química almacenada en los compuestos orgánicos, presentes en aguas residuales a energía eléctrica (Pant *et al.*, 2010), sin pasar por el proceso de combustión (Burgos, 2012) como resultado de este proceso se tiene agua con un menor contenido de MO (limpia) y se genera energía eléctrica a pequeña escala (Rabaey *et al.*, 2005).

Las CCMs tradicionales están formadas por dos cámaras, una cámara catódica aerobia y una cámara anódica anaerobia (Logan *et al.*, 2005; Logan *et al.*, 2006; Logan *et al.*, 2007), separadas internamente por una membrana intercambiadora de protones (MIP) o un puente salino que interconecta eléctricamente las cámaras, al mismo tiempo que bloquean la difusión de oxígeno hacia el ánodo y externamente conectadas por un circuito electrónico unido a los electrodos presentes en cada cámara (Figura 1a y b).

Los electrodos que se emplean se componen de diferentes elementos en estado puro o en aleaciones con el propósito de incrementar la EC en las celdas, por ejemplo, electrodos de platino, oro, carbón activado (granulado, fibra, láminas), grafito de varios tipos, Ti-TiO₂ (Liu y Logan, 2004; Bullen *et al.*, 2006; Rosenbaum *et al.*, 2006; Kargi y Eker, 2007; Logan *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2007; Cirik, 2014). Todos estos materiales son estables en la solución anódica y conducen la electricidad, el grafito se destaca sobre los demás por ser renovable ya que se produce a partir de residuos de biomasa (Zhang *et al.*, 2011), es económico, fácil de manejar, no es tóxico para el medio ambiente (Borole *et al.*, 2009) y posee un área de contacto definida (Benetton *et al.*, 2010).

En la cámara anódica las bacterias anaerobias electroquímicamente activas crecen en la superficie del electrodo (ánodo) y oxidan la MO (es decir, el acetato, glucosa, proteínas, entre otros desechos orgánicos de biomasa, que se encuentran presentes en las aguas residuales) produciendo electrones (e⁻) y protones (H⁺) (Reacción 1). Los electrones viajan a través del circuito externo que conecta el ánodo y el cátodo, los protones son transferidos desde la cámara anódica a la cámara catódica a través de la Membrana Intercambiadora de Protones, MIP, (Min *et al.*, 2005b), estos electrones y protones en la cámara catódica reaccionan con el oxígeno para formar agua (Reacción 2).



En los últimos años se ha mejorado la generación de electricidad a escala de laboratorio en las CCMs, realizando modificaciones en algunos de los factores que intervienen en este parámetro: nuevos diseños, diferentes especies microbianas, modificación del material y la forma del electrodo y condiciones de funcionamiento, como la concentración de sustrato que se describen a continuación.

2.1.2 Nuevos diseños: Existen diferentes diseños para las CCMs, que pueden involucrar el número de cámaras, el número de CCMs, y su modo de operación. Las cámaras poseen varias formas prácticas, un ejemplo de los diagramas esquemáticos de las CCMs de dos y de una cámara se muestran en la Figura 1 (He *et al.*, 2006), en ella se aprecian dos diseños de CCM, en a) se representa el esquema de una CCM de doble cámara en la que se emplea el oxígeno como aceptor de electrones en la cámara catódica, en b) únicamente se emplea una cámara anódica, y se elimina la MIP y el cátodo simplemente se expone al aire, sobre el cual se reduce el oxígeno. En cuanto al número de celdas, éstas se pueden apilar y/o conectar en serie con el propósito de incrementar el voltaje.

En CCMs de doble cámara se pueden emplear dos clases de separadores físicos, las MIP y el puente salino, las primeras comprenden un sinnúmero de membranas entre las cuales están las de intercambio catiónico, intercambio de aniones, bipolar, telas porosas; por su parte en el puente salino se usa agar como separador físico de las soluciones con un compuesto iónico para mantener en contacto eléctrico entre cámaras (Li *et al.*, 2010). Estas celdas también se pueden diferenciar teniendo en cuenta el receptor de electrones en el cátodo que puede ser cualquier sustancia, generalmente con un potencial de reducción alto o microorganismos reductores, así por ejemplo, las CCMs con oxígeno se denominan celdas de cátodo aireado y las celdas que emplean microorganismos como los *Geobacter sulfurreducens*, se denominan celdas de biocátodo (He *et al.*, 2006).

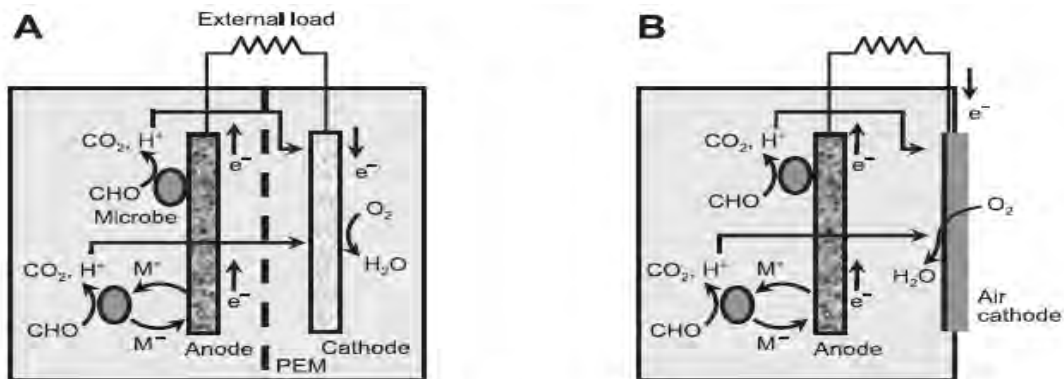


Figura 1. Configuraciones de las CCM y reacciones electroquímicas. (A) CCM de doble cámara usando oxígeno como aceptor de electrones en el cátodo. (B) CCM de una sola cámara con cátodo aireado (Liu y Logan, 2004). M, mediador; CHO, compuestos orgánicos; PEM, membrana intercambiadora de protones.

Fuente: Watanabe 2008 tecnologías en CCMs.

2.1.3 CCMs con diferentes especies microbianas (catalizadores), otro factor que influye en la generación de corriente eléctrica son los microorganismos empleados en la cámara anódica, ya que liberan los electrones al degradar la MO y los transfieren a los electrodos (Bond y Lovley, 2003; Lovley, 2006; Du *et al.*, 2007) de ahí que se utilicen cultivos puros (*Geobacter sulfurreducens* y *Shewanella putrefaciens*) o cultivos mixtos (de aguas residuales y de lodos activados) (Kim *et al.*, 2002; Chaudhuri y Lovley, 2003; Lovley, 2005; Bullen *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007).

2.1.3.1 Electrígenos: los microorganismos como: *Shewanella putrefaciens* (Kim *et al.*, 2002), *Geobacter sulfurreducens* (Bond y Lovley, 2003), *Geobacter metallireducens* (Min *et al.*, 2005a) y *Rhodospirillum rubrum* (Chaudhuri y Lovley, 2003; Lovley, 2005) son especies bioelectroquímicamente activas con la capacidad de formar una biopelícula en la superficie del electrodo de la cámara anódica a través de la cual se transfieren electrones directamente desde su membrana (Du *et al.*, 2007); el término electrígenos fue propuesto para referirse específicamente a los microorganismos que oxidan completamente los compuestos orgánicos a dióxido de carbono sobre un electrodo que actúa como el único receptor de electrones (Bond y Lovley, 2003), estas especies son operativamente estables, oxidan completamente la MO, lo que garantiza un rendimiento de alta EC (Scholz y Schroder, 2003; Lovley, 2005).

Por otra parte existen también algunos microorganismos con la capacidad de sintetizar y utilizar sus propios metabolitos como mediadores endógenos (Vega y Fernandez 1987) entre estos se encuentran: los ácidos húmicos, antraquinona, oxianiones de azufre (sulfato y tiosulfato) entre otros (Liu *et al.* 2009) que tienen la capacidad de transferir electrones desde el interior de la membrana celular hacia el ánodo. Así por ejemplo, las *Pseudomonas aeruginosa* produce piocianina como mediador de electrones (Rabaey *et al.*, 2004; 2005a).

En contraste a esto muchas especies microbianas son incapaces de transferir electrones directamente al ánodo, puesto que las capas de membrana exteriores de la gran mayoría se componen de lípidos de membrana, peptidoglicano y lipopolisacáridos, que dificultan la transferencia directa de electrones hacia el ánodo (Du *et al.*, 2007). Como solución para inducir o incrementar la transferencia de electrones en estas especies se adicionan mediadores sintéticos (Tokuji y Kenji 2003) por ejemplo: colorantes, órgano metálicos, rojo neutro (RN), azul de metileno (AM), metionina, azul de meldola (AMel), 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (HNQ), e Fe (III) con EDTA (Potter, 1911; Vega y Fernandez, 1987; Allen y Bennetto, 1993; Lovley, 1993; Kim *et al.*, 2007), que en un estado oxidado fácilmente atraviesan la membrana y en el interior de los microorganismos se reducen al capturar electrones, luego salen cruzando la membrana y liberan los electrones en el ánodo, este proceso cíclico acelera la velocidad de transferencia de electrones y aumenta la potencia de salida en las CCMs (Potter, 1911). Desafortunadamente la toxicidad y la inestabilidad de los mediadores sintéticos limitan sus aplicaciones en CCM.

No obstante, aún con la existencia de los electrígenos en este momento hay dos grandes retos por superar en la generación de energía a través de las CCMs. En primer lugar, la alta resistencia interna de las CCMs consume grandes cantidades de energía

generada dentro de los estos dispositivos (Liu y Logan, 2004), por lo que aún no se ha logrado una conversión eficiente de la energía química en energía eléctrica (Pant *et al.*, 2010); en segundo lugar, la producción de electricidad en las CCMs se incrementa con la concentración del sustrato, no obstante, cuando se exceden ciertas concentraciones se ha encontrado que la generación de energía se inhibe (Kim *et al.*, 2007). La concentración límite para la obtención de electricidad no ha sido determinada, es más, debido a la presencia de diferentes sustratos en varias concentraciones en aguas residuales, es indispensable determinar a conveniencia la concentración y el tipo de sustrato para la configuración específica de CCMs encaminado a mejorar la EC (Liu y Logan, 2004).

2.1.4 Sustratos empleados en las CCMs

En las CCMs el sustrato es considerado como uno de los factores biológicos más importantes que afectan la generación de electricidad (Pant *et al.*, 2010), ya que favorece o no el crecimiento de diferentes colonias microbianas en los electrodos.

En la Tabla 1 se muestra un listado de los sustratos usados en las CCMs para generar electricidad (Pant *et al.*, (2010), aunque es difícil comparar los resultados en ellas, debido a las diferentes condiciones de operación, la superficie y el tipo de electrodos así como los microorganismos involucrados; en esta tabla se toma como referencia la densidad de corriente, que representa la corriente generada por unidad de área del ánodo (mA/cm^2), también se presenta información sobre el tipo de electrodos, sustrato y concentración e inóculos utilizados en diversas CCMs.

Tabla 1. Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbiano (CCMs) y la corriente máxima producida.

Tipo de sustrato	Concentración	Fuente del inóculo	Tipo de CCM (superficie de electrodo área y/o volumen de la celda)	Densidad de corriente máx (mA/cm ²)	Referencia
Aguas residuales modificadas con acetato	1600 mg/L	Aguas residuales domesticas	Con un ánodo sumergido (papel carbón, 16 cm ²) y una cámara de cátodo aireado en un reactor anaeróbico	0,08	Min y Angelidaki, (2008)
Agua residual sintética	16 g COD/day	Lodo granular anaeróbico de flujo ascendente (UASB) reactor	Sin membrana, sin mediador con electrodo de vidrio de carbono (160 cm ²)	0,017	Aldrovandi <i>et al.</i> (2009)
Lactato	18 mM	Cultivo puro de <i>S. oneidensis</i> MR-1	Dos cámara con electrodo de grafito (20 cm ²)	0,005	Manohar y Mansfeld (2009)
Glucosa	6,7 mM	Cultivo bacteriano mixto mantenido con acetato de sodio por 1 año (<i>Rhodococcus</i> y <i>Paracoccus</i>)	cámara de cátodo aireado (12 mL) con tela impermeable de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado como cátodo (7 cm ²)	0,70	Catal <i>et al.</i> (2008a)
Acetato	1 g/L	Bacterias preaclimatadas de CCM	CCM de una sola cámara de con ánodo de fibra de grafito (volumen ánodo 7170 m ² / m ³)	0,8	Logan <i>et al.</i> (2007)

Fuente. Adaptado de Pant et al 2010 sustratos CCMs.

Se conoce que la composición del ARS, la concentración y el tipo de sustrato también afectan el desarrollo de la comunidad microbiana y la producción de energía (Pant, 2010; Cheng y Logan, 2011), por lo tanto, en esta investigación se estudió el efecto de tres sustratos que están presentes en mayor concentración en los residuos generados por diversos sectores productivos de la región (Engler, 2003) como son: el acetato, la glucosa y la lactosa a diferentes concentraciones.

2.1.4.1 Acetato

En la mayoría de los estudios de CCM el acetato ha sido el sustrato de elección como fuente de carbono para la generación de electricidad, ya que permite comparar los nuevos componentes, nuevos diseños o condiciones de funcionamiento de las celdas; este compuesto se utiliza también como sustrato debido a su inercia hacia la alternativa de conversión microbiana (fermentación y metanogénesis) a temperatura ambiente (Chae *et al.*, 2009), además el acetato es el producto final de varias rutas metabólicas que implican el uso de fuentes de carbono de mayor tamaño y complejidad, como por ejemplo la ruta de Entner-Doudoroff para el metabolismo de la glucosa (Bond *et al.*, 2002).

2.1.4.2 Glucosa y Lactosa.

Son carbohidratos formados por monosacáridos de glucosa y galactosa que en presencia de bacterias anaerobias son fermentados hasta metano y dióxido de carbono como productos finales en el proceso de fermentación en el cual se llevan a cabo tres etapas Acidogénesis, Acetogénesis y Metanogénesis (McInerney y Bryant, 1981). El primero de ellos consiste en la hidrólisis de los monómeros, para producir ácidos grasos volátiles de dos a cinco átomos de carbono, ácidos carboxílicos, como el succinato, alcoholes (metanol y etanol), CO_2 e H_2 (Rittman y MacCarty, 2001), la Acetogénesis consiste en la conversión de alcoholes en acetato H_2 y CO_2 este proceso lo lleva a cabo bacterias Acetogénicas (Monroy-Hermosillo, 1998), finalmente la metanogénesis consiste en la producción de metano a partir de un pequeño grupo de sustratos que incluye la mezcla de H/CO_2 , el formiato, el acetato y el metano y las metilaminas (Carmona *et al.*, 2005), el hidrógeno producido a partir de la fermentación puede ser fuente de electrones (Lovley, 2008) estas tres etapas implican el crecimiento de varias comunidades microbianas y como consecuencia se presenta la pérdida de electrones y por consiguiente una baja EC (Chae *et al.*, 2009).

2.1.4.3 Aguas Residuales Sintéticas (ARS)

Las ARS con una composición bien definida son muy utilizadas en los experimentos con CCMs, ya que en ellas es fácil controlar términos como el pH y la conductividad (Pant *et al.*, 2010). La implementación de ARS en la obtención de energía eléctrica a partir de la oxidación completa del sustrato en el metabolismo de los microorganismos empleados en las CCM, permite obtener la cantidad real de MO responsable de la producción de energía eléctrica, ya que en estos dispositivos se controla la cantidad de sustrato introducido en el sistema y su disminución en el tiempo, la cual se mide mediante el parámetro DQO en el sistema. Caso contrario, al emplear aguas residuales naturales que en su mayoría son aguas residuales de alta resistencia con presencia de especies de azufre reducidos (donantes de electrones abióticos) podrían obtenerse datos erróneos de la producción energética de la CCM ya que estas especies azufradas aumentan la producción de energía por un tiempo corto (Soto y Vásquez, 1997).

2.1.5 APLICACIONES.

Inicialmente las CCMs se diseñaron con el fin de disminuir la MO de aguas contaminadas y generar electricidad, experimentalmente se encontró en estas celdas alta eficiencia en el primer objetivo, sin embargo debido a que no se ha logrado obtener un potencial elevado, actualmente en diversas investigaciones se analizan otras alternativas de aplicación, por ejemplo, producción de biohidrógeno, biosensores, entre otros que se describen a continuación.

2.1.5.1 Tratamiento de aguas residuales: Las CCMs pueden utilizarse en el tratamiento de aguas residuales municipales, de porcinos y rastrojo de maíz, siendo este tipo de sustratos ideales para su uso en celdas debido a su alto contenido en

compuestos orgánicos (Liu y Logan, 2004; Logan, 2004; Oh y Logan, 2005; Shantaram *et al.*, 2005; Zuo *et al.*, 2006).

Teniendo en cuenta que la tecnología CCMs es relativamente nueva, una aproximación del costo beneficio ofrecido por las CCMs dentro de las revisiones bibliográficas realizadas, se encuentra que las CCMs pueden reducir a la mitad la energía eléctrica necesaria en el tratamiento convencional para la aireación de lodos activados, que actualmente tiene un elevado costo energético, ya que las CCMs reducen en un 50-90% los sólidos para ser eliminados con este procedimiento (Holzman, 2005), además en estas se pueden emplear microorganismos con la habilidad de eliminar sulfuros, tal cual se requiere en el tratamiento de dichas aguas (Kim, JR. *et al.*, 2005); en algunos casos se ha logrado remover hasta un 80% de la DQO (Liu *et al.*, 2004; Min *et al.*, 2005b).

2.1.5.2 Generación de electricidad: La generación de energía en CCMs es pequeña (DeLong y Chandler 2002; Tender *et al.*, 2002), por lo tanto almacenando la electricidad en condensadores se puede utilizar la energía producida en las CCMs en dispositivos con grandes requerimientos de energía (Ieropoulos *et al.*, 2003a) por ejemplo, condensadores como los que están presentes en robots, el EcoBot acumula la energía generada por la CCM y esto le permite trabajar a modo de pulsos.

2.1.5.3 Biosensor: Aparte de los usos ya mencionados, otra posible aplicación de la tecnología CCM es como sensor para el análisis de contaminantes (Chang *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2005), puesto que se ha observado una correlación proporcional entre la eficiencia coulombica de las CCMs y la composición de las aguas residuales, lo que convierte las CCMs en posibles sensores de la demanda biológica de oxígeno (DBO) (Kim, BH. *et al.*, 2003), incluso una serie de investigaciones (Kim *et al.*, 2003; Zuo *et al.*, 2006), han propuesto que este tipo de CCM sensor de DBO tienen ventaja sobre otros tipos de sensores, porque estas tienen una excelente estabilidad de funcionamiento y buena reproducibilidad y precisión.

2.1.6 PARÁMETROS ANALÍTICOS.

2.1.6.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO es un parámetro que mide la cantidad de MO presente en una muestra líquida, susceptible de ser oxidada por medios químicos, se utiliza para medir el grado de contaminación de la muestra y se expresa en miligramos de oxígeno diatómico por litro (mg O₂/L), la DQO permite examinar la calidad de las aguas.

