

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO



**Evaluación de espuma de poliuretano, grafito y polipirrol como
materiales anódicos para la generación de energía eléctrica en
una celda de combustible microbiana**

POR:

ANDREA YAKELIN PÉREZ MORENO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2016.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO

**Evaluación de espuma de poliuretano, grafito y polipirrol como materiales
anódicos para la generación de energía eléctrica en una celda de
combustible microbiana**


POR:

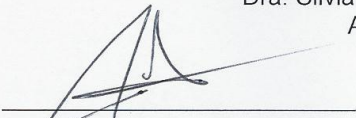
ANDREA YAKELIN PÉREZ MORENO

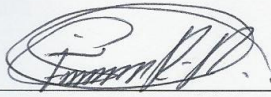
TESIS

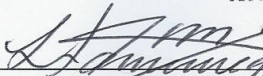
INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Dirigido por el siguiente comité asesor:



Dra. Silvia Yudith Martínez Amador
Asesor principal


M.C. Pedro Pérez Rodríguez
Coasesor


M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos
Coasesor
Universidad Agraria
"ANTONIO NARRO"


Dr. Luis Samaniego Moreno
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio del 2016


Coordinación de
Ingeniería

DEDICATORIA

A mis padres, la Sra. Agripina Moreno Sánchez y el Ing. J. Ascención Pérez Arreguin, quienes nunca le pusieron límites a mis sueños, al contrario con amor y trabajo me enseñaron a ponerles metas, por su apoyo incondicional. Este logro es para ustedes. “Si quieres que las cosas salgan bien, hazlas tú mismo”.

A mis hermanos Carito, José, Mina y Faty, el equipo multidisciplinario que me tuvo la paciencia para instruirme en mi formación académica, a pesar de mis necesidades. Siempre están apoyándome en las buenas y en las malas. Lo prometido era deuda y aquí está el fruto de nuestras desveladas.

A la M.C. Alejandra R. Escobar Sánchez, por su apoyo incondicional, amistad y paciencia. Por apoyarme para lograr un desarrollo académico de excelencia.

A mi tutor escolar el M.C. Juan Manuel Cepeda Dovala, quien nunca me dejó caer en el conformismo y siempre me alentó a dar el extra. Así que esta tesis es lo que ha de dar el valor agregado a mi licenciatura.

A mis amigos de carrera, “equipo de laboratorio”, Reyna Vera, Ing. Samuel Vázquez “el grillo”, Andrés Arredondo “el ojos” y Javier Lorenzo “chomito” porque siempre me acompañaron, enseñándome el trabajo en equipo. Por sus consejos y ser mi mejor ejemplo de esfuerzo.

A todos y cada uno de los académicos que me acompañaron en mi formación básica.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma máter* la “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro” y a quienes hacen de ella ciencia, gracias por la educación profesional brindada.

A la Dr. Silvia Yudith Martínez Amador por haberme dado la oportunidad y confianza para trabajar dentro de su proyecto y su laboratorio.

Al M.C. Pedro Pérez Rodríguez por aportar valiosos conocimientos a mi formación profesional científica. Por su gran paciencia para la coordinación de este experimento y el apoyo en este escrito.

Al M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos por su apoyo y orientación, en mis trabajos académicos y en este escrito.

A mis compañeros y amigos tesistas Liliana Martínez y Gerardo González, por su compañía y apoyo.

A los académicos del Programa Docente Ingeniero Agrícola y Ambiental por todo lo que aportaron a mi formación profesional, enriqueciendo mis inquietudes y ampliando mis objetivos.

INDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN | 11 |
| OBJETIVOS..... | 13 |
| Objetivo general..... | 13 |
| Objetivos específicos..... | 13 |
| HIPÓTESIS | 14 |
| CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO..... | 15 |
| 2.1. Celda de Combustible Microbiana (CCM)..... | 15 |
| 2.2. Proceso histórico de las Celdas de Combustible..... | 15 |
| 2.3. Desarrollo de las Celdas de Combustible Microbianas (CCM)..... | 16 |
| 2.4. Configuración y generación de electricidad..... | 16 |
| 2.4.1. Sistema de un solo compartimento..... | 18 |
| 2.4.2. Sistema de doble compartimento..... | 19 |
| 2.5. Materiales de los componentes de la CCM..... | 20 |
| 2.5.1. Polímeros conductores en el material anódico..... | 20 |
| 2.6. Sustratos utilizados en las CCM..... | 21 |
| 2.7. Microorganismos empleados en las CCM..... | 22 |
| 2.7.1. Metabolismo y nutrición de los microorganismos en una CCM..... | 23 |
| 2.7.2. Digestión anaerobia..... | 24 |
| 2.7.2.1. Hidrólisis..... | 25 |
| 2.7.2.2. Acidogénesis..... | 25 |
| 2.7.2.3. Acetogénesis..... | 25 |
| 2.7.2.4. Metanogénesis..... | 26 |
| 2.8. Mecanismos de transferencia de electrones..... | 26 |
| 2.8.1. Transferencia de electrones directa..... | 26 |
| 2.8.2. Transferencia de electrones por mediadores artificiales..... | 27 |
| 2.9. Biopelículas..... | 27 |
| 2.10. Composición y arquitectura de la matriz extracelular (MEC)..... | 28 |
| 2.11. Características fisicoquímicas de los sustratos que influyen en el desarrollo de biopelículas..... | 29 |
| 2.12. Etapas del proceso de formación de la biopelícula..... | 30 |

| | |
|---|----|
| 2.13. Percepción de Quórum. | 33 |
| 2.14. Metabolismo de las biopelículas. | 33 |
| 2.15. Protones en la biopelícula..... | 34 |
| CAPITULO III METODOLOGÍA..... | 35 |
| 3.1. Estrategia experimental. | 35 |
| 3.2. ETAPA 1. Producción de electrodos anódicos y catódicos..... | 36 |
| 3.2.1. Obtención de material primario para preparación de tratamientos. | 36 |
| 3.2.2. Recubrimiento con grafito aerosol. | 36 |
| 3.2.3. Polimerización química..... | 37 |
| 3.2.4. Cálculos de adhesión. | 37 |
| 3.3. ETAPA 2. Cinética de remoción biológica. | 38 |
| 3.3.1. Acondicionamiento de electrodos con lodo anaerobio y agua residual doméstica. | 38 |
| 3.3.2. Preparación de reactores batch para la cinética de remoción biológica. | 39 |
| 3.3.3. Extracción de muestras para DQO. | 40 |
| 3.3.4. Determinación de la Demanda Química Oxígeno (DQO). | 40 |
| 3.3.5. Calculo del porciento de remoción biológica. | 41 |
| 3.3.6. Producción de Biomasa..... | 42 |
| 3.4. ETAPA 3. Preparación de Material y Armado de las CCM. | 43 |
| 3.4.1. Acondicionamiento de membranas de intercambio protónico..... | 43 |
| 3.4.2. Ensamblado de electrodos. | 43 |
| 3.4.3. Solución aceptora de electrones. | 44 |
| 3.4.4. Armado de las CCM. | 44 |
| 3.5. ETAPA 4. Inoculación y operación de las CCM. | 45 |
| 3.5.1. Caracterización eléctrica las de CCM..... | 45 |
| 3.5.2. Voltaje (V)..... | 45 |
| 3.5.3. Corriente eléctrica (A)..... | 46 |
| 3.5.4. Densidad de potencia (DP)..... | 46 |
| 3.5.5. Eficiencia Coulómbica (EC). | 47 |
| 3.6. ETAPA 5. Ciclo Optimización..... | 47 |
| CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES..... | 49 |
| 4.2. Producción de Biomasa. | 50 |
| 4.3. Remoción biológica de la DQO..... | 51 |