Para medir la DQO normalmente se utiliza una solución acuosa muy ácida (regularmente con H₂SO₄), con dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) para oxidar la MO, sulfato de plata (Ag₂SO₄) como catalizador de la oxidación de alcoholes y aminoácidos colateralmente, para reducir el efecto negativo de los cloruros y sulfato de mercurio (HgSO₄) el cual forma con los cloruros un compuesto muy toxico de difícil ionización. Una vez finalizado el análisis, se considera que por lo menos el 95% de la MO fue

oxidada y se tiene como producto final dióxido de carbono (CO₂), el cual se difunde en el aire del medio ambiente (APHA, 1992).

2.1.6.2 Desempeño Eléctrico

Para determinar el desempeño en las CCMs, se debe calcular la densidad de potencia (DP) de la energía generada (Rismani-Yazdy *et al.*, 2011) y la eficiencia coulombica (EC) (Luo *et al.*, 2010), lo cual implica medir el voltaje en la resistencia externa que conecta el ánodo y el cátodo así también calcular la corriente que se produce como consecuencia del flujo de electrones a través de un material conductor (Borole *et al.*, 2009). Este parámetro está influenciado directamente por diversos factores como la arquitectura de construcción, distancia entre electrodos, tipo de membrana, material del ánodo y el cátodo, características de conductividad del sustrato orgánico (Revelo *et al.*, 2013).

La corriente se calcula empleando la ley de Ohm (Ecuación 3) que dice: la corriente que circula por un circuito depende tanto de la fuente de alimentación (voltaje), como de la resistencia del circuito y se los relaciona mediante la siguiente ecuación (Vega y Fernandez 1987):

$$V = I \times R \quad (3)$$

Donde V es el potencial que produce la corriente eléctrica, I es la corriente eléctrica que pasa por el conductor y R es una propiedad del material que se conoce como resistencia eléctrica.

2.1.6.2.1 Densidad de Potencia (DP)

La DP (Ecu 4) expresada como la potencia por unidad de área del ánodo (Wang *et al.*, 2010), se calcula de la siguiente manera:

$$P = \frac{I \cdot V}{A} = \frac{A \cdot V}{m^2} = \frac{W}{m^2} \quad (4)$$

Donde, I es la corriente en amperios, V es el potencial en voltios, A es el área de la superficie del ánodo en m².

2.1.6.2.2 Eficiencia Coulombica (EC)

La EC permite obtener la fracción de energía eléctrica generada en la CCM puesto que relaciona la cantidad de electrones transferidos desde el ánodo al cátodo (energía) con la cantidad de MO removida por los microorganismos a partir de 0,3L de solución anódica, el valor de la EC se deduce a través de la Ecuación 5, así (Luo *et al.*, 2010).

$$EC = 100\% \cdot \frac{\sum_{i=1}^n U_i t_i}{F b \Delta S V} M = 100\% \cdot \frac{EM}{F b \Delta S V} \quad (5)$$

Donde: EC se obtiene mediante la integración de la corriente en el transcurso del tiempo, F es la constante de Faraday, V (L) es el volumen dado por la CCM, ΔS (g/L) es la remoción de MO durante el ciclo, M es el peso molecular del oxígeno, b son las moles de electrones producidos por mol de DQO removido.

2.1.7 Células viables presentes en la biopelícula establecida sobre el ánodo.

La biopelícula se define como comunidades de microorganismos que crecen en una matriz de exopolisacáridos, carbohidratos complejos producidos por las bacterias y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo, la formación de biopelícula representa la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza (Burgos, 2012). Una biopelícula madura puede contener del orden de 10^{16} células por m^3 y la diversidad microbiológica va desde los virus hasta complejos organismos multicelulares con orgánulos especializados. Siendo las bacterias los organismos dominantes en la mayoría de las biopelículas (Rodríguez, 2013). El crecimiento, o maduración, de la biopelícula se ve influenciado por la falta de nutrientes, por factores de estrés hidrodinámico y mecánico o por la disminución de la quimiostaxis, causando deformación o desprendimiento de fragmentos de la biopelícula madura. Está erosión, incrementa la transferencia horizontal de genes (Andrade-Molinar, 2007).

Una célula Viable se define como aquella que es capaz de dividirse y dar lugar a una descendencia, el método usual para determinar las células viables se basa en contar el número de células de la muestra que es capaz de formar colonias sobre un medio sólido adecuado, denominado método de extensión en placa en el cual se vierte 0,1 mL sobre la superficie de la placa, la placa se incuba hasta que aparecen las colonias y se cuenta el número. Es importante que el número de colonias que aparezcan en la placa no sea grande porque algunas colonias se podrían fusionar dando estimaciones erróneas, también es importante que el número de colonias no sea demasiado bajo para que el cálculo sea estadísticamente significativo, el número de colonias por placa debe oscilar entre 30 y 300. Para obtener un número apropiado de colonias casi siempre se deben realizar diluciones a la muestra (Madigan, Martincó & Parker, 2004).

2.2 ESTADO DEL ARTE

En 1910 Potter dio el concepto de CCMs produciendo energía eléctrica a partir de cultivos vivos tanto de *Escherichiacoli* como de *Saccharomyces* usando electrodos de platino (Ieropoulos, 2005a), desde ese entonces hasta la fecha se vienen desarrollando diversas investigaciones con el propósito de incrementar la energía producida en las CCMs.

Las CCMs son más eficientes en la eliminación de MO, que en la generación de electricidad por esa razón las celdas a futuro se proyectan para el tratamiento de aguas residuales naturales con alta cantidad de MO provenientes de diferentes actividades industriales, la cual es altamente destructiva para el ecosistema, al favorecer el desarrollo de los microorganismos anaerobios que ocasiona la muerte de animales y plantas acuáticos (ref), que son fuente de alimento e ingresos para el ser humano (ref). Por tanto se necesita buscar métodos que disminuyan la presencia de MO en el medio ambiente.

La salida de corriente y el potencial obtenido en una CCM depende en gran parte de los diferentes sustratos empleados como fuente de carbono (para fomentar el crecimiento de la colonia), diversos investigadores han realizado ensayos empleando sustratos de composición química definida con el propósito de optimizar las condiciones de funcionamiento de estos dispositivos y en estos estudios se muestran también otros factores que inciden en la eficiencia, entre los que se mencionan el tipo y la concentración del sustrato, el separador, el inóculo, y el material y distancia entre electrodos (Ríos, 2006).

Así por ejemplo Venkata *et al.* (2009) empleando una CCM de cátodo aireado informaron que la concentración de sustrato influencia significativamente la generación de energía, ya que es la fuente de carbono (donantes de electrones) para la actividad metabólica en los microorganismos, al evidenciar que la celda con el agua que contiene mucha MO fue capaz de generar una mayor producción de energía.

Diferentes investigadores han utilizado las CCMs como método biológico (oxidación de la MO) para reducir de manera eficiente la presencia de MO en las aguas residuales, que genera consecuentemente electricidad, así por ejemplo, Juang *et al.*, (2011) empleando diferentes especies bacterianas como: *Pseudomonas putida*, *Comamonas testosteroni*, *Corynebacterium glutamicum*, y *polychromogenes Arthrobacter*, evaluaron y compararon los factores (tipo de especies microbianas, carga orgánica, y la tasa de degradación del sustrato) que afectan la capacidad de las CCMs en la disminución de la MO y la generación de energía. Encontrando que la potencia de salida aumenta con la carga orgánica, la densidad de potencia también aumentó con la velocidad de degradación del sustrato.

Otros investigadores como Heilmann y Logan, (2006) han realizado experimentos con aguas residuales naturales puesto que en CCMs de cátodo aireado utilizando sustratos como peptona y aguas residuales del procesamiento de la carne la cual contiene gran variedad de aminoácidos y proteínas, encontraron que se produce un menor potencial que si se usa un solo compuesto como la albúmina de suero bovino, teniendo en cuenta estas evidencias experimentales se presume que otro factor relacionado con la salida de corriente y potencia en las CCMs es la complejidad del sustrato empleado.

Recientemente El-Chakhtoura *et al.* (2014) con CCMs de cátodo aireado empleando fracciones orgánicas de residuos sólidos municipales e inoculando con lodos de aguas residuales o el estiércol de ganado, obtuvieron en la CCM con aguas residuales 116 ± 29 mW/m² en DP y $23 \pm 2\%$ en EC y en las CCMs con estiércol una DP_{máx} de 123 ± 41 mW/m² con una EC que oscilo entre $24 \pm 5\%$ y donde la eliminación de la DQO era mayor del 86% en todas las CCMs.

Muchos otros investigadores con el propósito de incrementar el potencial generado en las CCMs, han realizado estudios con sustratos simples e igualmente reportan la dependencia en este factor del tipo de sustrato y concentración así por ejemplo Oh y Logan, (2005) emplearon CCMs de cátodo aireado y en ellas como sustratos glucosa y lactosa obtuvieron una máxima DP igual a 15.2 mW/m² con EC igual a 28% para la glucosa y 17.2 mW/m² con EC igual a 22% para lactosa.

En un estudio realizado por Chae *et al.* (2009), la CCM alimentada con glucosa generó la CE más baja en comparación con otras celdas con: acetato, butirato y propionato, como resultado de la pérdida de electrones por la presencia de bacterias competitivas, sin embargo reporto que este sustrato es el que favorece el crecimiento de una diversa estructura bacteriana esto hizo que se degrade mayor MO y como resultado haya una rápida generación de corriente logrando una PD alta, como sucedió en esta investigación.

Empleando una CCM de doble cámara durante más de 1,5 años de forma continua Chung *et al.* (2009) evaluaron la producción de energía empleando aguas residuales artificiales con glucosa, lograron una DP estable de 28 W/m^3 eliminando aproximadamente 85% de carbono orgánico disuelto y una EC alrededor del 46%. Igualmente años más tarde Ishii *et al.* (2012) con CCMs alimentadas con acetato operadas a modo fed-bach y con lodos de un digestor anaeróbico observo mejores resultados en la generación de electricidad con el incremento del tiempo alcanzando una DP máxima de $1,12 \text{ mA/cm}^2$.

Con diseños similares a una CCM típica como las que se muestran en la Figura 1, Cirik, (2014) estudió la producción de bioelectricidad empleando una CCM con UltrexTM CMI7000 como membrana, a modo batch bajo diferentes condiciones de operación, inicialmente para investigar la influencia de los materiales de los electrodos utilizaron electrodos de platino (Pt) y óxido de titanio metálico mixto (Ti-TiO₂) reportando este último como el más eficiente y para examinar el efecto de la concentración y el tiempo del ciclo en el rendimiento de las CCMs emplearon glucosa a diferentes concentraciones y periodos del ciclo, encontrando una DP alrededor de 7205 mW/m^2 y una disminución de MO máxima de $90 \pm 3\%$.

Así también diversos investigadores han empleado agua residual natural como es el caso de Antonopoulou *et al.* (2010), quienes usando glucosa y lactosa para la aclimatación microbiana en el ánodo estudiaron la posibilidad de generar electricidad del suero de queso diluido en una CCM de doble cámara sin mediador, obtuvieron una DP_{máx} usando suero de queso diluido de 18.4 mW/m^2 (con una área del ánodo igual a 13.8 cm^2), donde la EC fue muy baja (sólo 1.9%).

Hu, (2008) evaluó la viabilidad de lodo anaeróbico como combustible para la generación de electricidad en la CCMs y la comparó con la glucosa. En el primer caso añadió una pequeña cantidad de sustrato y obtuvo una potencia de ($0,3 \text{ mW/m}^2$). Sin embargo, con la glucosa en el mismo sistema, se generó una potencia máxima de 161 mW/m^2 .

Entre las mayores potencia reportadas hasta ahora se encuentra el experimento realizado por Nevin *et al.* (2008) quienes obtuvieron $2,15 \text{ kW/m}^3$ volumen del ánodo utilizando la especie *Geobacter sulfurreducens* activada en acetato y Xing *et al.* (2008) los cuales empleando una nueva cepa anódica *Rhodopseudomonas palustris* DX-1, aislada de una CCM lograron producir una potencia de salida igual a 2720 mW/m^2 mayor que con otros cultivos mixtos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES Y EQUIPOS

3.1.1 CONFIGURACIÓN DE LA CCM

Las CCMs que se utilizaron fueron diseñadas por el Grupo de Investigación BEQ y construidas en acrílico cada celda consta de dos cámaras llamadas anódica y catódica, con un volumen de 343 cm^3 cada una, estas cámaras están separadas por una cavidad que tiene un volumen de 39.2 cm^3 , lugar en el que se introdujo un puente salino constituido por agar y cloruro de potasio al 1.5%. En la cámara anódica se introdujo un electrodo de grafito (ánodo) con área de $15,39 \text{ cm}^2$ extendiéndolo con un lecho de grafito con área de $39,6 \text{ cm}^2$, en la cámara catódica se introdujo un electrodo de grafito (cátodo) con área de $4,40 \text{ cm}^2$ (Figura 2). Los electrodos se conectaron a una resistencia externa por medio de un alambre conductor eléctrico, el valor de las resistencias fue 514, 520, 528, 549, 550, 554 y 555 Ω .

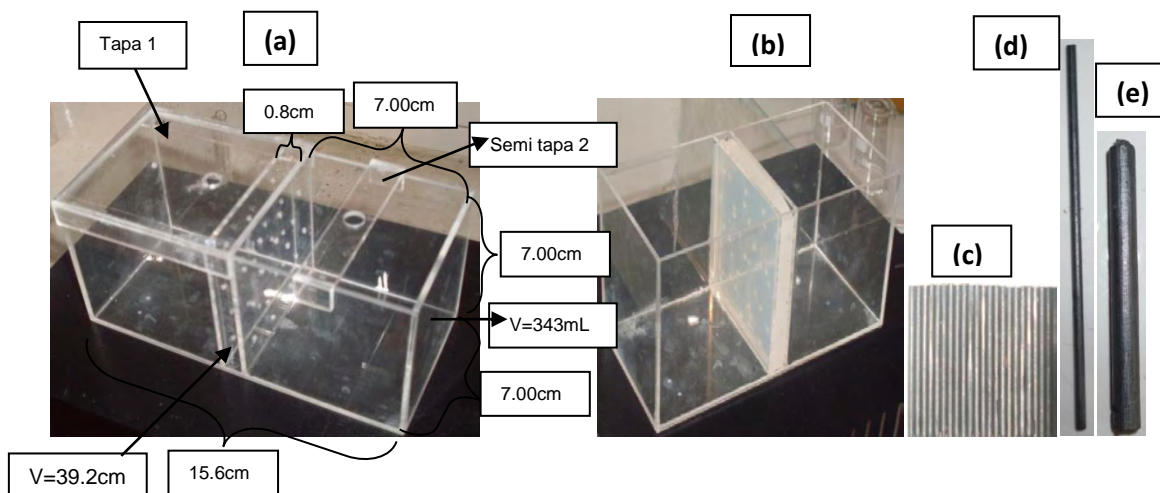


Figura 2.CCM de doble cámara. (a) Diseño del grupo de investigación en Bioelectroquímica (BEQ) de la Universidad de Nariño, **(b)** Puente salino Agar-KCl, **(c)** Lecho de grafito; **(d)** cátodo; **(e)** ánodo.

Fuente: Esta investigación

3.1.2 SOLUCIÓN DE LA CÁMARA ANÓDICA

El agua residual sintética (ARS), formada por macronutrientes y micronutrientes, según lo descrito por Cha *et al.* (2010), se modificó en la fuente de carbono acetato de sodio, glucosa o lactosa a la concentración de 0,05M, 0,1M ó 0,25M (Tabla 2). La

solución presente en la cámara anódica estaba constituida por el 90% de ARS y 10% de lodo anaeróbico extraído del RSA.

Tabla 2. Composición de aguas residuales sintéticas (Cha *et al.*, 2010). Fuente, esta investigación

Macronutrientes (g/L)		Micronutrientes mg/L - únicamente (1mL por L preparado)				Sustrato (g)	
KH ₂ PO ₄	8.2	CaCl ₂ .6H ₂ O	130	FeCl ₃	1000	Acetato	2,0548*
						de Sodio	4,1097** 10,2742***
K ₂ HPO ₄	7.0	H ₃ BO ₃	6	ZnCl ₂	70	Glucosa	2,7024* 5,4048** 13,512***
						Lactosa	5,4048* 10,8096** 27,024***
NH ₄ Cl	0.1	CuCl ₂	2	MnSO ₄ -H ₂ O	100		
NaHCO ₃	0.2	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	206	CoCl ₂	238		
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.01	NiCl ₂	24	AlCl ₃	50		

* 0.05 mol/L
 ** 0.1 mol/L
 ***0.25 mol/L

Fuente: Adaptado de Cha *et al.*, 2010.

3.1.3 SOLUCIÓN DE LA CÁMARA CATÓDICA

En la cámara catódica se empleó una solución buffer fosfato con una concentración de 0.05M y pH 7.0 (Kim *et al.*, 2010), en ella se proporcionó aire a través de un aireador SR-7500 doble boca, el caudal del aire se controló mediante una llave T.

3.1.4 INÓCULO MICROBIANO PARA LA SOLUCIÓN ANÓDICA

El inóculo que se utilizó en la cámara anódica de las CCMs fue lodo anaerobio proveniente de la laguna de igualación del Relleno Sanitario Antanas (RSA) ubicado a 13 kilómetros de la ciudad de Pasto, sobre la variante Daza-Buesaco, en la vereda Josefina corregimiento de Morasurco (Figura 3). De la laguna de Igualación se tomaron muestras de 1 L que se colocaron en recipientes plásticos nuevos, las muestras se trasladaron a los laboratorios de la Universidad de Nariño donde se conservaron en nevera a una temperatura de 4°C para uso posterior; a una muestra de estos lodos se les realizó un análisis fisicoquímico en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, que consistió en la determinación de pH, conductividad, sólidos totales, sólidos suspendidos, sólidos suspendidos volátiles, fosfatos, nitritos, nitratos, sulfatos, Demanda Bioquímica de Oxígeno, DBO, DOQ, (Anexo 1). Cada cámara anódica fue inoculada al 10% con lodos anaerobios.



Figura 3. Laguna de igualación RSA recolección de lodo anaerobio

Fuente: Grupo de investigación BEQ.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental se ajustó al **Diseño factorial a tres niveles (3^k)** del tipo 3^3 en el cual se estudian tres factores: ciclo (A), concentración (B) y sustrato(C), cada uno con 3 niveles, A (tres ciclos de operación), B (tres diferentes concentraciones: 0.05 M, 0.1 M y 0.25 M) y C (acetato, glucosa y lactosa) (Montgomery, 2008), para ello se utilizó 9 celdas las cuales se operaron a modo *batch*, por lo tanto las observaciones que se realizaron en el experimento son 27, la representación de los datos se aprecia en la Tabla 4.

Para representar los niveles de los factores se utilizaron dígitos con el propósito de facilitar la interpretación de los efectos, para el factor ciclos: el ciclo 1 el nivel inferior (-1), ciclo 2 (0) y ciclo 3 nivel superior (1), para el factor concentración: 0.05 M (-1), 0.1M (0) y 0.25M (1) y para sustratos: acetato (-1), glucosa (0) y lactosa (1) cada combinación de tratamientos del diseño $3^3 = 27$ se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Diseño factorial 3^3

Factor	-1	0	1
Sustrato	Acetato	Glucosa	Lactosa
Concentración (M)	0,05	0,1	0,25
Ciclo	1	2	3

Esta tabla muestra la combinación de los niveles de los 3 factores.

Tabla 4. Diseño experimental combinaciones de efectos en el diseño 3³

Bloque	Ciclo (A)	Concentración (B)	Sustrato (C)
1	-1	-1	-1
1	0	-1	-1
1	1	-1	-1
1	-1	0	-1
1	0	0	-1
1	1	0	-1
1	-1	1	-1
1	0	1	-1
1	1	1	-1
1	-1	-1	0
1	0	-1	0
1	1	-1	0
1	-1	0	0
1	0	0	0
1	1	0	0
1	-1	1	0
1	0	1	0
1	1	1	0
1	-1	-1	1
1	0	-1	1
1	1	-1	1
1	-1	0	1
1	0	0	1
1	1	0	1
1	-1	1	1
1	0	1	1
1	1	1	1

Fuente: esta investigación

3.3 MÉTODOS

3.3.1 ACLIMATACIÓN Y FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA EN EL ELECTRODO Y LECHO

Todos los electrodos y lechos de grafito fueron aclimatados por un periodo de 1 año y 2 meses para promover el crecimiento de diversas comunidades microbianas sobre la superficie del grafito, adaptando los microorganismos al consumo de cada sustrato evaluado en este experimento, para ello se introdujo en la cámara anódica un lecho de grafito, el ánodo de grafito, 30 mL de inóculo (lodo anaerobio) y 270 mL del ARS, durante los primeros siete meses cada dos semanas se retiraba 10 mL de la solución presente en la cámara anódica para alimentar la CCM con 10 mL de solución fresca (Figura 4a).

Para mantener la biopelícula formada inicialmente, durante los siguientes 7 meses del periodo de aclimatación, se utilizaron beakers de 400 mL, a estos recipientes se transfirió la solución de la cámara anódica utilizada en las celdas, cada mes se

extraían 100 mL de la solución usada y posteriormente se suplementaban con solución fresca (Figura 4b). Una vez culminado este periodo de aclimatación se emplearon los electrodos y lechos de grafito en cada experimento según el diseño experimental propuesto.

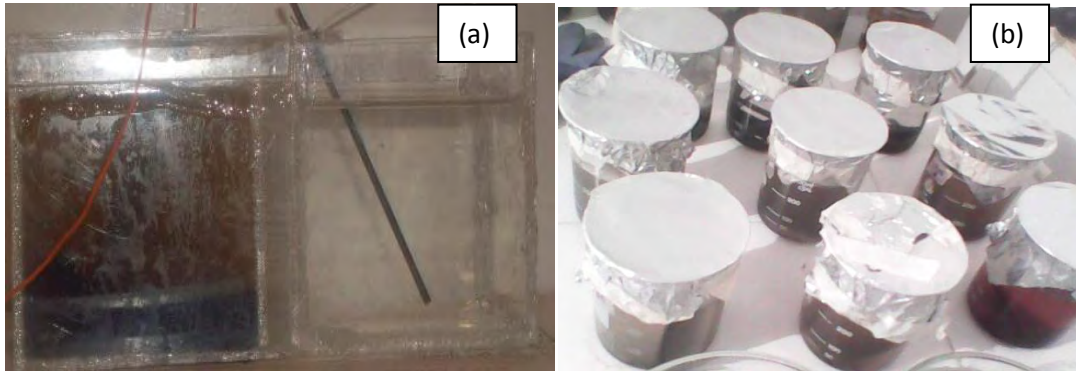


Figura 4. Aclimatación y formación de biopelícula.

Fuente: esta investigación

3.3.2 OPERACIÓN DE LA CCM

La cámara anódica de cada celda contuvo el ARS, el inóculo, el electrodo y el lecho de grafito con sus respectivas biopelículas, se selló herméticamente con silicona. En la cámara catódica se introdujo la solución buffer y el electrodo, finalmente los cables de los electrodos se conectaron en circuito abierto al sistema de adquisición de datos, hasta evidenciar estabilidad en el voltaje generado por las CCMs, la estabilidad en el voltaje por 12 horas indico el momento de conectar los cables en circuito cerrado empleando resistencias de aproximadamente 500 Ω para así con el monitoreo de voltaje generado en cada CCM calcular la corriente (Figura 5).

La CCM se operó a modo batch en 3 ciclos, este proceso consistió en la adición de sustrato solo al dar inicio el ciclo de la celda, ciclo que se finalizaba al observar un voltaje de 0,003 V, En la CCM que se finalizaba un ciclo se desechó todas las soluciones y únicamente se reservó los electrodos con el lecho de grafito, para emplearlos en el siguiente ciclo con el mismo sustrato e igual concentración, esto se realizó hasta completar tres ciclos en cada una de las tres concentraciones estudiadas.



Figura 5. (a) Operación de CCM, (b) Monitoreo de CCMs Registro de voltaje multímetros fluker, (c) Registro voltaje sistema SAD

Fuente: esta investigación

3.3.3 PARÁMETROS ANÁLITICOS

3.3.3.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

El método DQO se utilizó para medir la cantidad de MO presente en las soluciones al iniciar y finalizar cada ciclo (Franks et al; 2010). En este proceso la muestra se somete a digestión durante 2 horas a 150°C, el ion dicromato presente en la solución oxida la MO de la muestra y posteriormente se relaciona la cantidad de MO con la cantidad de oxidante remanente. Para ello se preparó dos soluciones; denominadas como *oxidante* y *catalizadora*.

Solución oxidante: Se adicionaron 10,216 g de $K_2Cr_2O_7$ previamente secado a 103°C durante dos horas, en 500 mL de agua destilada, que se mezclaron con una solución que contiene 33,33 g de $HgSO_4$ en 167 mL de H_2SO_4 concentrado, finalmente se aforo esta solución a 1 L con H_2O .

Solución catalizadora: la cual contenía 5,5 g de Ag_2SO_4 y 566,123 mL de H_2SO_4 concentrado; para la disolución completa del sulfato de plata se requiere 1 día, después se empleó esta solución en la DQO.

En la determinación del material orgánico fue necesario realizar una curva de calibración, para ello se preparó una solución patrón de 1000 ppm, con biftalato ácido de potasio previamente seco por dos horas a 120 °C, a partir de esta solución se prepararon 5 diluciones con una concentración de 100, 300, 500, 700 y 900 ppm. en los tubos de digestión se adicionaron 3,5 mL de solución catalizadora, 1,5 mL de solución oxidante y 2,5 mL de las diluciones, posteriormente se realizó la digestión en el termoreactor a 150 °C durante 2 horas, una vez fría la solución de los tubos digestores se leyó la absorbancia del ion crómico (Cr^{3+}) en el espectrofotómetro a 600 nm. Con estos resultados obtenidos por triplicado se construyó la curva de calibración graficando los equivalentes de DQO versus las absorbancias.

De la solución presente en la cámara anódica al inicio y final del ciclo se extrajo una muestra de 5 mL, de los cuales se tomó 1 mL para diluirlo en 99 mL de H_2O , así, al realizar el proceso de digestión se adicionó 2,5 mL de la dilución y al final el valor de

DQO se multiplica por 100; la absorbancia remplazada en la ecuación de regresión lineal obtenida a partir de la curva de calibración realizada en el rango de 100 a 1000 ppm (Figura 7), me da la concentración de MO presente en mi muestra, la ecuación de regresión lineal que se empleó en el cálculo de la DQO es (Ecu 6):

$$DQO(mgO_2/L) = \frac{Abs-b}{m} \quad (6)$$

Donde

m = es la pendiente de ecuación

b = es el intercepto

DQO = es la concentración de MO

Abs = es la Absorbancia leída en el espectrofotómetro

Este método permitió calcular el porcentaje de remoción en cada CCM, con el cálculo de la MO al inicial y final del ciclo (Ecu 7) y así encontrar el sustrato, concentración y ciclo con el que se puede obtener mejores resultados, al emplear el lodo del RSA en la descontaminación de aguas residuales, el método empleado en las mediciones de DQO esta estandarizado por los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño.

$$\%DQO \text{ de remoción de MO} = \frac{((DQO_i - DQO_f))}{DQO_i} \times 100 \quad (7)$$

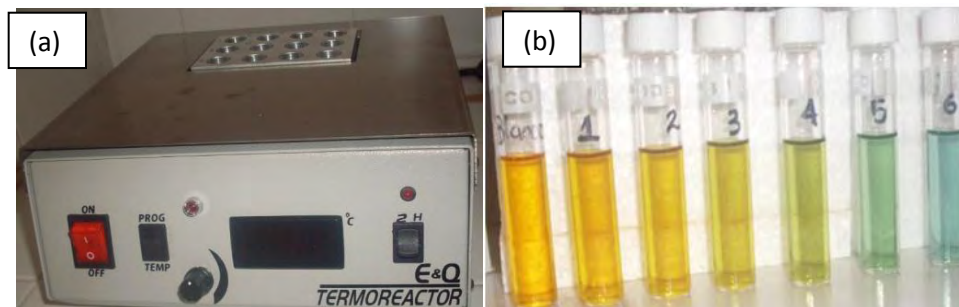


Figura 7. (a)Termoreactor E&Q; (b) Soluciones de la curva de calibración.

Fuente: esta investigación

3.3.4 MEDICIÓN DE VOLTAJE

El registro de voltaje se realizó inicialmente a través de multímetros marca Fluker y posteriormente a través del Sistema de Adquisición de Datos, SAD, desarrollado por el grupo BEQ, este proceso de monitoreo se realizó durante el día y la noche, el voltaje generado en cada una de las celdas se registró inicialmente a través de fotografías utilizando una cámara web y posteriormente empleando el sistema SAD, el cual consiste de un sistema electrónico conformado por un amplificador de voltaje, un subsistema de procesamiento digital de señales que envía los datos obtenidos hacia un computador donde son almacenados de forma periódica y programada (Revelo *et al.*, 2013) cada 10 min, con esta información se construyeron las gráficas de Voltaje (V) versus tiempo (t).

3.3.4.1 Densidad de Potencia (DP)

Para el cálculo de la DP se tuvo en cuenta únicamente los voltajes más altos obtenidos en cada unidad experimental a lo largo de cada ciclo, para lo cual fue necesario tomar como referencia el voltaje generado por las CCMs al momento de cerrar el circuito y el máximo valor de voltaje, $V_{m\acute{a}x}$, generado durante el ciclo.

3.3.4.2 Eficiencia Coulómbica (EC)

La CE se calculó, a partir de la cantidad real de carga (electrones) generada en la CCM, determinada por el área bajo la curva formada al graficar la corriente en función del tiempo (Anexo 2) y la remoción de MO durante los ciclos empleando la Ecuación 5 descrita en el marco teórico.

3.2.5 CONTEO DE CÉLULAS VIABLES A PARTIR DE LAS BIOPELÍCULAS DE LOS ÁNODOS

Se realizó un lavado a los ánodos con solución salina 0.85% y con ayuda de un bisturí esterilizado se extrajo la biopelícula (Holmes *et al.*, 2004; Cristiani *et al.*, 2012). La biopelícula más grafito obtenidas del ánodo fueron suspendidas en 1,5 mL de buffer fosfato salino pH 7 contenidos en tubos de microcentrifuga previamente esterilizados (Holmes *et al.*, 2004; Tandunkar *et al.*, 2009). Con un mililitro de esta suspensión se prepararon diluciones seriadas en solución salina 0.85% hasta 10^{-7} y se hizo siembra en placa por triplicado empleando como medio de cultivo ARS (Cha *et al.*, 2010) solidificado en Agar (10 g/L). Los cultivos se incubaron a temperatura ambiente y en cámaras de anaerobiosis durante ocho días. El recuento de las colonias bacterianas se realizó a partir de cada réplica de la dilución.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS DE LA ARQUITECTURA DE LAS CCMs EMPLEADAS EN ESTA INVESTIGACIÓN

En esta investigación se emplearon CCMs de doble cámara con cátodo aireado diseñadas por el grupo BEQ y construidas en acrílico (Figura 2), en ellas se empleó puente salino como separador y electrodos de grafito más un circuito externo para la transferencia de electrones, las celdas fueron operadas a temperatura ambiente y permitieron cumplir con los objetivos propuestos en esta investigación: remoción de MO y generación de electricidad, a pesar de ser celdas construidas con materiales económicos y con un diseño básico a escala de laboratorio.

Por ejemplo el puente salino (agar con KCl 1.5%) empleado como separador físico entre las cámaras anódica y catódica, juega un papel importante para mantener el contacto eléctrico entre ellas (Li *et al.*, 2010), sin embargo, incide en mayores periodos de generación de electricidad comparado con la MIP, la cual ha sido reportada por diferentes investigadores como más eficiente en la generación de electricidad (Liu y Li, 2007).

Cabe resaltar que en los ciclos más largos del experimento (glucosa 0,1M tercer ciclo, 0,25M primer y tercer ciclo y lactosa 0,1M tercer ciclo) en las CCMs se observó la formación de una capa café sobre el cátodo que se podría semejar a una biopelícula, lo cual ya había sido reportado por Liu y Logan (2004), quienes encontraron crecimiento bacteriano en el electrodo de la cámara catódica aireada empleando MIP, estos autores concluyeron que eso disminuyó su EC por eso se recomienda hacer estudios a esa capa en futuras investigaciones.

Como electrodos en las celdas se emplearon barras de grafito, los cuales permitieron el flujo de electrones desde el ánodo hacia el cátodo generando un voltaje sobre la resistencia externa como se mostrara más adelante en la Tabla 3. En la cámara anódica de esta investigación, se empleó un electrodo con un área de $15,39 \text{ cm}^2$, más un lecho de grafito con área de $39,6 \text{ cm}^2$, este último con el fin de incrementar el área de recepción de electrones y así conducir una mayor cantidad de éstos hacia la cámara catódica, tomando como referencia lo expuesto por Di *et al.* (2009) quienes incrementando el área de los electrodos expuesta a las bacterias observaron un aumento de la densidad de potencia (DP) generada en las celdas.

En este trabajo se encontró que al emplear ánodo y cátodo de la misma área ($15,39 \text{ cm}^2$) en las cámaras de las CCMs, el voltaje generado fue menor en comparación, al voltaje producido cuando se utilizó cátodos de área menor ($4,40 \text{ cm}^2$), ya que se obtuvo un incremento significativo en la producción de electricidad; esto en analogía con Oh *et al.* (2004); Oh y Logan (2006), quienes expresan que las diferentes áreas de la superficie de cátodo tenían sólo un pequeño efecto sobre la resistencia interna y la potencia de salida. Se cree que este resultado se podría explicar teniendo en cuenta la fuerza motriz de las celdas, creada por la diferencia de potencia entre las cámaras la cual promueve el flujo de electrones hacia el cátodo por lo tanto, se puede

decir que la cantidad de electrones presentes en el ánodo en un tiempo determinado, debe salir por el cátodo, en el cual la menor área incrementa la velocidad de salida de los electrones para reducir al oxígeno en el cátodo y esto se refleja en el incremento de corriente en las CCMs, adicionalmente la calidad del grafito pudo influir de forma positiva la generación de voltaje.

En la CCM empleada en esta investigación la distancia entre electrodos se estableció en 5 cm de acuerdo al diseño. Es importante considerar la distancia entre electrodos ya que se ha establecido que al estar un electrodo cerca del otro se crea un campo magnético de la misma forma que lo hace un condensador incrementando la generación de electricidad (Rabaey y Verstraete, 2005), Sharma y li (2010b) encontraron que a menor distancia entre electrodos se redujo la R_{in} y se incrementó el voltaje en un 20 % cuando emplearon una celda con glucosa.

En esta investigación se demostró que las propiedades químicas y estructurales del grafito permitieron el crecimiento microbiano en su superficie (Figura 8, Anexo 1) posiblemente debido a su estructura porosa Cha *et al.* (2010), otros investigadores Ordoñez, A y Pabón, V. (2014), lograron caracterizar diversas comunidades microbianas a partir de la biopelícula establecida sobre la superficie del cátodo (grafito). Chae *et al.* (2009) encontraron que las bacterias pueden establecer un mecanismo de vida simbiótico con el electrodo, puesto que el grafito recibe los electrones provenientes del metabolismo microbiano, de la misma forma como lo hace el oxígeno en los organismos aerobios. Además es importante resaltar que el grafito es de fácil accesibilidad debido a su bajo costo y se puede definir una área para el crecimiento de diversos microorganismos (Benetton *et al.*, 2010).

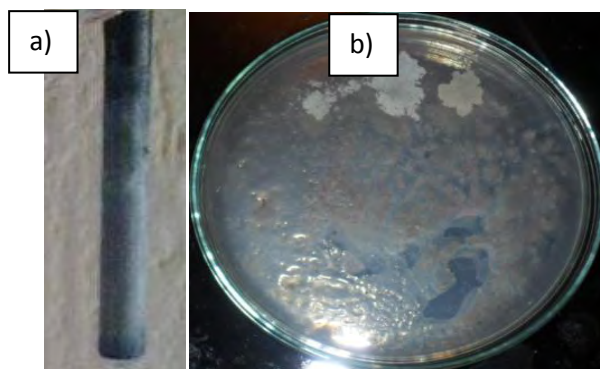


Figura 8. a) Biopelícula establecida en ánodos de grafito en CCMs al final del experimento, b) algunas colonias microbianas procedentes de la biopelícula de los ánodos.

Fuente: Esta investigación.

4.2 ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE LAS SOLUCIONES ANÓDICA (AGUA RESIDUAL SINTÉTICA-ARS) Y CATÓDICA

En este trabajo se empleó ARS (Cha *et al.*, 2010), en la cual se simula la carga orgánica con diferentes tipos de sustratos (acetato, glucosa y lactosa) y concentraciones

(0,05M, 0,1M y 0,25M), aspectos que tienen influencia sobre la remoción de MO y la generación de electricidad en una CCM (Kim *et al.*, (2007). Además la ARS contiene otros nutrientes que permiten el crecimiento de los microorganismos y desarrollo de una biopelícula sobre el ánodo; en esta ARS el pH se mantiene controlado por las sales de fosfato que constituyen una solución buffer favorable para el crecimiento bacteriano (He *et al.*, 2006).

Otro componente importante en el ARS fue el inóculo correspondiente a lodos anaerobios de la laguna de Igualación, del cual provienen las bacterias para la formación de la biopelícula sobre el ánodo pero además según lo demostró el análisis fisicoquímico realizado al lodo, este hace un aporte aproximado de 8% de MO, incluido en el análisis de la DQO realizado al inicio y al final de cada ciclo (Anexo 1).

La composición de la solución catódica (Kim *et al.*, 2010) permitió un adecuado funcionamiento de la celda como se demuestra con los resultados presentados más adelante en esta investigación.