| | |
|--|----|
| 4.4. Caracterización eléctrica de las CCM..... | 52 |
| 4.5. Optimización eléctrica de la CCM T ₃ PU/Grafito/PPy..... | 54 |
| CONCLUSIONES | 58 |
| BIBLIOGRAFÍA | 59 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2.1. Esquema de configuración de una CCM de doble compartimento.... | 15 |
| Figura 2.2. Esquema del sistema de un solo compartimento..... | 17 |
| Figura 2.3. Esquema del sistema de doble compartimento..... | 17 |
| Figura 2.4. Superficie de polipirrol formada a potencia constante (Monterroza, 2006)..... | 19 |
| Figura 2.5. Proceso de formación de biopelículas en un gráfico ciclico (American scientist, 2006)..... | 28 |
| Figura 2.6. a). Colonización de la espuma de poliuretano recubierta de grafito b). Acercamiento de identificación de la biopelícula (<i>E. Coli</i>) (Xie X. <i>et al.</i> , 2012)..... | 29 |
| Figura 2.7. a). Adhesión irreversible de <i>Geobacter sulfurreducens</i> a la superficie del electrodo. b). Acercamiento a la biopelícula (Richter <i>et al.</i> , 2007)..... | 30 |
| Figura 3.1. Reactores batch de acondicionamiento..... | 37 |
| Figura 3.2. Reactores batch cinética de remoción biológica..... | 37 |
| Figura 3.3. Determinación de DQO..... | 39 |
| Figura 3.4. Esquema de la CCM modelo H..... | 42 |
| Figura 4.1. a). Papel carbón. b). Papel carbón con polipirrol..... | 48 |
| Figura 4.2. Remoción Biológica de la DQO para los tratamientos analizados..... | 49 |
| Figura 4.3. Voltaje generado por los tratamientos T ₁ , T ₂ y T ₃ | 50 |
| Figura 4.4. Comportamiento de los tratamientos T ₁ , T ₂ y T ₃ según la DP producida..... | 51 |
| Figura 4.5. Curva de polarización para T ₃ PU/Grafito/PPy. *Metodo de resistencia variable de 1 a 100000 Ω..... | 52 |
| Figura 4.6. Comportamiento CCM T ₃ en base al voltaje producido..... | 53 |
| Figura 4.7. Comportamiento de T ₃ según la Densidad de Potencia generada..... | 53 |

ÍNDICE DE ECUACIONES

| | |
|--|----|
| Ecuación 1.1. Porcentaje de adhesión de grafito aerosol ($\%Ad_{Graf}$)..... | 35 |
| Ecuación 1.2. Porcentaje de adhesión de polipirrol ($\%Ad_{PPy}$)..... | 36 |
| Ecuación 1.3. Porcentaje de remoción biológica..... | 39 |
| Ecuación 1.4. Biopelícula ($T\delta\delta$)..... | 40 |
| Ecuación 1.5. Biomasa..... | 40 |
| Ecuación 1.6. Corriente Eléctrica (A)..... | 44 |
| Ecuación 1.7. Densidad de Potencia (DP)..... | 44 |
| Ecuación 1.8. Eficiencia Coulómbica (EC)..... | 45 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 4.1. Porcentaje de Adhesión de Materiales..... | 46 |
| Tabla 4.2. Producción de biomasa en los electrodos sintetizados..... | 47 |
| Tabla 4.3. Valores de Densidad de Potencia alcanzados aplicando diferentes sustratos..... | 54 |