4.3 CONTEO DE COLONIAS MICROBIANAS CULTIVADAS A PARTIR DE LAS BIOPELÍCULAS DE LOS ÁNODOS

Para la mayoría de los casos no fue posible realizar un recuento de colonias en el rango establecido en la literatura (30-300 colonias) (Madigan *et al.*, 2004) (Anexo 3, Tablas 1-9) por lo tanto, no fue posible calcular las unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) (Madigan *et al.*, 2004) y determinar el número de células totales viables presentes en la biopelícula. Además se observó el crecimiento extendido de varias colonias que pudo sobrelapar a otras, de esta forma se recomienda para futuras investigaciones considerar las diferentes condiciones requeridas para el cultivo de bacterias anaerobias que incluyen medios de cultivo, tiempo, temperatura de incubación, entre otros (Madigan *et al.*, 2004).

En esta investigación se obtuvo información relacionada con diferentes colonias microbianas según las características macroscópicas que exhibieron (Anexo 3, Tabla 10). En general se pudo observar que dependiendo del sustrato y su concentración se presentan diferentes colonias microbianas (Anexo 3, Tabla 11). Cabe resaltar que las colonias 1 y 2 fueron comunes para todos los sustratos y concentraciones, por lo tanto, sería conveniente en futuros estudios identificar estos microorganismos, ya que pueden informar sobre su función en las CCMs, por ejemplo, Chae *et al.*, (2009) encontraron en las cámaras anódicas alimentadas con glucosa y acetato, bacterias aeróbicas o facultativas (*β -proteobacteria*) predominantes en todas las CCMs y esto fue explicado por una posible intrusión de oxígeno desde la cámara catódica hacia la cámara anódica.

Al evaluar las CCMs por sustrato se encontró mayor número de colonias diferenciadas en la biopelícula del ánodo presente en la CCM alimentada con glucosa 0,05M (13 colonias), seguido por las CCMs con acetato 0,05M y 0,25M (12 colonias) y finalmente las CCMs con lactosa 0,1M y 0,25M (10 colonias) (Anexo 2, Tabla 11). Es importante destacar que 8 colonias (3, 4, 8, 9, 10, 17, 19 y 24) únicamente se encontraron en la biopelícula de la celda con acetato y cuatro colonias (28, 29, 30 y 31)

en la celda con glucosa, indicando posiblemente que estos sustratos favorecieron la riqueza microbiana (Logan y Regan, 2006), lo cual pudo incidir positivamente en la EC y la remoción de MO (Anexo 3, Tabla 11), al respecto Kim *et al.*, (2007) demostraron que el tipo de sustrato influye en la diversidad de bacterias que colonizan el electrodo y por ende en el potencial generado en la celda.

Los efectos del sustrato y de la concentración sobre la riqueza de colonias microbianas se logró determinar estadísticamente (Tabla 4) concluyéndose que ninguno de estos factores influye significativamente ($p > 0.05$), sin embargo, en la Figura 9 se muestra que entre estos dos factores el tipo de sustrato es el que más influye en la riqueza de colonias microbianas siendo esta favorecida por el acetato.

Tabla 5. Análisis de Varianza para Riqueza.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Concentración	0,166667	1	0,166667	0,08	0,7921
B:sustrato	10,6667	1	10,6667	4,86	0,0696
Error total	13,1667	6	2,19444		
Total (corr.)	24,0	8			

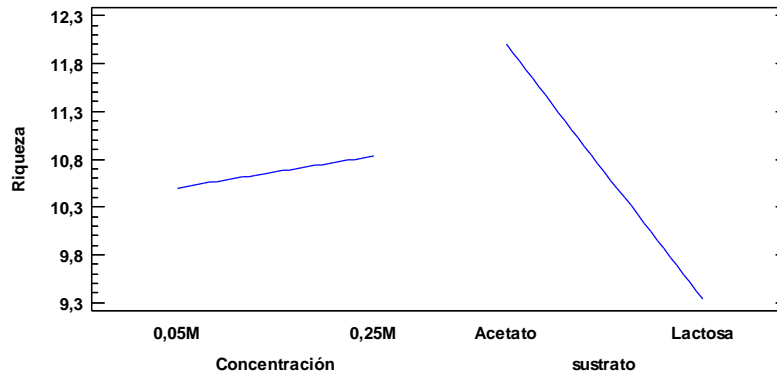


Figura 9. Factores que inciden en el establecimiento de colonias diferentes sobre los ánodos de las CCMs.

Fuente: Esta investigación.

En general a partir de todas las biopelículas formadas en nueve ánodos diferentes, se logró cultivar microorganismos provenientes de los lodos anaerobios, los cuales quizá están incidiendo de manera relevante en la remoción de MO y EC de cada celda; es conocido que entre los microorganismos de la biopelícula se establecen interacciones sinérgicas que incluyen mecanismos de transferencia de electrones aún en estudio y que solo un porcentaje pequeño de ellos son cultivables (Madigan *et al.*, 2004).

4.4 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO ELECTRICO EN LAS CCMs

4.4.1 Generación de voltaje en las CCMs de cátodo aireado

El voltaje medido en la resistencia externa de las CCMs se monitoreo cada 10 minutos utilizando como instrumentos de medición un multímetro y el SAD, en las Figuras 10–12 se grafican los voltajes (mV) generados en el tiempo (t) para cada sustrato en las diferentes concentraciones. Se observa que para la mayoría de los casos los voltajes máximos se obtienen al inicio de cada ciclo, como producto de la acumulación de electrones en el periodo de aclimatación antes de cerrar el circuito y luego se obtienen fluctuaciones del voltaje dependiendo principalmente del sustrato y de la compleja actividad microbiana (Heilmann y Logan, 2006).

En el primer ciclo del experimento al emplear diferentes sustratos a una concentración de 0,05M (Figura 10a), se observó que los tiempos de duración del ciclo son diferentes dependiendo del tipo de sustrato (Tabla 4), así mismo en el ciclo más largo se hubo mayor generación de voltaje, lo que implicó mayor liberación de electrones por parte de los microorganismos a partir de la glucosa reflejándose los más altos valores de DP (Tabla 4).

En el segundo ciclo (Figura 10b), se observó también que su duración depende del sustrato, sin embargo, en este caso, el ciclo más largo correspondió a lactosa y así mismo se obtuvieron los valores más altos de DP (Tabla 4), esto podría indicar que el tiempo de maduración de la biopelícula es diferente para cada sustrato, así en el segundo ciclo los microorganismos adaptados a la lactosa manifiestan su actividad metabólica en correspondencia a la generación de voltaje, otro aspecto a destacar es que las fluctuaciones de voltaje son más pronunciadas que en las curvas generadas por los otros sustratos.

En el tercer ciclo (Figura 10c), al igual que en los casos anteriores se observó que la duración del ciclo depende de los sustratos. En este caso el comportamiento de la glucosa indico una disminución paulatina en la generación de voltaje, lo cual señala la degradación microbiana del sustrato a lo largo de los tres ciclos. En la celda con lactosa se siguen presentando los voltajes más altos (Tabla 4) y fluctuaciones más pronunciadas, mientras que en la celda con acetato la generación de voltaje fue más baja y de menores fluctuaciones.

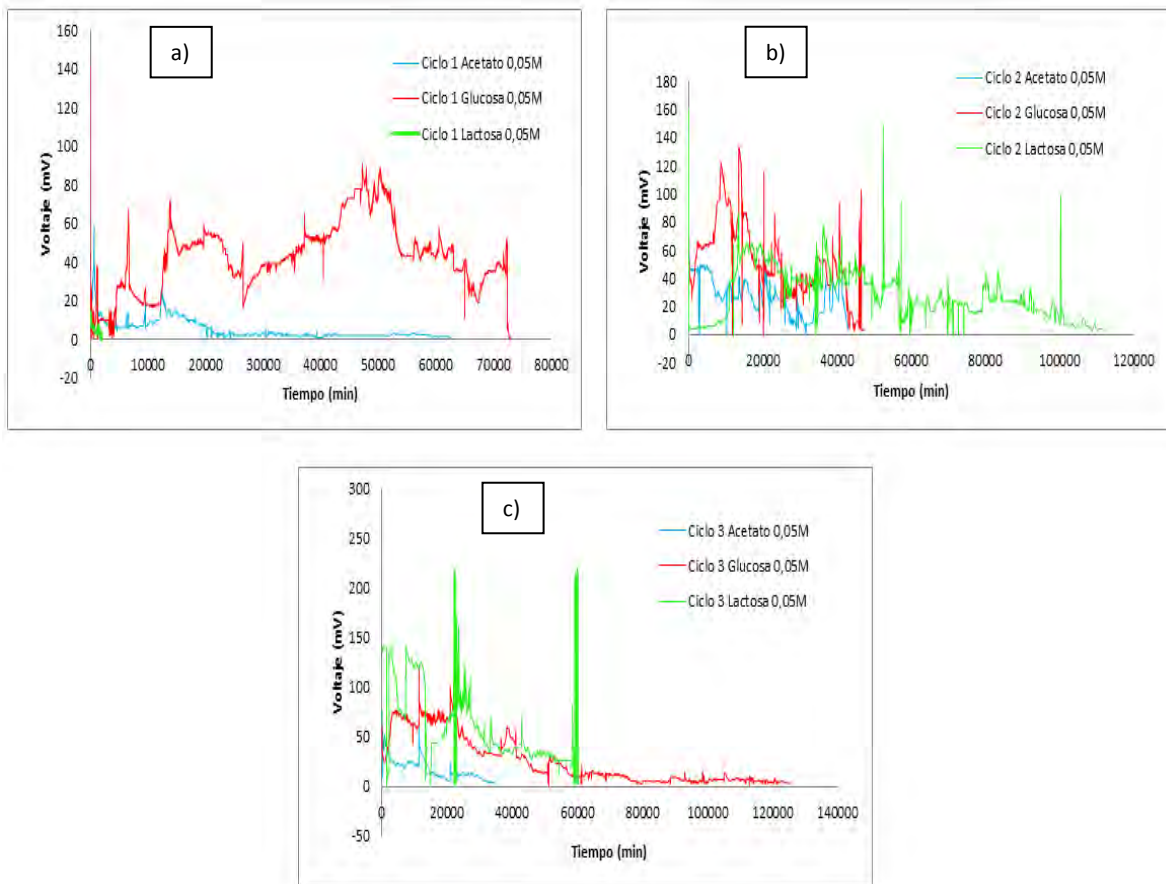


Figura 10. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos a 0,05M. a) Primer ciclo, b) segundo ciclo y c) tercer ciclo.

Fuente: esta investigación

Para la menor concentración de sustrato 0,05M, el tiempo de duración de cada ciclo estuvo influenciado por el tipo de sustrato y la generación de voltaje dependió posiblemente de la maduración de la biopelícula en cada sustrato, de esta forma con glucosa disminuyó a lo largo del tiempo obteniéndose en el primer ciclo un $V_{m\acute{a}x}$ y DP de 132,9 mV y 6,1768 mW/m² respectivamente, con lactosa los voltajes aumentaron en el tiempo, así, en el tercer ciclo se registró un $V_{m\acute{a}x}$ de 214,8 mV correspondiente a una DP de 16,3238 mW/m². Finalmente, con acetato se evidenció un incremento de voltaje en el segundo ciclo con un $V_{m\acute{a}x}$ 61,4 mV correspondiente a una DP de 1,3184 mW/m², se observó además una disminución del voltaje en el tercer ciclo, probablemente como consecuencia de la maduración de la biopelícula en el electrodo para el segundo ciclo, por lo tanto en este se obtuvo el $V_{m\acute{a}x}$.

Con la concentración de 0,1M (Figura 11a) se observó también que la duración del ciclo fue diferente para cada sustrato, pero no fue tan pronunciada como en las CCMs a 0,05M, lo cual demostró que a esta concentración la duración del ciclo fue menos dependiente del tipo de sustrato. Además los mayores voltajes y fluctuaciones se

obtuvieron con acetato, el sistema con glucosa por su parte mostró un voltaje más estable en el centro del ciclo, mientras que con lactosa se generaron menores voltajes (Tabla 4).

La duración del segundo ciclo (Figura 11b) para cada sustrato fue similar y en general las fluctuaciones de voltaje fueron menores, aunque se observó mayor generación de voltaje con la glucosa en comparación con los otros dos sustratos (Tabla 4), cabe resaltar que en este ciclo se obtuvo el valor más alto de DP ($147,36 \text{ mW/m}^2$) entre todas las CCMs examinadas en esta investigación, es decir en este ciclo los microorganismos electrógenos desarrollaron una alta actividad microbiana correspondiente a la generación de voltaje, lo cual puede estar directamente relacionado con la concentración en la cámara anódica (Cirik, 2014).

En el tercer ciclo (Figura 11c) se observó que la duración del mismo fue más largo para glucosa y lactosa (similares entre sí), mientras que para el acetato se obtuvo un ciclo corto; para todos los sustratos se presentaron mayores fluctuaciones de voltaje en comparación al anterior ciclo, generándose el mayor voltaje (412 mV) cuando se empleó lactosa.

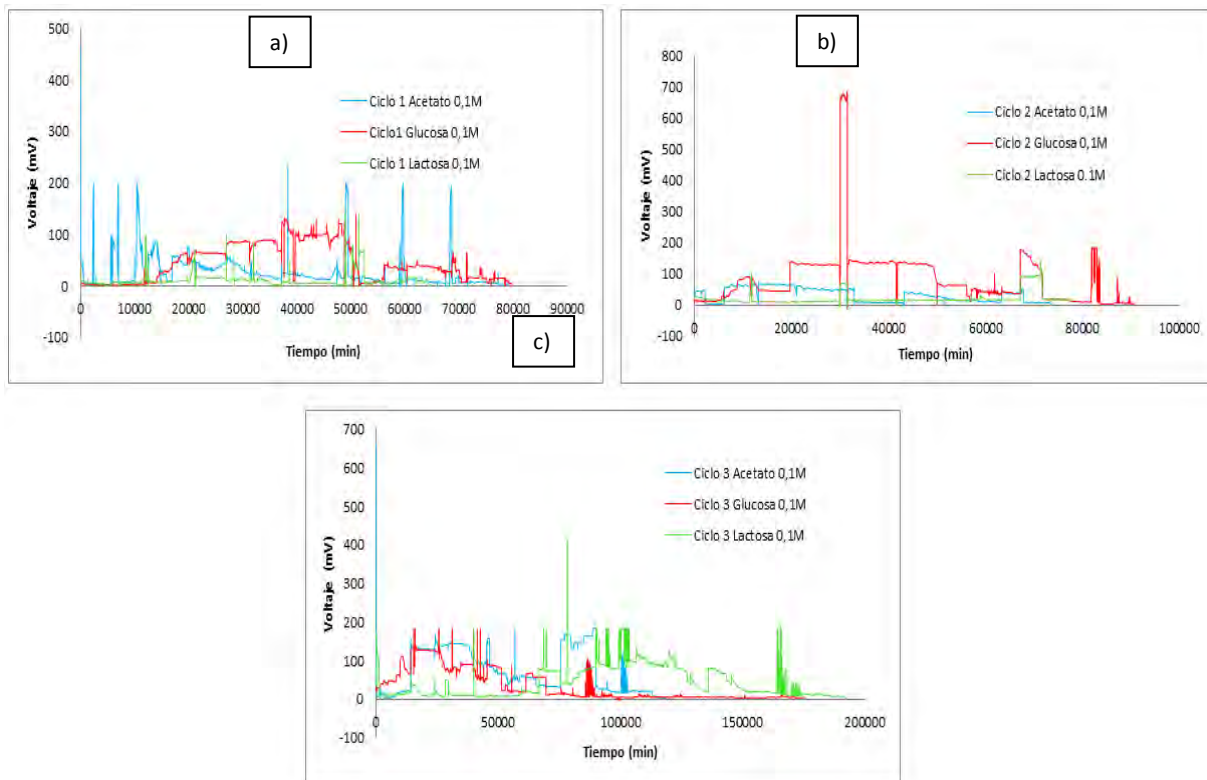


Figura 11. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos a 0,1M a) primer ciclo, b) segundo ciclo y c) tercer ciclo.

Fuente: Esta investigación

En la concentración de 0,1M no se vio mucha dependencia del ciclo con respecto al tipo de sustrato, al igual que a 0,05M la generación de voltaje dependió posiblemente a la maduración de la biopelícula durante los ciclos los cuales demostraron comportamientos totalmente independientes. En la CCM con lactosa los voltajes aumentaron en el tiempo por lo tanto para el tercer ciclo, se registró un $V_{m\acute{a}x}$ de 412 mV correspondiente a una DP de $56,2262 \text{ mW/m}^2$, con glucosa se evidenció un incremento de voltaje en el segundo ciclo ($V_{m\acute{a}x}$ 677 mV y $147,36 \text{ mW/m}^2$ en DP) y descenso de este en el tercero, lo que implicó un comportamiento semejante al del acetato a 0,05M.

Con acetato se observó un comportamiento contrario al de la glucosa, porque se generó un $V_{m\acute{a}x}$ 233,6 mV y una DP equivalente a $18,075 \text{ W/m}^2$ en el primer ciclo, en el segundo ciclo las condiciones en las CCMs probablemente no favorecieron el desarrollo de los electrógenos lo que disminuyó sustancialmente la producción de voltaje y para el tercero las condiciones en las que se llevaron a cabo el experimento nuevamente favoreció el desarrollo de estas especies en el electrodo por lo que se incrementa el voltaje.

En la concentración 0,25M durante el primer ciclo (Figura 12a) se observó un comportamiento similar a las dos concentraciones anteriores lo que indico que la duración del ciclo dependió del sustrato; el ciclo de mayor duración corresponde a la celda con glucosa generándose los mayores valores en voltajes y DP, la duración de los otros dos ciclos es similar. Se observó que las fluctuaciones de voltaje son más pronunciadas para la glucosa con respecto a los otros dos sustratos, por otra parte la generación de voltaje es más estable en la celda con acetato. En el segundo ciclo (Figura 12b), se observaron menores fluctuaciones de voltajes (estabilidad) para todos los sustratos, destacándose el acetato con el cual se produjo el mayor voltaje.

Se observó que la duración del último ciclo (Figura 12c) para todos los sustratos no fue similar, ya que la diferencia entre uno y otro es marcada, por ejemplo: la celda con glucosa duro más tiempo generando voltaje que la de la lactosa, indicando que los microorganismos presentes en la celda con glucosa tienen un lento metabolismo en la degradación de MO, cabe resaltar que en la celda configurada con lactosa (el tiempo de duración fue menor) fue donde se logró remover la mayor cantidad de MO, indicando rápido metabolismo de biodegradación, esto en analogía a lo observado por Juang *et al.*, (2011) quienes expresan que la densidad de potencia también aumenta con la velocidad de degradación del sustrato, por lo tanto se esperaría mayor voltaje para las celdas con lactosa sin embargo el voltaje más alto para este ciclo (265,4 mV) se presentó con glucosa. Por otro parte se observaron mayores fluctuaciones de voltaje en todos los casos con respecto al segundo ciclo.

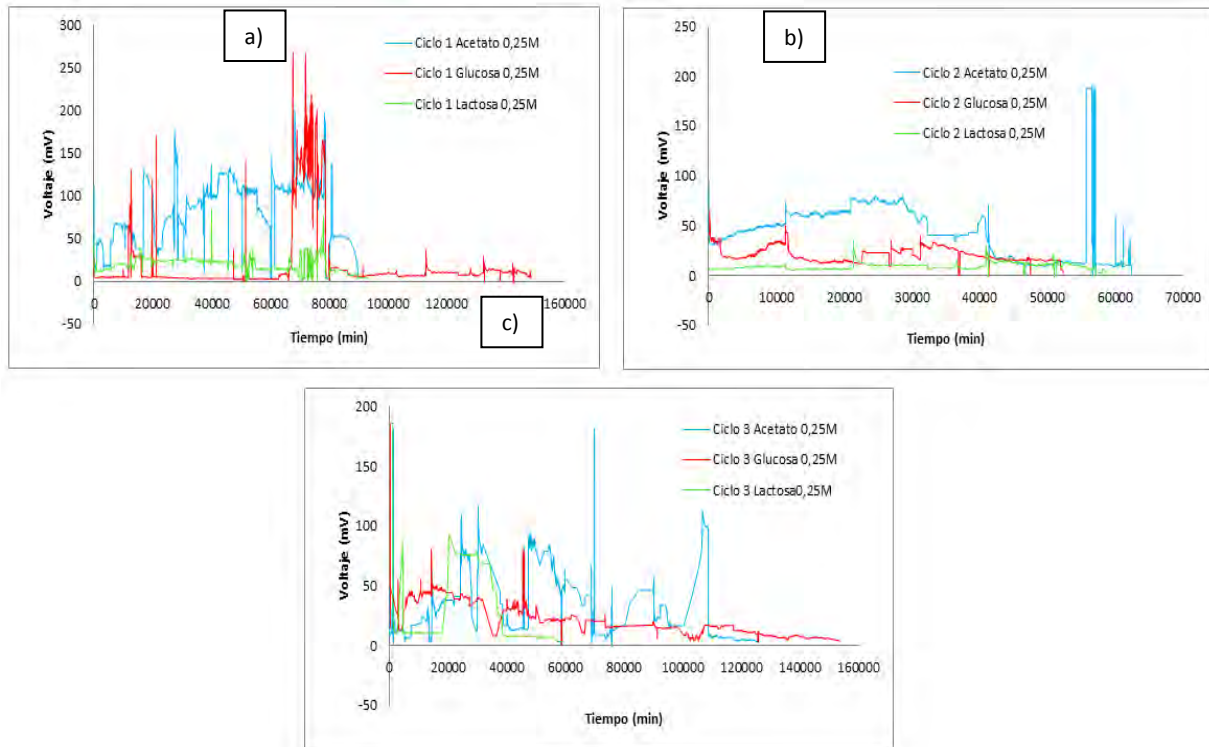


Figura 12. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos 0,25M a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo. Fuente, esta investigación.

Fuente: esta investigación

Los resultados anteriores mostraron que a una concentración de 0,25M la duración del ciclo dependió del tipo de sustrato tal como se evidenció en la concentración de 0,05M; la generación de voltaje dependió de la biopelícula presente en los ánodos, encontrándose que los $V_{m\acute{a}x}$ con los diferentes sustratos se obtuvieron en el primer ciclo, con glucosa se obtuvieron 265,4 mV es decir una DP igual a 23,289 mW/m^2 , para acetato se generó un $V_{m\acute{a}x}$ de 197,4 mV y 12,884 mW/m^2 en DP valor que se mantuvo relativamente estable durante los tres ciclos indicando la estabilidad de la biopelícula formada en el ánodo presente a esta concentración y con lactosa un V_{max} de 84,2 mV y una DP de 2,3399 W/m^2 .

4.4.2 Evaluación de la Densidad de Potencia (DP). Como se observa en las Figuras 10-12 el voltaje es fluctuante y para su análisis en esta investigación se quieren destacar el Voltaje al inicio del ciclo y el $V_{m\acute{a}x}$ durante el ciclo; el voltaje al inicio de cada ciclo que es relativamente alto se debe posiblemente a que al introducir sustrato fresco en circuito abierto se produce una acumulación de cargas en el ánodo; mientras que el $V_{m\acute{a}x}$ estaría relacionado con la actividad microbiana. Por lo tanto, en la Tabla 5 se muestran estos voltajes generados para cada celda usando como fuentes de carbono, acetato, glucosa y lactosa bajo diferentes concentraciones durante tres ciclos.

Tabla 6. Voltajes generados y DP calculadas para las CCMs-BEQ de cátodo aireado*.

Sustrato	Concentración (Mol/L)	Ciclo	Voltaje Inicial (mV)	DP (V inicial) (mW/m ²)	V _{máx} (mV)	DP (V _{máx}) (mW/m ²)	Tiempo del ciclo (días)
Acetato	0,05	1	12	0,0500	59	1,2081	43,7
		2	102	3,6106	52,6	0,9602	29,8
		3	76,2	2,0151	61,4	1,3083	23,9
	0,1	1	467	72,2400	233,6	18,0755	53,8
		2	40,8	0,5514	56,7	1,0649	50,1
		3	622	128,1518	174	10,0286	82,4
	0,25	1	112	4,1475	197,4	12,8839	63,4
		2	95	2,9840	187	11,5621	43,3
		3	8,6	0,0245	181	10,8321	87,7
Glucosa	0,05	1	141	6,9527	91	2,8960	50,6
		2	115	4,6250	132,9	6,1768	32,8
		3	61,2	1,3098	117	4,7872	87,2
	0,1	1	14,3	0,0677	140,4	6,5295	54,9
		2	12,2	0,0493	667	147,3654	62,9
		3	18,1	0,1085	183	11,0929	131,7
	0,25	1	13,4	0,0594	265,4	23,2892	104,3
		2	41,5	0,5694	49	0,7939	43,0
		3	14,7	0,0714	80,3	2,1320	106,4
Lactosa	0,05	1	14	0,0693	7	0,0173	1,3
		2	160	9,0572	146,6	7,6036	77,6
		3	137,8	6,7182	214,8	16,3238	41,9
	0,1	1	37	0,4535	142,3	6,7074	45,1
		2	17,4	0,1003	148,8	7,3342	42,8
		3	43,1	0,6153	412	56,2262	121,9
	0,25	1	43,2	0,6159	84,2	2,3399	66,1
		2	72,9	1,7540	35,6	0,4183	40,8
		3	186	11,4180	79,4	2,0807	41,5

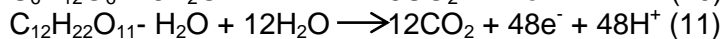
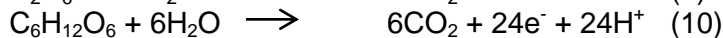
*Los voltajes resaltados en los colores respectivos a las concentraciones de cada sustrato corresponden a los valores más altos encontrados al inicio y durante el experimento. Fuente esta investigación.

Fuente: esta investigación

Como puede analizarse a partir de la Tabla 5 la generación de voltaje se ve influenciada por la concentración de sustrato, ya que para cualquiera de los tres, el voltaje se incrementó cuando se aumentó la concentración de 0,05M a 0,1M, sin embargo, a la mayor concentración (0,25M) el voltaje disminuyó, este resultado está de acuerdo con lo demostrado por Copland, (2000) quien afirma que un aumento en las

concentraciones de sustrato acelera las velocidades de reacción y conduce a una mayor generación de voltaje hasta un nivel óptimo de sustrato por encima del cual se saturan los receptores de los microorganismos y se deja de metabolizar MO disminuyéndose así la generación de voltaje.

En la generación de voltaje también influyó el tipo de sustrato, en este sentido los $V_{m\acute{a}x}$ en un tiempo determinado se obtuvieron en la celda alimentada con glucosa 0,1M en el ciclo 2 (677 mV), seguida de la celda suplementada con acetato 0,1M en el tercer ciclo (622 mV) y finalmente la celda con lactosa 0,1M en el tercer ciclo (412 mV) (Tabla 5). De acuerdo con estos resultados la generación de voltaje se favorece cuando se usa glucosa, según Sharma y Li (2010) dependiendo del microorganismo que introduzca la glucosa a su metabolismo esta puede ser transformada en acetato, etanol o CO_2 (Ecs. 8 - 10), los dos primeros sirven como fuente de carbono para otros microorganismos cuyo producto de desecho es el CO_2 , por lo tanto el metabolismo de glucosa sin importar la ruta de biodegradación produce mayor cantidad de electrones en comparación a cuando se utiliza acetato, como fuente de carbono según puede observarse a continuación.



De acuerdo a las ecuaciones anteriores, en especial la Ecu. 11, la lactosa debería generar mayor voltaje porque es la que teóricamente libera mayor cantidad de electrones (Sharma y Li, (2010), sin embargo, el voltaje obtenido en estas celdas fue menor (Tabla 5), esto se podría explicar por la conversión de la lactosa a etanol y acetato a través de vías de fermentación, lo que hace que no se liberen electrones (Rittmann *et al.*, 2008). Es importante resaltar que se encontró menor número de colonias microbianas en la biopelícula formada a partir de este sustrato (Anexo 3, Tabla 11), lo cual pudo incidir en la menor generación de voltaje que puedo estar acompañada de la presencia de otros posibles aceptores presentes en el lodo.

Adicionalmente a partir de la Tabla 5 se puede analizar que los V_{max} se presentan en ciclos diferentes, para glucosa en el segundo ciclo y para lactosa y acetato en el tercer ciclo, esto podría estar relacionado con el proceso de formación de la biopelícula, el cual se pudo haber logrado en menor tiempo cuando los microorganismos aprovechaban la glucosa (Andrade-Molinar, 2007).

A partir de los valores de voltaje se calculó la DP (Tabla 4), se observa que las DP máximas son de 147,36 mW/m^2 (glucosa), 56,226 mW/m^2 (lactosa) y 18,075 mW/m^2 (acetato). Estos valores no son comparables con los reportados en literatura puesto que las condiciones de operación con las CCMs son diferentes sin embargo son más bajos cuando se comparan con los reportados, por ejemplo, Kim *et al.* (2007) obtuvieron una DP de 506 mW/m^2 en una celda con acetato y Ozkaya *et al.* (2013) muestra una DP de 900 mW/m^2 en una CCM de doble cámara. No obstante lo anterior, el resultado para esta investigación es importante teniendo en cuenta que las CCMs utilizadas están construidas con materiales de muy bajo costo a diferencia de los experimentos

reportados quienes utilizan como separador la MIP lo cual le provee mucha más eficiencia para la generación de voltaje.

Pese a esto es importante destacar estos resultados puesto que son mayores que los reportados por Oh y Logan, (2005) quienes obtuvieron la máxima densidad de corriente de 16,2 mW/m² empleando glucosa y 17,2 mW/m² con lactosa aun con CCMs cuya configuración es superior a las empleadas en esta investigación, puesto que su configuración implica el empleo de MIP.

Experimentalmente se puede decir que cuando se desea obtener altos valores en DP la glucosa es el mejor sustrato entre los evaluados, tal cual como fue demostrado por Sharma y li, (2010b) quienes obtuvieron en su experimento la mayor DP con glucosa de (401 mW/m²). Debido a que este parámetro únicamente tiene en cuenta el V_{máx} producido en las CCMs y no evalúa si este máximo voltaje se presenta por periodos cortos o largos, este resultado de máxima potencia no posiciona a la glucosa como el sustrato con el que se obtiene alta EC tal como se mostrará más adelante.

4.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).

4.5.1 ANÁLISIS CURVA DE CALIBRACIÓN

La curva de calibración realizada permitió cuantificar la cantidad de MO removidas (Figura 13) con un límite de detección de 152,22 ppm y un porcentaje de error de 1,2%, la ecuación cuadrática obtenida con un coeficiente de determinación (r^2) superior al 0,99 indica la relación directa existente entre absorbancia y concentración de MO, esta se empleó para el cálculo de la DQO de la siguiente manera:

$$DQO(mgO_2/L) = \frac{Abs - 0,0177}{0,0003}$$

Donde

0,0003= es la pendiente de ecuación

0,0177 = es el intercepto

DQO = es la concentración de MO

Abs = es la Absorbancia leída en el espectrofotómetro

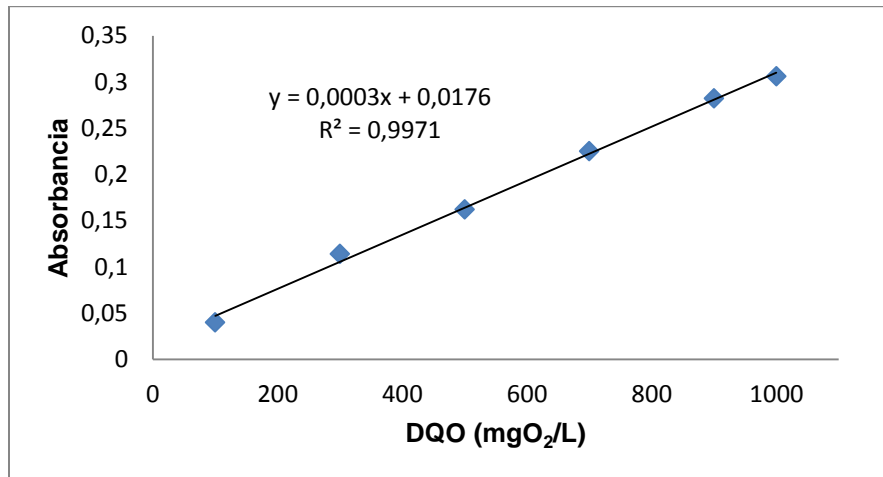


Figura 13. Curva de calibración para la cuantificación de DQO.

Fuente: Esta investigación

La medición de DQO mediante el método colorimétrico, en donde la cantidad de oxidante ($K_2Cr_2O_7$) utilizado es equivalente al oxígeno presente en la muestra (mgO_2/L), permitió medir la cantidad de MO presente en las soluciones de las cámaras anódicas, al iniciar y finalizar cada ciclo (Anexo 4, Tabla 6).

Tabla 7. Porcentaje de remoción de MO en CCMs de cátodo aireado, DQO

Sustrato	Acetato de sodio			Glucosa			Lactosa		
	Concentración								
Ciclo	0,05M	0,1M	0,25M	0,05M	0,1M	0,25M	0,05M	0,1M	0,25M
1	30,043	40,150	26,198	82,447*	47,548	48,978	16,006	41,347	53,270
2	57,508	86,010*	37,461	59,067	73,047	21,048	78,752	65,874	55,348
3	67,138	37,027	44,837	41,509	54,167	39,992	67,350	83,608	92,411**

*los valores resaltados en gris muestran los máximos valores de remoción de MO logrados por sustrato evaluado

**el valor resaltado en rojo es el máximo obtenido en las CCMs de cátodo aireado. Fuente, esta investigación.

Fuente: Esta investigación

En la Tabla 6 se puede observar que se presentan porcentajes de remoción de MO mayores a 50% en las celdas con acetato y glucosa a las menores concentraciones (0,05M y 0,1M), mientras que en las celdas con lactosa ocurren en todas las concentraciones, esto quizá es un indicativo de la actividad de la biopelícula de los ánodos frente a cada sustrato, al parecer hay un efecto de saturación en el caso de acetato y glucosa que aún no se observa en las celdas con lactosa. En las celdas con

acetato y glucosa no es conveniente incrementar la concentración de sustrato puesto que el sistema a 0,25M no es eficiente en la remoción de MO, sin embargo, en las celdas con lactosa aún se podría trabajar con concentraciones superiores a 0,25M y en ellas posiblemente se logre remover una mayor cantidad de MO. Esta tendencia se ha observado por otros autores Cirik, (2014) quienes trabando con 0,4 g/L y 3,6 g/L encontraron que los microorganismos aumentan la síntesis de la enzima para degradar MO con la concentración por lo tanto se favoreció la generación de energía en 3,6 g/L.

De acuerdo a lo observado en la Tabla 6 el mayor porcentaje de remoción de MO está relacionado con el tipo de sustrato y concentración dependiendo del tiempo de formación de la biopelícula (ciclo), de esta manera con acetato se obtuvo 86.010% a 0,1M en el segundo ciclo, con glucosa 82,447% a 0,05M en el primer ciclo y con lactosa 92,411% a 0,25M en el tercer ciclo. Se sugiere que se profundice en el estudio de la cinética para cada sustrato especialmente en el rango de concentraciones donde se obtuvieron los mayores porcentajes de remoción de MO.

De los sustratos empleados en las CCMs como fuente de carbono al evaluar la remoción de MO, se destaca la lactosa, aunque estadísticamente, empleando el análisis ANOVA multifactorial no se encontraron diferencias significativas en este parámetro al comparar los factores (ciclo, sustrato y concentración), puesto que de acuerdo con los resultados de valor-P > 0,05 (Tabla 7), los factores no inciden de manera significativa en la remoción de MO.

Tabla 8. Análisis de Varianza para DQO.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	1561,4	2	780,701	3,05	0,1034
B:Concentración	711,676	2	355,838	1,39	0,3028
C:Sustrato	941,489	2	470,745	1,84	0,2198
INTERACCIONES					
AB	1495,06	4	373,766	1,46	0,2995
AC	3025,41	4	756,353	2,96	0,0896
BC	1202,86	4	300,715	1,18	0,3900
RESIDUOS	2044,88	8	255,61		
TOTAL (CORREGIDO)	10982,8	26			

Fuente: Esta investigación

En la Figura 14 se muestra los efectos del sustrato, la concentración y el ciclo sobre la remoción de MO medida con el parámetro DQO, de la siguiente manera, en las celdas con la lactosa los microorganismos son más eficientes en comparación a los otros dos sustratos, a la mayor concentración (0,25M) y en el tercer ciclo, contrario a esto con acetato y glucosa los mejores resultados se presentan a las menores concentraciones (0,05M y 0,1M), con el primero la respuesta en esta variable es mejor a 0,1M en el segundo ciclo y con glucosa a 0,05M respuesta que disminuye con los ciclos.

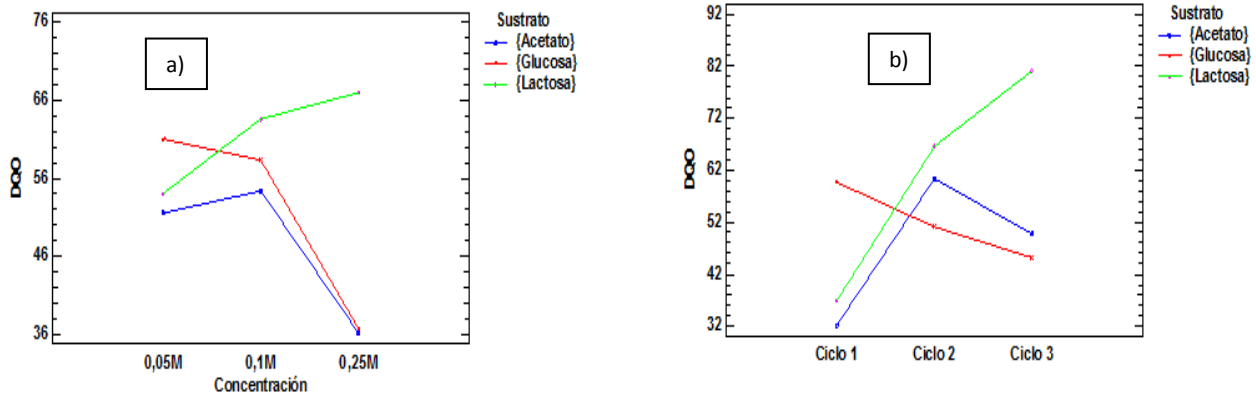


Figura 14. Interacciones de los efectos en disminución de MO a) sustrato y concentración, b) ciclo y sustrato.