ABREVIATURAS

| | |
|--------------|---|
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| AHL | Ácido homoceril lastona |
| ATP | Trifosfato de adenosina |
| CCM | Celda de combustible microbiana |
| DQO | Demanda química de oxígeno |
| EPS | Expolisacáridos |
| GEI | Gases de efecto invernadero |
| GWh | Gigawatt por hora |
| MEC | Matriz extracelular |
| MIP | Membrana de intercambio protónico |
| PTARM | Planta de tratamiento de agua residual municipal |
| PEM | Membrana de intercambio protónico, por sus siglas en inglés PEM |
| PU | Poliuretano |
| PPy | Polipirrol |
| SBE | Sistemas bioelectroquímicos |
| SENER | Secretaría nacional de energía |
| SPE | Substancias poliméricas extracelulares |

RESUMEN

Siendo el material anódico un aspecto clave para la generación de energía eléctrica en sistemas bioelectroquímicos, en este trabajo se evaluó espuma de poliuretano, grafito y polipirrol como materiales anódicos, aplicando tres Celdas de Combustible Microbianas (CCM) que respondieron a una configuración de doble compartimento de modelo “H”, con cámaras de 100 mL de capacidad, alimentadas con agua residual municipal de la planta de tratamiento de agua residual municipal (PTARM) del Gran Bosque Urbano Ejercito Mexicano, Saltillo, Coah. Como aceptor de electrones se empleó ferricianuro de potasio ($K_3[Fe(CN)_6]$) al 0.05 M y para moderar el intercambio de protones se aplicó una membrana (MIP) Nafion 117, en el sistema externo se aplicó una resistencia de 1000 Ω . Los materiales anódicos correspondieron a una modificación secuencial de los electrodos. El tratamiento 1 (T_1) espuma de poliuretano (PU), T_2 grafito en aerosol (PU/Grafito) y T_3 polipirrol sintetizado en una matriz de espuma de poliuretano y grafito en aerosol (PU/Grafito/PPy). Las celdas se trabajaron a una temperatura de 35 °C, empleando incubadora. La producción de voltaje máxima fue de 0.2896 V en la CCM T_3 , tratamiento que se mantuvo como el más alto en densidad de potencia generada, con un valor de 31.06 $mW \cdot m^{-2}$. Esta celda fue caracterizada con una R_{ext} de 2700 Ω reportando una eficiencia coulombica de 14.59% y una remoción biológica de 33.5%.

Palabras clave: Celda de combustible microbiana, generación de energía eléctrica, tratamiento de agua residual, polímero conductor, electrodo con polipirrol, densidad de potencia.

Correo electrónico; Andrea Yakelin Pérez, andrea_uaaan@outlook.com

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente México está teniendo un importante desarrollo tecnológico industrial que va de la par con un acelerado crecimiento poblacional. Lo que está generando importantes cambios ambientales y sociales. Hoy en día existe una mayor demanda de energía eléctrica, la cual está condicionada por los factores económicos e industriales. En 2014, según datos del Sistema de Información Energética de la SENER, en el país se consumieron 241,255.544 GWh de energía eléctrica.

La generación de energía eléctrica a partir de combustibles fósiles, como el combustóleo, ha sido el proceso más empleado en la actualidad, en los últimos decenios esto ha generado una serie de problemas atribuibles al cambio climático por su gran producción de gases de efecto invernadero (GEI). En el 2006, la categoría de energía aportó aproximadamente un 61% de las emisiones totales de GEI en México, dentro de la cual, la industria generadora de energía emitió un 21% de los GEI (INEGI, 2010).

La sociedad actual está demandando calidad ambiental, y los intereses políticos mundiales se están enfocando en desarrollar tecnologías que ofrezcan alternativas energéticas más limpias. Por este mismo hecho, en México se realizaron nuevas leyes que favorecen a esta inquietud y a la aplicación de energías renovables.

Se puede considerar que las energías renovables presentan múltiples alternativas para remplazar el uso de combustibles fósiles y a su vez ofrece un suministro energético más sostenible, ya que no consume recursos y no genera contaminantes.