Fuente: esta investigación

4.6 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA COULOMBICA.

La EC es otro parámetro para evaluar el desempeño eléctrico de las CCMs, su cálculo involucra el voltaje producido y la remoción de MO durante la duración del ciclo, a diferencia de la DP que evalúa el comportamiento eléctrico del sistema únicamente en el punto de medición.

La Tabla 8 muestra los resultados obtenidos de EC por sustrato, concentración y ciclo, se puede observar que la EC máxima ($EC_{m\acute{a}x}$) se obtuvo en el tercer ciclo para los tres sustratos del experimento. En el caso del acetato y la lactosa se presentó a la concentración 0,1M mientras que en la glucosa a 0,05M. Copland, (2000) y Tremouli *et al.* (2013) explican que la generación de electricidad depende de la velocidad de conversión del sustrato la cual disminuye al aumentar su concentración, haciendo que la EC se inhiba a altas concentraciones, en esta investigación para las celdas con glucosa esto ocurrió a concentraciones superiores de 0,05 M y con acetato y lactosa después de 0,1 M.

Tabla 9. Porcentaje de EC generado en cada CCM de cátodo aireado*.

Sustrato	Acetato de sodio			Glucosa			Lactosa		
	Concentración								
Ciclo	0,05M	0,1M	0,25M	0,05M	0,1M	0,25M	0,05M	0,1M	0,25M
1	0,4295	3,3760	3,8188	1,9036	1,0037	0,1781	0,0079	0,1155	0,2025
2	0,5661	3,0333	1,0164	1,9289	1,4260	0,1913	0,5220	0,2008	0,0618
3	0,1583	11,6312	1,1595	4,4705	1,5787	0,2781	0,0020	0,7745	0,0733

*Los valores resaltados en gris son los máximos en EC lograda con las CCMs-BEQ.

Fuente esta investigación.

Fuente: esta investigación

En las CCMs con acetato a las concentraciones de 0,1M se generó la EC_{máx} en el tercer ciclo, en el cual se obtienen los más altos voltajes por un mayor periodo de tiempo que en los otros dos ciclos, lo que posiblemente indicaría la presencia de una comunidad microbiana electrígena, mientras que a la concentración de 0,05M la EC_{máx} se obtuvo en el segundo ciclo. Cabe resaltar que a esta última concentración en el tercer ciclo se presenta la más baja EC (0,158%) cuando la remoción de MO es la más alta (Tabla 7) y el tiempo de operación es el más corto, lo cual podría influir en que la generación de carga eléctrica sea menor además de otros factores que inciden incrementando la R_{in} e impidiendo que los electrones liberados lleguen al ánodo para producir la corriente eléctrica.

En las celdas con glucosa la EC se incrementó con los ciclos y a las menores concentraciones, obteniéndose las EC_{máx} en el tercer ciclo y a 0,05M (Tabla 8), posiblemente porque la biopelícula desarrollada hasta el tercer ciclo y la glucosa a la menor concentración posibilite mejores condiciones para disminuir la R_{in} propiciando mayor generación de corriente eléctrica lo cual está de acuerdo con lo expresado por López, (2014) en cuya investigación empleando celdas de biocátodo se generó mayor EC cuando se empleó glucosa a 0,05M (1%).

Con lactosa a 0,1M la EC_{máx} se obtuvo en el tercer ciclo (0,774%), a 0,05M en el segundo ciclo (0,522%) y a 0,25M en el primer ciclo (0,202%). Es importante destacar que a 0,25M se removió más del 90% de la MO presente en la solución de la cámara anódica en el tercer ciclo, no obstante esta CCM fue una de las celdas en las cuales se obtuvieron los menores porcentajes en EC por lo tanto, se requiere de mayores estudios para profundizar en la comprensión de estos fenómenos.

En la Figura 15 se muestra el comportamiento de la EC en las CCMs cuando se varía sustrato, concentración y ciclo, con acetato a 0,1M se obtuvo el mayor porcentaje de EC en el tercer ciclo, el cual fue el más prolongado y por lo tanto, se podría decir que el tiempo es un factor que incide positivamente sobre la EC; por otro lado, cuando se empleó glucosa se obtuvieron mayores porcentajes de EC a menor concentración y en el tercer ciclo; finalmente cuando se utilizó lactosa como fuente de carbono se obtuvieron mejores porcentajes en EC en el tercer ciclo a 0,1M, aunque con este sustrato se obtuvieron los menores porcentajes de EC, el porcentaje de remoción en MO fue relativamente alto, por lo cual se podría decir que este sustrato fue degradado favorablemente por los microorganismos, sin embargo, diferentes factores pudieron influir en una deficiente generación de energía eléctrica relacionados principalmente con la R_{in} .

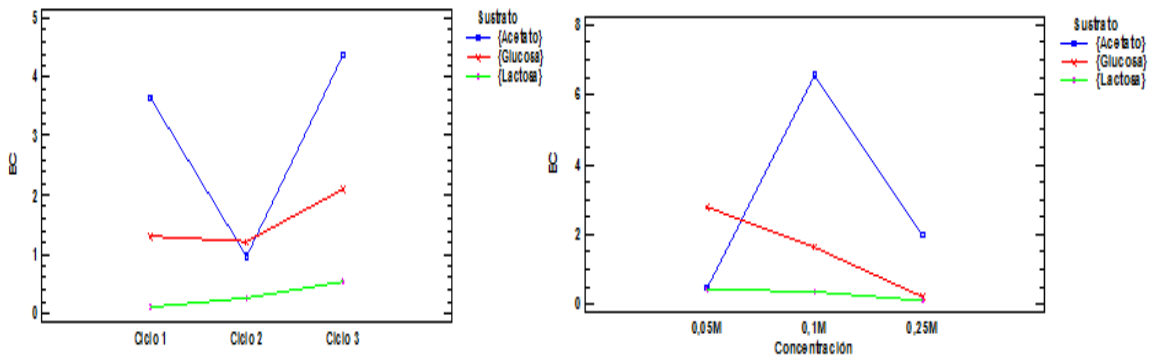


Figura 15. Interacciones de los factores: sustrato, concentración y ciclo en la EC.

Fuente: esta investigación

En general al evaluar la EC generada en las CCMs-BEQ (Tabla 8), se observa que se obtienen diferentes porcentajes de EC dependiendo del sustrato, concentración y ciclo, obteniéndose la EC_{máx} en el tercer ciclo a una concentración de 0,1M con acetato (11,631%) y lactosa (0,773%) y a 0,05M con glucosa (4,426%). Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Chae *et al.* (2009) quienes lograron obtener la mayor EC en una CCM alimentada con acetato (72,3%) pero solo el 15,0% de EC empleando glucosa; con la glucosa se obtienen menores porcentajes de EC posiblemente porque este sustrato puede ser metabolizado por varios microorganismos utilizando rutas metabólicas de fermentación y metanogénesis, de las cuales se conoce que no aportan en la generación de electricidad (no liberan electrones a su entorno) (Chae *et al.*, 2005), sin embargo, el hidrogeno producido puede ser fuente de electrones.

Siendo uno de los objetivos principales en este trabajo evaluar el desempeño eléctrico generado en las celdas se optó por realizar un análisis de varianza de la EC para determinar cuál de los siguientes factores, tipo de sustrato, concentración y ciclo inciden más sobre este parámetro. En la Tabla 9 se observa que el tipo de sustrato es el factor que tiene un valor-P menor que 0,05, lo cual indica que es el que más incide sobre la EC, con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 10. Análisis de Varianza para EC.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:ciclo	0,0593027	1	0,0593027	0,07	0,7917
B:concentración	0,967326	1	0,967326	1,16	0,2918
C:sustrato	6,69498	1	6,69498	8,06	0,0093
Error total	19,1127	23	0,830985		
Total (corr.)	26,8343	26			

Fuente: esta investigación

En la Figura 16 se muestra el efecto de cada factor sobre la EC, se puede observar que la EC está influenciada principalmente por el tipo de sustrato, aunque se puede notar una leve influencia de la concentración y del ciclo. Además a partir de este Figura se puede deducir en que tipo sustrato, en que concentración y en que ciclo se encontraron las mayores EC: acetato a 0,1M en el tercer ciclo, debido probablemente a que el acetato se convierte en electricidad sin ser degradado a otros productos en las CCMs, por otro lado el valor de EC bajo en las celdas con glucosa probablemente la mayor cantidad de glucosa fue degradado a acetato etanol o CO_2 por bacterias fermentativas presentes en los lodos del RSA, y por lo tanto la EC fue menor, de este modo, la electricidad generada fue a partir de la de acetato o etanol en lugar de glucosa, sustrato del cual se conoce favorece el crecimiento de diversos microorganismos por lo tanto la Rin para la transferencia de electrones a los electrodos se incrementa en las CCMs y la EC disminuye, esto también explica el bajo rendimiento en la EC de las celdas con lactosa. Por lo tanto con el propósito de incrementar la EC se recomienda realizar un tratamiento de los inóculos para suprimir el crecimiento de bacterias fermentativas (Chae *et al.*, 2005), y realizar un análisis fisicoquímico para identificar posibles aceptores de electrones en este (Sharma y Li, 2010b).

La descomposición de la MO en ambientes anaeróbicos sin presencia de aceptores de electrones como SO_4^{2-} , NO_3^- , Fe^{3+} , hace que el carbono sea catabolizado por fermentación. El proceso global de la fermentación es un proceso de óxido-reducción equilibrado internamente, donde el carbono del mismo compuesto orgánico en parte se oxida y en parte se reduce.

Si un organismo cataboliza compuestos orgánicos debe conservar parte de la energía liberada en forma de ATP, y eliminar los electrones extraídos del donador de electrones. En la fermentación, la síntesis de ATP se produce generalmente mediante fosforilación a nivel de sustrato, un mecanismo por el que los enlaces fosfato de alta energía de los intermediarios orgánicos de la fermentación se transfieren al ADP. Y para equilibrar el proceso de reducción el microorganismo produce y secreta los productos de fermentación generados a partir del sustrato original.

En la fermentación, la oxidación esta acoplada a la reducción de un compuesto que se genera a partir del propio sustrato, no implica la intervención de ningún aceptor externo de electrones y la energía se produce por fosforilación a nivel de sustrato, la glucolisis o vía de Embden-Meyerhof se divide en tres etapas, cada una comprende una serie de reacciones individuales catalizadas enzimáticamente, la primera no implica ni oxidación ni reducción y no liberan energía, pero en esta se generan dos moléculas intermediarias clave de *gliceraldehído-3-fosfato*, en la segunda etapa ocurre un proceso de oxidación del *gliceraldehído-3-fosfato para convertirlo a ácido 1,3-difosfoglicérico* que se lleva acabo si está presente el NAD^+ para aceptar los electrones liberados, la energía se conserva en forma de ATP, y se forman dos moléculas de piruvato y en la última etapa se genera una segunda reacción de reducción del piruvato que promueva la oxidación del NADH a NAD^+ originando los productos de fermentación (etanol y CO_2 , o ácido láctico).

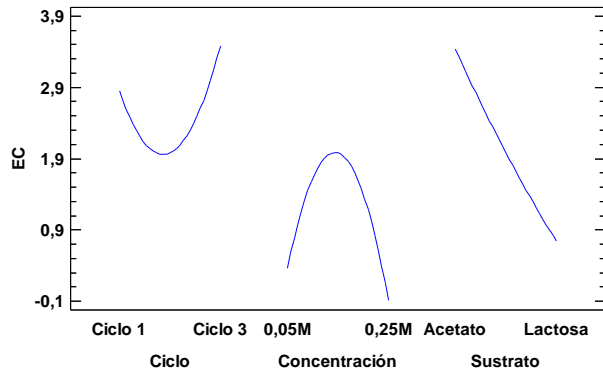


Figura 16. Efectos principales de cada factor sobre la EC.

Fuente: esta investigación.

CONCLUSIONES

En las CCMs de cátodo aireado empleadas en esta investigación fue posible remover MO y generar electricidad. Las eficiencias en la remoción de MO fueron considerables, alrededor de 92,411% usando lactosa a 0,25M, de 86,010% usando acetato a 0,1M y finalmente de 82,447% con glucosa a 0,1M; sin embargo, en todas las celdas la generación de energía eléctrica fue baja obteniéndose la más alta eficiencia coulombica en la celda operada con acetato (11,63%).

El tipo de sustrato y el tiempo de operación de la celda incidieron en la generación de voltaje, obteniéndose las máximas densidad de potencia en las celdas con glucosa operadas en el segundo ciclo (147,36 mW/m²), seguidas por las celdas con lactosa en el tercer ciclo (56,226 mW/m²) y finalmente las celdas con acetato en el primer ciclo (18,075 mW/m²), valores que se presentaron en todas las CCMs a la concentración de 0,1M de cada sustrato.

Se logró cultivar microorganismos a partir de las biopelículas formadas sobre los ánodos de todas las CCMs operadas en este estudio, diferenciándose colonias microbianas dependiendo del tipo de sustrato.

RECOMENDACIONES

Caracterizar la microbiota asociada a la bipelícula de los ánodos para comprender la incidencia del sustrato en su diversidad.

Valorar la incidencia de los microorganismos que puedan depositarse sobre los cátodos de las CCMs durante el tiempo de operación de las celdas y cómo afectan su desempeño.

Profundizar en el estudio de la cinética para cada sustrato especialmente en el rango de concentraciones donde se obtuvieron los mayores porcentajes de remoción de materia orgánica.

Realizar una caracterización fisicoquímica de los lodos anaerobios para tener un mayor conocimiento del ambiente al cual se exponen los microorganismos.

Extender el uso de las CCMs hacia otras fuentes de carbono, especialmente aquellas que son representativas de la región.

Establecer un sistema para la medición del flujo del oxígeno en las cámaras catódicas.

BIBLIOGRAFIA

- Aldrovandi, A., Marsili, E., Paganin, P., Tabacchioni, S., Giordano, A., (2009). Sustainable power production in a membrane-less and mediator-less synthetic wastewater microbial fuel cell. *Biores. Technol.* 100, 3252–3260.
- Allen, RM. y Bennetto, HP. 1993. EMicrobial fuel-cells: electricity production from carbohydrates. *ApplBiochemBiotechnol*; 39/ 40: 27–40.
- APHA-AWWA_WPCF.(1992). Métodos Normalizados para el análisis de agua potables y residuales. Editorial Diaz de Santos S.A.
- Angenent, L.T. y Wrenn, B.A. 2008. Optimizing mixed-culture bioprocessing to convert wastes into bioenergy. In: Wall, J.D., Harwood, C.S., Demain, A. (Eds.), *Bioenergy*. ASM Press, Herndon, VA, USA, pp. 179–194.
- Andrade, C. (2007). Caracterización de biopelículas formadas sobre membranas utilizadas para el tratamiento de aguas residuales, *Tesis de titulación de maestría en ciencias en biotecnología Universidad autónoma de Chihuahua*.
- Antonopouloua,b,* , et al. 2010. Electricity generation from synthetic substrates and cheese whey using a two chamber microbial fuel cell. *Biochemical Engineering Journal* 50: 10–15.
- Benetton, X., Navarro, Á., S. G and Carrera, F. C. (2010). Electrochemical evaluation of Ti/TiO₂-polyaniline anodes for microbial fuel cells using hypersaline microbial consortia for synthetic-wastewater treatment; *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*. Vol. 13 pp 1-6.
- Biffinger, J.C. et al. (2008). Oxygen exposure promotes fuel diversity for *Shewanella oneidensis* microbial fuel cells. *Biosens.Bioelectron.* 23: 820–826.
- Bond, D.R. et al. 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science* 295: 483–485.
- Bond, D.R. y Lovley, D.R. (2003). Electricity production by *Geobactersulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1548–1555.
- Borole, A. P., Hamilton, C. Y., Vishnivetskaya, T. A., Leak, D., Andras, C., Morrell-Falvey, J., Keller, M. and Davison, B., (2009). Integrating engineering design improvements with exoelectrogen enrichment process to increase power output from microbial fuel cells; *Journal of Power Sources*. Vol. 191 pp 520-527.
- Bullen, RA. Arnot, TC. Lakeman, JB., Walsh, FC., 2006. Biofuel cells and their development. *Biosens Bioelectron*; 21: 2015–45.
- Burgos Castillo, R. C. (2012). Evaluación Electroquímica de materiales anódicos. 16.
- Catal, T., Li, K., Bermek, H., Liu, H., (2008a). Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *J. Power Sources* 175, 196–200.

- Carmona J C, Bolivar D M y Giraldo L A (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental Productivo. *Rev Col Cienc Pec.* 18:1.
- Cha, J., Choi, S., Yu, H., Kim, H., & Kim, C. (2010). Directly applicable microbial fuel cells in aeration tank for wastewater treatment. *Bioelectrochemistry.*
- Chae, KJ. et al. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 3518–3525.
- Chang, IS. et al. (2004). Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosens Bioelectron.* 19: 607–13.
- Chang, IS. et al. (2005). Improvement of a microbial fuel cell performance as a BOD sensor using respiratory inhibitors. *Biosens Bioelectron.* 20: 1856–9.
- Chaudhuri, S.K. y Lovley, D.R. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediator-less microbial fuel cells. *Nat. Biotechnol.* 21: 1229–1232.
- Cheng et al. (2006). Increased power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 2426–2432.
- Cheng, S., y Logan, B.E. (2011). Increasing power generation for scaling up single-chamber air cathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 102, 4468–4473.
- Choi, Y. et al. (2003). Membrane fluidity sensing microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry.* 59: 121–7.
- Chung, K., & Okabe, S. (2009). Continuous power generation and microbial community structure of the anode biofilms in a three-stage microbial fuel cell system. *environmental biotechnology.*
- Cirik, K. (2014). Optimization of Bioelectricity Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cell: Effect of Electrode Material, Initial Substrate Concentration, and Cycle Time. *Appl Biochem Biotechnol.*
- Cristiani, P., Franzetti, A., Gandolfi, I., Guerrini, E., & Bestetti, G. (2012). Bacterial DGGE fingerprints of biofilms on electrodes of membraneless microbial fuel cells. *International Biodeterioration & Biodegradation.*
- Copland, R.A., (2000). *Enzymes*, second ed. John Wiley, New York.
- Delaney, G.M. et al. (1984). Electron-transfer coupling in microbial fuel-cells.2. Performance of fuel-cells containing selected microorganism mediator substrate combinations. *J. Chem. Technol. Biotechnol. B Biotechnol.* 34: 13–27.

- Delong, EF. y Chandler, P. (2002). Power from the deep. *Nat Biotechnol*; 20: 788–9.
- Di Lorenzo, M., Curtisa, T. P., Head, I. M., & Scott, K. (2009). A single-chamber microbial fuel cell as a biosensor for wastewaters. *ScienceDirect*.
- Du, Z. et al. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol Adv*, 25: 464-482.
- El-Chakhtoura, J., El-Fadel, M., Rao, H., Li, D., Ghanimeh, S., & Saikaly, P. E. (2014). Electricity generation and microbial community structure of air-cathode microbial fuel cells powered with the organic fraction of municipal solid waste and inoculated with different seeds. *bioresources and bioenergy*.
- Galindo, J. (2005). Estudio de una celda de combustible orgánico utilizada para la generación de energía eléctrica en procesos de tratamiento biológico de aguas residuales. (Trabajo de grado magister en ingeniería civil). Universidad de los Andes. Facultad de ingeniería civil y ambiental. Bogotá D.C.
- Gálvez, A., Greenman, J., & Ieropoulos, I. (2009). *Bioresource Technology*, 100(21), 5085–5091.
- Greenman, J., Gálvez, A., Giusti, L., & Ieropoulos, I. (2009). *Enzyme and Microbial Technology*, 44(2), 112–119.
- He, Z. et al., (2006). An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 40: 5212–5217
- Heilmann, J. y Logan, B.E. (2006). Production of electricity from proteins using a microbial fuel cell. *Water Environ. Res.* 78: 531–537.
- Holmes, D.E., Bond, D.R., O'Neill, R.A., Reimers, C.E., Tender, L.R., Lovley, D.R., (2004). Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Microbial Ecol.* 48, 178–190. Ieropoulos, I. et al. 2003a. Imitation metabolism: energy autonomy in biologically inspired robots. *Proceedings of the 2nd international symposium on imitation of animals and artifacts*; p. 191–4.
- Ieropoulos, I.A. et al. (2005a). Comparative study of three types of microbial fuel cell. *EnzymeMicrob Tech*; 37: 238–45.
- Ishii, S., Logan, B. E., & Sekiguchi, Y. (2012). Enhanced electrode-reducing rate during the enrichment process in an air-cathode microbial fuel cell. *applied microbial and cell physiology*.

- Juang , D.-F., Yang, P.-C., Chou , H.-Y., & Chiu, L.-J. (2011). Effects of microbial species, organic loading and substrate degradation rate on the power generation capability of microbial fuel cells. *Original research paper Biotecnologia*.
- Jung, S. y Regan, JM. (2007). Comparison of anode bacterial communities and performance in microbial fuel cells with different electron donors. *ApplMicrobiolBiotechnol*, 77: 393-402.
- Kargi, F. y Eker, S. (2007). Electricity generation with simultaneous wastewater treatment by a microbial fuel cell (MFC) with Cu and Cu–Au electrodes. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 82: 658–662.
- Kim, BH. et al. (2003). Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnol Lett*; 25: 541–5.
- Kim, H.J. et al. (2002). A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanellaputrefaciens*. *Enzyme Microb. Technol.* 30: 145–152.
- Kim, JR. et al. (2005). Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *ApplMicrobiolBiotechnol*; 68: 23–30.
- Kim, J.R. et al. (2007). Electricity generation and microbial community analysis of ethanol powered microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* 98 (13): 2568–2577.
- Kim, et al. (2010). Modular tubular microbial fuel cells for energy recovery during sucrose.
- Lee, H-S. et al. (2008). Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Water Res*, 42: 1501-1510.
- Franks, A. E., Malvankar, N. and Nevin, K. P. (2010). Bacterial biofilms: the powerhouse of a microbial fuel cell; *Biofuels*. Vol. 1 pp 589-604.
- Li *et al.* (2010). Recent advances in the separators for microbial fuel cells.
- Li, W.-W., Sheng, G.-P., Liu, X.-W., & Yu, H.-Q. (2010). Recent advances in the separators for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 1-3.
- Liu, H., Cheng, S., Logan, B.E. (2005). Production of electricity from acetate or butyrate in a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39 (2), 658–662.
- Liu, H. y Logan, B.E. (2004). Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* 38: 4040–4046.

- Liu, H., Cheng, S., Logan, B.E. (2005). Production of electricity from acetate or butyrate in a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39 (2), 658–662.
- Liu, Z.D., Li, H.R. (2007). Effects of bio- and abio-factors on electricity production in a mediatorless microbial fuel cell. *Biochem. Eng. J.* 36, 209–214.
- Liu, Z. et al., (2009). Study of operational performance and electrical response on mediator-less microbial fuel cells fed with carbon- and protein-rich substrates. *Biochem. Eng. J.* 45: 185–191.
- López, S. (2014). Reducción de cromo en estado de oxidación 6+ Cr6+ y generación de energía eléctrica en una celda de combustible microbiana CCM de biocátodo.
- Lovley, D.R. (2005). Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature* 435: 1098–1101.
- Lovley DR. (2006). Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Curr Opin Biotech*;17:327–32.
- Logan, BE. et al. (2005). Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell. *Water Res*; 39(5): 942–52.
- Logan, B.E. et al. (2006). Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* 40 (17): 5181–5192.
- Logan, B.E. et al. (2007). Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41 (9): 3341–3346.
- Lovley, DR. (1993). Dissimilatory metal reduction. *Annu Rev Microbial*; 47: 263–90.
- Lovley DR. (2008). The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current Opinion in Biotechnology.* 19: 564-571.
- Luo Y, Zhan R, Liu G, Li J, Li M, Zhan C. (2010). Electricity generation from indole and microbial community analysis in the microbial fuel cell. *Journal of Hazardous Materials.* 176: 759-764.
- Madigan, M. T., Martincó, J. M., & Parker, J. (s.f.). (2004). *Brock Biología de los microorganismos*. Pearson printicel hall.
- Manohar, A.K., Mansfeld, F. (2009). The internal resistance of a microbial fuel cell and its dependence on cell design and operating conditions. *Electrochem. Acta* 54, 1664–1670.
- McInemey MJ y Bryant MP (1981). Basic Principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis. In: *Biomass conversion process for energy and*

- fuels. Sofer SS y Zabrosky OR (eds). Plenum Publishing Corp. New York. 277-296.
- Min, B. et al., (2005b). Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Res*;39: 4961–8.
- Min, B., Angelidaki, I., (2008). Innovative microbial fuel cell for electricity production from anaerobic reactors. *J. Power Sources* 180, 641–647.
- Monroy-Hermosillo OA (1998). Modelamiento y control de un sistema de digestión anaerobia en dos etapas. Tesis de grado de Doctor en Ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F.3-10.
- Nevin, K.P. et al. (2008). Power output and Coulombic efficiencies from biofilms of *Geobacter sulfurreducens* comparable to mixed community microbial fuel cells. *Environ. Microbiol.* 10: 2505–2514.
- Oh, S., Logan, B.E., (2005). Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Res.* 39, 4673–4682.
- Oh SE, Logan BE., (2006). Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Appl Microbiol Biotechnol.* 70:162–9.
- Oh SE, Min B, Logan BE., (2004). Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environ Sci Technol.* 38:4900–44.
- Ordoñez, A & Pabón, V. (2014). Caracterización de la microbiota bacteriana asociada al cátodo de una celda de combustible microbiana reductora de Cr(VI) mediante secuenciación masiva 16S rRNA.
- Ozkaya, B., Cetinkaya, A. Y., Cakmakci, M., Karadag, D., & Sahinkaya, E. (2013). *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36, 399–405.
- Pant, D. et al. (2010). A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresour Technol.* Pag, 6.
- Pant, D., Singh, A., Van Bogaert, G., Gallego, Y. A., Diels, L. and Vanbroekhoven, K., (2011). An introduction to the life cycle assessment (LCA) of bioelectrochemical systems (BES) for sustainable energy and product generation: Relevance and key aspects; *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 15 pp 1305-1313.
- Park, HI. et al. (2007). Effective and low-cost platinum electrodes for microbial fuel cells deposited by electron beam evaporation. *Energy Fuel* 21: 2984–2990.

- Potter, (1911). MC. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proc R Soc Ser B* 1912;84:260–76.
- Rabaey, K., Ossieur, W., Verhaege, M., & Verst, W. (s.f.). Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity.
- Rabaey K. et al. (2005a). Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environ Sci Technol* 2005a; 39:3401–8.
- Rabaey, K. y Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology* Vol: 23 No.6.
- Rabaey K, Boon N, Siciliano SD, Verhaege M, Verstraete W. (2004). Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl Environ Microb*;70:5373–82.
- Revelo, R. D., Hurtado , G. N., & Ruiz, P. J. (2013). Tecnología bioelectroquímica aplicada al tratamiento de aguas residuales sintéticas.
- Rodríguez Galván, M. (2013). Búsqueda de bacterias formadoras de biopelículas para estimular la transformación del cromo hexavalente”.
- Rosenbaum, M. et al. (2006). Interfacing electrocatalysis and biocatalysis with tungsten carbide: a highperformance, noble-metal-free microbial fuel cell. *Angew Chem Int Edit* 45: 6658–6661.
- Rismani-Yazdi, H. et al. (2007). Electricity generation from cellulose by rumen microorganisms in microbial fuel cells. *Biotechnol Bioeng*, 97: 1398-1407.
- Shantaram, A. et al. (2005). Wirellessensors powered by microbial fuel cells. *Environ SciTechnol*; 39: 5037–42.
- Sharma, Y., & Li, B. (2010). The variation of power generation with organic substrates in single-chamber microbial fuel cells (SCMFCs). *Bioresource Technology*.
- Scholz, F. y Schroder, U. (2003). Bacterial batteries. *Nat Biotechnol*; 21: 1151–2.
- Schroder, U. (2007). Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency; *Physical Chemistry Chemical Physics*. Vol. 9 pp 2619-2629.
- Tandukar , M., Hube, S. J., Onodera, T., & Avlostathis, S. P. (2009). Biological Chromium(VI) Reduction in the Cathode of a Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol*.

- Tender, L.M. et al. (2002) Harnessing microbially generated power on the seafloor. *Nat. Biotechnol.* 20: 821–825.
- Tokuji, I. y Kenji, K. (2003). Vioelectrocatalyses-based application of quinoproteins and quinprotein-containing bacterial cells in biosensors and biofuel cells. *Biochim Biophys Acta*;1647: 121–6.
- Vega, CA. y Fernandez, I. (1987). Mediating effect of ferric chelate compounds in microbial fuel cells with *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, and *Erwinia dissolvens*. *Bioelectrochem Bioenerg*;17: 217–22.
- Venkata M. S. et al., (2009). Evaluation of the potential of various aquatic eco-systems in harnessing bioelectricity through benthic fuel cell: effect of electrode assembly and water characteristics. *Biores. Technol.* 100: 2240–2246.
- Wang C-T, Chen W-J, Huang R-Y. (2010). Influence of growth curve phase on electricity performance of microbial fuel cell by *Escherichia coli*. *International Journal of Hydrogen Energy.* 35: 7217–7223.
- Watanabe Kazuya (2008). Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy. *Journal of bioscience and bioengineering.* 106: 528–536.
- Xing, D.F. et al. (2008). Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1. *Environ. Sci. Technol.* 42: 4146–4151.
- Zhang, G. D., Zhao, Q. L., Jiao, Y., Zhang, J. N., Jiang, J. Q., Ren, N. Q., et al. (2011). *Journal of Power Sources*, 196(15), 6036–6041.
- Zuo, Y. et al. (2006). Electricity production from steamexploded corn stoverbiomass. *Energ Fuel*; 20: 1716–21.

Anexo A. Análisis fisicoquímico de lodos anaerobios del RSA, laboratorios Universidad de Nariño

		SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS		Código: LBE-PRIS-FR-28 Página: 1 Versión: 02 Vigente a partir de: 01/09/2010	
		FECHA EMISION RESULTADOS: 2014-05-28		REPORTE No: LAO-R-268-13	
AREA: LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO Y AGUAS					
DATOS USUARIO			DATOS MUESTRAS		
Solicitante: STEFANIA LÓPEZ Dirección: CRA 46A 150-04 Teléfono: 7297066 Cel: 1.085.281.919 e-mail: beta.stefa@gmail.com			Tipo de Muestra: LÓDOS Tipo de Muestreo: SIMPLE Sitio de Toma: RELLENO SANITARIO Responsable del Muestreo: EXTERNO: STEFANIA LÓPEZ Fecha de Muestreo: NO Fecha Recepción Muestra en Laboratorio: 2013-11-06		
TIPO DE ANALISIS SOLICITADOS		FISICOQUIMICO PARCIAL			
Código Muestra LAQ-1058-13		Descripción LÓDOS TESIS - RELLENO SANITARIO ANTANAS - LAGUNA DE EXCESOS			
FECHA DE EJECUCION DEL ENSAYO		2013-11-06 - 2013-12-06			
PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDAD DE MEDIDA	CODIGO MUESTRA LAQ-1058-13	
pH	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.4500 - H	ELECTROMETRICA	* pH	9,34	
CONDUCTIVIDAD	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.2500 - B	ELECTROMETRICA	* u/cm	201	
SOLIDOS TOTALES	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.2940 - B	GRAVIMETRICA	** g (0,0002) = %	23,1	
SOLIDOS SUSPENDIDOS	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.2940 - C	GRAVIMETRICA	** g (0,0002) = %	23,1	
SOLIDOS SUSPENDIDOS VOLATILES	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.2940 - D	GRAVIMETRICA	** g (0,0002) = %	8,60	
FOSFATOS	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.4500 P - D	COLORIMETRICA	** g (0,0002) = %	0,82	
NITRITOS	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.4500 W - B	COLORIMETRICA	** g (0,0002) = %	0,01	
NITRATOS	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.4500 W - B	COLORIMETRICA	** g (0,0002) = %	<0,2	
SULFATOS	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.4500 S - E	TURBIDIMETRICA	** g (0,0002) = %	7,83	
DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.5200 - A ASTM D888-05	LUMINESCENCIA	** g (0,02) = %	0,44	
DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO AR	ESTANDAR METODOS EDICION No 21.5200 - D	COLORIM. REF. CERRADO	** g (0,02) = %	8,75	
*Laboratorio Acreditado por el IDEAM para los parametros, pH, GRASAS Y ACEITES, SOLIDOS TOTALES, SOLIDOS SUSPENDIDOS, DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO, DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO, según Resolución No 42 de 25 de enero de 2011"					
OBSERVACIONES					
DESVIACIONES / EXCLUSIONES / ACLARACIONES AL INFORME			Se realizó la siguiente relación 5g de lodo/ 1L de agua tipo II y a partir de esta relación se realizaron los parámetros solicitados. * Para los parametros de pH y conductividad, la medida corresponde a la solución preparada. ** Para el resto de parametros, los resultados se expresan en porcentaje con respecto a los gramos iniciales tomados para realizar la dilución.		
"FIN INFORME DE RESULTADOS - FIN INFORME DE RESULTADOS - FIN INFORME DE RESULTADOS"					

LOS RESULTADO SON VALIDOS UNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA

PROHIBIDA SU REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL, SIN PREVIA AUTORIZACION DEL LABORATORIO

Elabora: MARY LUZ VALENCIA ENRIQUEZ
 Revisó: MYE 2013-11-18 - MYE 2014-05-28

MARY LUZ VALENCIA ENRIQUEZ
 Química PQ -1748 CPQ
 Universidad de Nariño


 Laboratorio de
 Análisis Químico
 y Aguas

Nuestro Compromiso Universitario es la Excelencia

Ciudad Universitaria - Torrejojo - Telefonos 7315850 - 7311449 Ext. 322 - 356 Telefax 7334477 - A.A. 1175 y 1176

Anexo B. Generación de corriente en las CCMs empleando diferentes sustratos y concentraciones a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo.

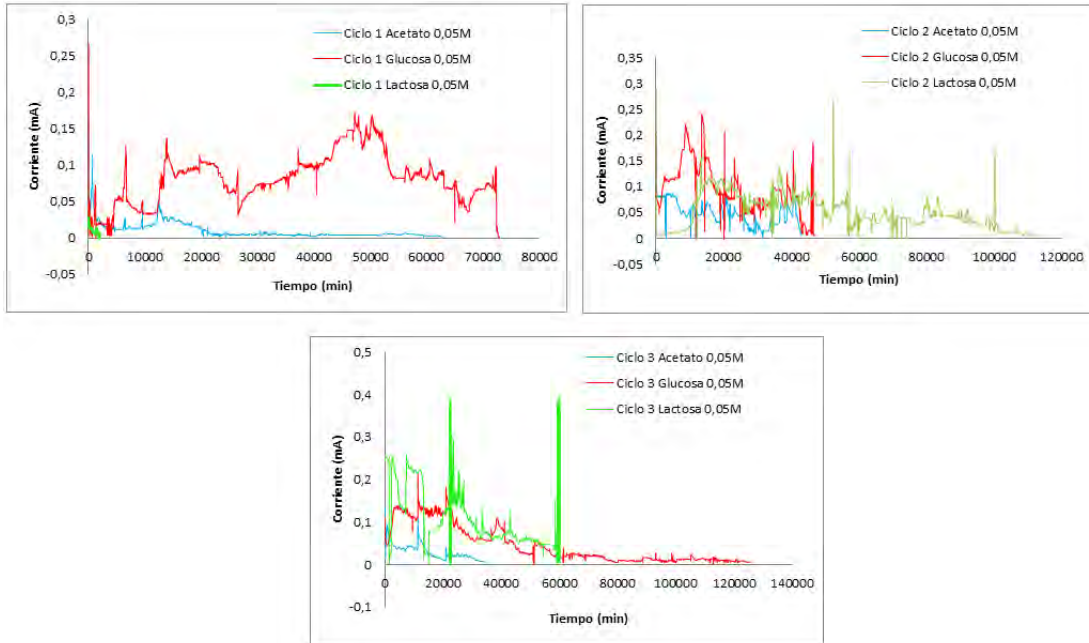


Figura 1. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos 0,05M a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo.

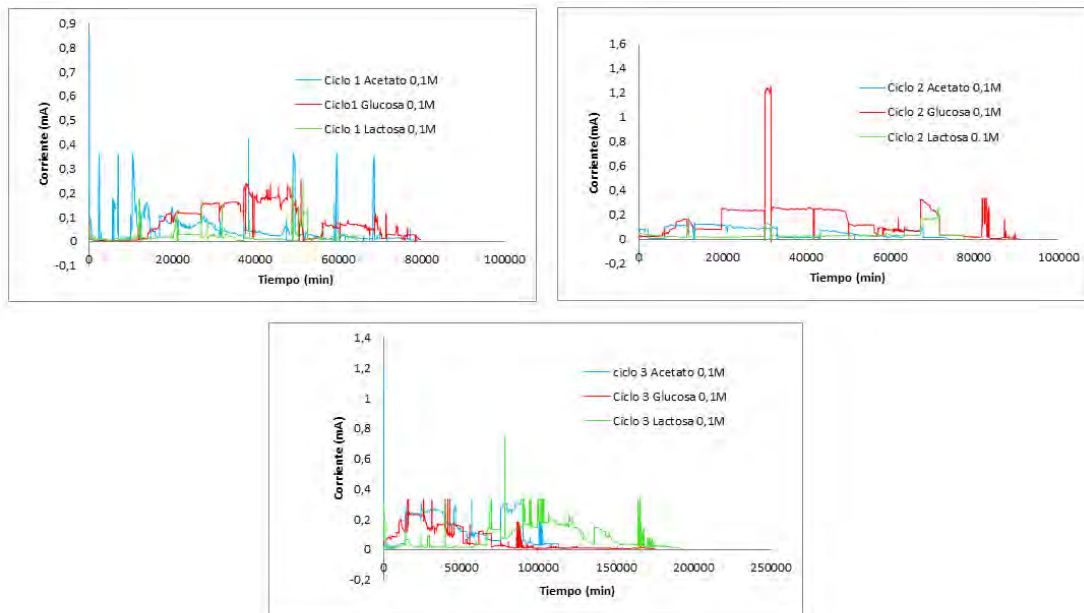


Figura 2. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos 0,1M a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo.

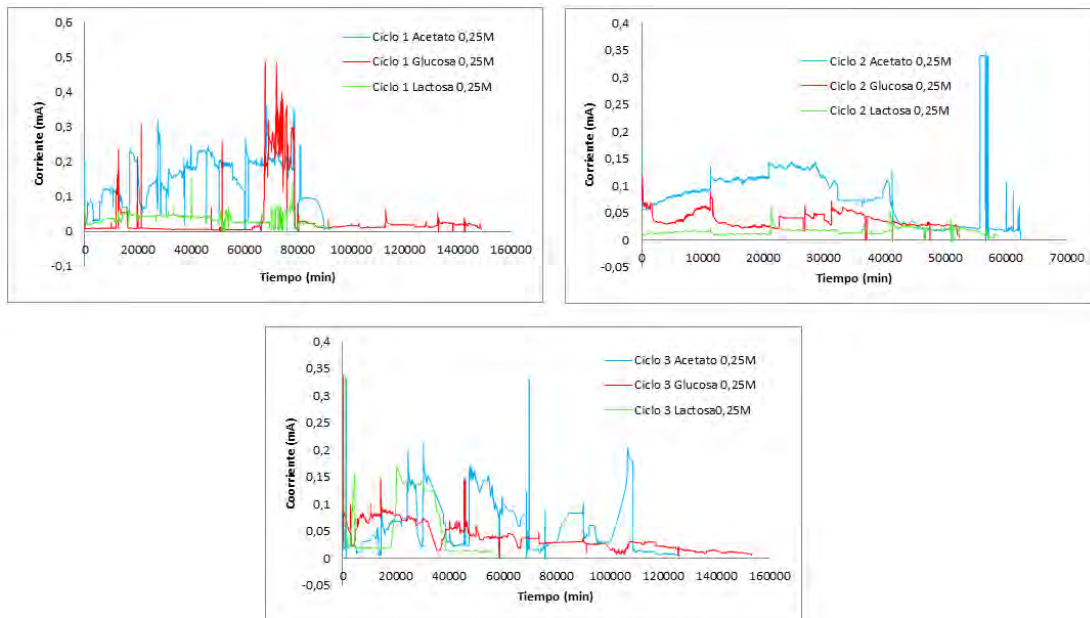


Figura 3. Generación de voltaje en las CCMs empleando diferentes sustratos 0,25M a) primer ciclo b), segundo ciclo y c) tercer ciclo.

Anexo C. Recuento de colonias microbianas en la biopelícula de los ánodos

Tabla 1. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con acetato de sodio a 0,05M al final de los ciclos*.

Dilución Colonia	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	>300	>300	>300	0	0	>300	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	2	0	0	4	0	2	2	1	3
3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	>300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	0
7	0	0	0	1	0	0	1	2	4	1	0	1
8	0	0	0	>300	>300	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	>300	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	>300	>300	>300	>300	5
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	>300	>300	>300	>300	>300	>300	5	>300	>300	>300	>300	9
UFC	nd			Nd			nd			nd		

*El dato >300 colonias fue dado porque se observó el crecimiento extendido de una sola colonia que pudo sobrelapar a otras impidiendo hacer un conteo preciso. **Se calculó sobre el promedio de las réplicas (Estas observaciones se deben considerar para esta Tabla y las siguientes).

Tabla 2. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con acetato de sodio a 0,1M al final de los ciclos.

Dilución Colonia	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	>300	>300	92	75	0	11	2	0	0	>300	64	>300
2	11	5	5	1	1	1	1	0	0	1	1	0
15	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0	0	0
17	6	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
20	12	6	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	2	5	6	0	0	0	0	0	0	0	1	0
22	0	0	6	0	0	0	0	0	0	00	0	0
23	13	12	27	3	1	1	0	0	1	0	0	0
26	2	2	1	0	5	0	3	0	1	4	0	0
27	10	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	66	>300
UFC	nd			Nd			nd			nd		

Tabla 3. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con acetato de sodio a 0,25M al final de los ciclos.

Dilución Colonia	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0	0	0	0	0	0	>300	0	0	0	0	0
2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	2	2	6	0	0	0	0	1	5	0	0	0
18	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	>300	>300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
21	0	2	0	0	0	0	0	*>300	0	0	0	0
22	0	9	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
23	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	>300	>300	>300	0	0	0	3	0	4
25	0	0	0	0	0	0	0	0	26	2	24	0
Total	>300	>300	10	>300	>300	>300	>300	>300	31	5	24	4
UFC	nd			Nd			nd			1,1x10 ⁷		

Tabla 4. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con glucosa a 0,05M al final de los ciclos.

Dilución	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
6	10	17	22	0	3	2	2	3	0	37	18	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
16	7	1	0	0	0	0	0	0	9	1	0	0
21	6	>300	>300	6	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
29	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	4	10	0	>300	2	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	10	0	22	0	0	5
Total	23	>300	>300	6	8	13	12	>300	33	41	18	7
UFC	nd			9x10²			nd			2,2x10⁶		

Tabla 5. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con glucosa a 0,1M al final de los ciclos.

Glucosa 0,1M												
Dilución	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
Colonia	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	>300	5	2	4	0	0	0	1	0	0	0	0
2	34	1	0	3	2	0	0	0	7	0	0	0
5	0	3	2	7	0	0	2	0	0	0	0	2
12	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
13	0	0	5	0	1	0	0	0	0	3	0	0
21	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	13	0
23	0	0	0	1	1	2	0	5	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	>300	0	1	0	0	5
30	0	2	0	0	3	1	0	0	3	0	0	0
Total	>300	11	9	15	8	3	>300	7	11	7	13	7
UFC	nd			8,7x10 ²			nd			9x10 ⁶		

Tabla 6. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con glucosa a 0,25M al final de los ciclos.

Dilución	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
Colonia	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	>300	>300	>300	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4	2	8	0	2	0	2	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
6	0	0	0	0	0	1	0	9	0	4	13	0
7	0	0	0	0	5	1	0	0	5	0	0	0
11	0	2	0	0	3	1	0	0	3	0	0	0
12	0	0	5	0	1	0	0	0	6	3	0	0
13	5	1	2	5	0	0	0	0	0	0	0	2
22	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
30	0	0	0	1	0	2	0	5	0	0	0	0
Total	>300	>300	>300	6	11	7	5	14	15	7	13	3
UFC	nd			8x10 ²			1,133x10 ⁵			7,7x10 ⁶		

Tabla 7. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con lactosa a 0,05M al final de los ciclos.

Dilución colonia	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0	0	>300	1	>300	>300	0	>300	>300	>300	0	>300
2	2	7	>300	1	1	0	0	0	0	1	2	0
3	>300	>300	>300	0	0	0	>300	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	2	2	0	1	1	1	2	1
14	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	>300	0
Total	>300	>300	>300	2	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
UFC	nd			nd			nd			nd		



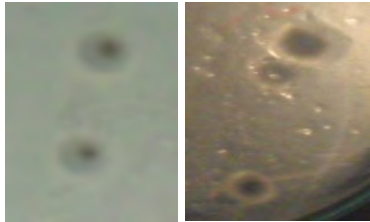
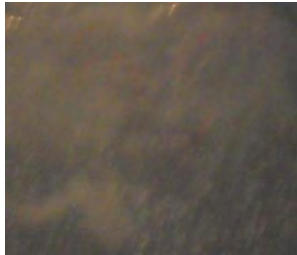


Tabla 8. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con lactosa a 0,1M al final de los ciclos.




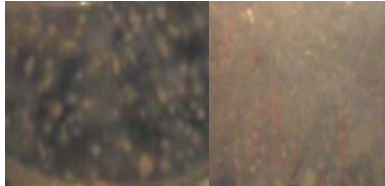
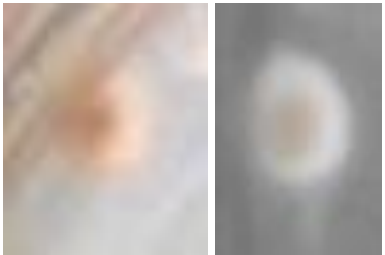

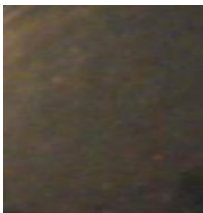
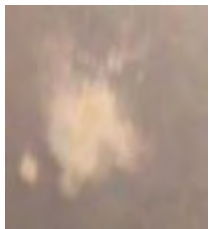
Dilución Colonia	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	6	>300	1	0	0	0	>300	0	1	>300	0	2
2	1	3	2	0	3	2	0	0	1	0	0	0
5	1	1	3	4	3	1	1	0	2	0	0	0
12	7	4	2	2	0	2	3	0	1	0	3	0
14	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
15	>300	0	2	1	1	0	0	5	0	2	1	0
16	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
21	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	>300	>300	13	7	8	5	>300	5	7	>300	6	5
UFC	nd			6,7x10²			nd			nd		


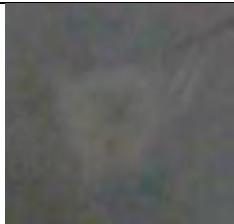
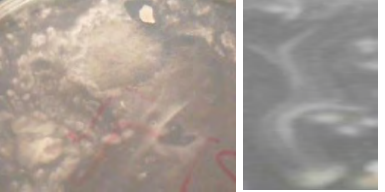



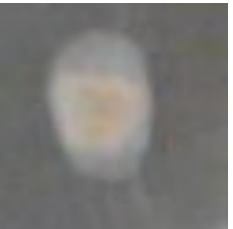
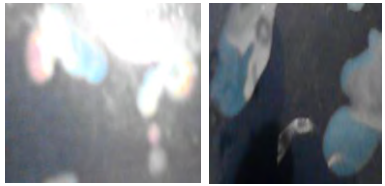
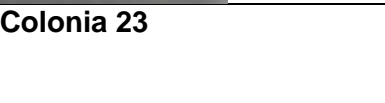
Tabla 9. Número de colonias microbianas presentes en la biopelícula del ánodo de la celda suplementada con lactosa a 0,25M al final de los ciclos.

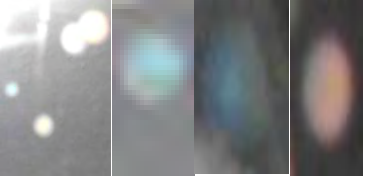
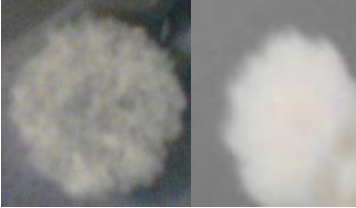


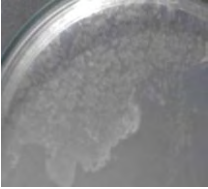
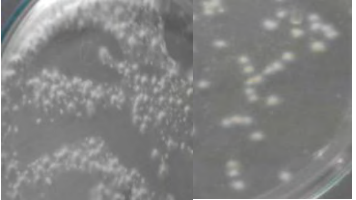

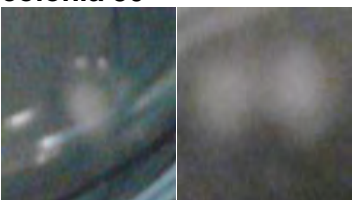
Dilución	Dilución 10 ⁻¹			Dilución 10 ⁻³			Dilución 10 ⁻⁵			Dilución 10 ⁻⁷		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	0
2	150	94	156	4	1	2	0	0	0	0	0	0
5	0	5	5	113	24	90	4	11	4	3	1	1
7	>300	0	0	>300	0	2	0	0	0	0	0	0
12	>300	>300	>300	>300	242	>300	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	24	34	27	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4
23	0	0	0	0	0	0	0	83	0	31	>300	31
25	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
26	>300	0	22	8	11	8	0	12	5	0	1	0
Recuento total	>300	>300	>300	>300	>300	>300	7	106	10	34	>300	36
UFC/g**	nd			nd			4,1x10 ⁵			nd		

Tabla 10. Descripción macroscópica de colonias microbianas presentes en la biopelícula de los ánodos al final de los tres ciclos.

COLONIA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICAS	COLONIA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICAS
Colonia 1 	Colonia irregular, 2 mm de diámetro, cóncava, translúcida y entera.	colonia 4 	redonda, algodonosa, 4mm de diámetro, color crema, borde blanco e irregular; negro con halo blanco
Colonia 2 	colonia negra con borde blanco, algodonosa, 8mm de diámetro, haz/ envés: café verdoso, borde blanco e irregular; negro con halo blanco	colonia 5 	Colonia irregular de 1mm, sin elevación, color crema, bordes indefinido e iridiscente.
Colonia 3 	colonia irregular, 1mm de diámetro, plana, blanca e irregular	colonia 6 	colonia irregular blanca con textura algodonosa, 13mm de diámetro, bordes irregulares y blancos
Colonia 7	Colonia amarilla, esponjosa, 10mm de diámetro, centro	colonia 11	Colonia irregular de 15mm de diámetro, plana,

	amarillo, borde amarillo e irregular		color blanco, bordes irregulares con centro denso
Colonia 8 	Colonia irregular, esparcida por toda la caja, plana, traslucida, borde indefinido e iridiscente	colonia 12 	Colonia irregular de 1mm de diámetro esférica, cóncava color crema, borde con halo del mismo color
Colonia 9 	Colonia café, de textura algodonosa, 6mm de diámetro, haz/ envés: café oscuro en el centro y se difumina con las micelas del borde irregular; café con halo blanco	colonia 13 	Colonia color crema, de textura algodonosa, 3mm de diámetro, borde irregular blanco.
Colonia 10 	Colonia irregular de 2mm de diámetro, cóncava de color café y borde definido	colonia 14 	Colonia irregular de 5 mm de diámetro, textura esponjosa, color café, bordes indefinidos.
Colonia 15	Colonia irregular con apariencia a un cristal de	colonia 19	Colonia irregular de 5mm de diámetro es

	nieve, 2mm de diámetro, plana borde irregular e iridiscente		cóncava con bordes irregulares de color blanco en el centro y halo gris
<p>Colonia 16</p> 	Colonia irregular apariencia lechosa, 10mm de diámetro, plana de color blanco y borde indefinido	<p>colonia 20</p> 	Colonia redonda de 1mm de diámetro, plana, color negro, bordes definido.
<p>Colonia 17</p> 	Colonia irregular, blanca, 2mm de diámetro, plana y uniforme en toda su extensión, borde liso.	<p>colonia 21</p> 	Colonia ovalada de 22mm de diámetro, plana, borde liso de color blanco y con puntos negros
<p>Colonia 18</p> 	Colonia circular con halo, 2 mm de diámetro, cóncava de textura cremosa, color blanco y borde liso	<p>colonia 22</p> 	Colonia de 11mm de diámetro, plana, translúcida, borde liso, color translucido y es iridiscente a la luz
<p>Colonia 23</p> 	Colonia circular, 2-1 mm de diámetro, cóncava, blanca, borde definido e iridiscente.	<p>Colonia 27</p> 	Colonia blanca esponjosa, 12mm de diámetro blanco

			<p>traslucido.</p>
<p>Colonia 24</p> 	<p>Colonia circular, 7 mm de diámetro, convexa, centro color gris, borde traslucido y definido e iridiscente.</p>	<p>colonia 28</p> 	<p>Colonia circular con 2mm de diámetro, cóncava, borde liso, color blanco y textura cremosa.</p>
<p>Colonia 25</p> 	<p>Colonia irregular, 1 mm de diámetro, plana, color blanco y de borde irregular.</p>	<p>colonia 29</p> 	<p>Colonia circular de 2mm de diámetro, cóncava, blanca y borde liso.</p>
<p>Colonia 26</p> 	<p>Colonia blanca, algodonosa de 4mm de diámetro, borde irregular.</p>	<p>colonia 30</p> 	<p>Colonia circular, 4 mm de diámetro, cóncava, color crema y borde irregular</p>
<p>colonia 31</p>	<p>Colonia irregular con halo, 8 mm de diámetro, convexa de color crema y borde</p>		



definido.

Tabla 11. Asignación de colonias microbianas encontradas en las biopelículas de los ánodos de las celdas a diferentes concentraciones de sustrato*.

sustrato	Concentración (M)	colonias																										Nº total de colonias								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26		27	28	29	30	31			
Acetato	0,05	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																								12
	0,1	X	X													X		X	X								X	X								11
	0,25	X	X													X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									12
Glucosa	0,05	X	X				X	X								X						x	X	X				X	X	X	X	X	X			13
	0,1	X	X			X									X	X							X	X	X								X	X		10
	0,25	X	X			X	X	X						X	X	X							X	X									X	X		11
Lactosa	0,05	X	X											X	X	X	X	X																		7
	0,1	X	X			X								X		X	X	X									X	X	X							10
	0,25	X	X			X	X							X												X	X									10

*La letra X en color rojo y resaltada en amarillo indica colonias microbianas propias de un sustrato a una determinada concentración.

**La letra X en color rojo y resaltada en color verde indica colonias microbianas propias de un sustrato pero que se repitieron en diferente concentración.

Anexo D. Datos de remoción de MO al inicio y final del ciclo

Tabla 1. Remoción de MO al inicio y final de los ciclos

Sustrato	Concentración	Ciclo	DQO inicial	DQO final	Disminución
Acetato	0,05M	1	7766,67	5433,33	2333,33
		2	10433,33	4433,33	6000,00
		3	9433,33	3100,00	6333,33
	0,1M	1	4433,33	2653,33	1780,00
		2	6433,33	900,00	5533,33
		3	6166,67	3883,33	2283,33
	0,25M	1	22266,67	16433,33	5833,33
		2	21533,33	13466,67	8066,67
		3	24533,33	13533,33	11000,00
Glucosa	0,05M	1	6266,67	1100,00	5166,67
		2	6433,33	2633,33	3800,00
		3	5300,00	3100,00	2200,00
	0,1M	1	22433,33	11766,67	10666,67
		2	21766,67	5866,67	15900,00
		3	20800,00	9533,33	11266,67
	0,25M	1	46433,33	23100,00	23333,33
		2	46433,33	20733,33	25700,00
		3	84766,67	6433,33	78333,33
Lactosa	0,05M	1	23533,33	19766,67	3766,67
		2	22433,33	4766,67	17666,67
		3	22766,67	7433,33	15333,33
	0,1M	1	42566,67	24966,67	17600,00
		2	36433,33	12433,33	24000,00
		3	38433,33	6300,00	32133,33
	0,25M	1	92966,67	47433,33	45533,33
		2	80766,67	63766,67	17000,00
		3	84766,67	50866,67	33900,00