Los sistemas bioelectroquímicos, como las Celdas de Combustible Microbianas (CCM), son tecnologías que pueden contribuir a solucionar el problema de la demanda de energía eléctrica y agua no contaminada, al ser dispositivos que emplean microorganismos para aprovechar la biomasa concentrada en el agua residual municipal, y que por su misma actividad metabólica producen electrones, teniendo así una generación de energía bioquímica transformable en energía eléctrica. Además se muestra eficiente al trabajar en temperaturas ambientales y producir reducidos criterios de CO₂. Si se aplica esta tecnología al sistema de tratamiento de aguas residuales, se reduciría un porcentaje de los residuos sólidos generados en los procesos de tratamiento de aguas residuales municipales.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Evaluar el desempeño electroquímico de diferentes materiales anódicos aplicados en una celda de combustible microbiana para la generación de energía eléctrica a partir de agua residual municipal.

Objetivos específicos.

- Analizar el desempeño electroquímico de la espuma de poliuretano, grafito en aerosol y polipirrol como materiales anódicos dentro de una celda de combustible microbiana.
- Determinar el electrodo con mejores características funcionales dentro de una celda de combustible microbiana, de acuerdo a la densidad de potencia generada en el sistema y a la eficiencia coulombica.
- Evaluar el porcentaje de remoción de materia orgánica dentro de la celda de combustible microbiana para considerar su factibilidad en el sistema de tratamiento de aguas residuales municipales.
- Caracterizar la celda de combustible microbiana por medio de curvas de polarización para establecer la resistencia interna, optimizando la generación de energía eléctrica.

HIPÓTESIS

El empleo de un material compuesto de espuma de poliuretano, grafito y polipirrol como ánodo en una celda de combustible microbiana, promoverá la generación de energía eléctrica acelerando la degradación del agua residual doméstica, lo que incrementará la densidad de potencia del sistema en relación a los materiales comúnmente empleados (grafito).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Celda de Combustible Microbiana (CCM).

Las celdas de combustible microbianas son aquellos sistemas bioelectroquímicos (SBE) que emplean microorganismos para generar electricidad a partir de energía bioquímica, la cual es producida durante la metabolización de sustratos orgánicos, tales como carbohidratos y ácidos grasos volátiles. Su diseño consiste en un ánodo y un cátodo, separados por una membrana de intercambio protónico, y conectados por un circuito externo (Das y Mangwani, 2010).

2.2. Proceso histórico de las Celdas de Combustible.

En 1839, Sir William Grove llevó a cabo la primera demostración conocida de las pilas de combustible, mientras realizaba estudios sobre la electrólisis del agua. Operada con electrodos de platino, separados en oxígeno e hidrógeno gaseoso sumergido en una solución electrolítica de ácido sulfúrico diluido, para aplicar una reacción invertida de la electrólisis del agua. El proceso inicia con el flujo de hidrógeno hacia el ánodo donde el platino trabaja como catalizador, ya que facilita su conversión en electrones y protones. Los protones atraviesan la membrana electrolítica para combinarse con el oxígeno en el lado del cátodo. Los electrones, que no atraviesan la membrana, fluyen del ánodo al cátodo por un circuito externo, produciendo un trabajo eléctrico (Elías y Bordas, 2011).

2.3. Desarrollo de las Celdas de Combustible Microbianas (CCM).

La idea de usar microorganismos en las Celdas de Combustible para producir electricidad, fue primeramente concebida por el M. C. Potter. En 1912 él demostró resultados usando *Escherichia coli*. Para 1931 Barnet Cohen aplicó este sistema con una producción de 35 V a 2 mA. El concepto del diseño actual para CCM fue establecido por Karube en 1977. MJ Allen y H. Peter Bennetto realizaron estudios más detallados en el año de 1980, ambos representantes del Kings College de Londres. Las Celdas de Combustible Microbianas convierten la energía bioquímica, disponible en moléculas de glucosa o algún otro carbohidrato donador, en energía eléctrica, mediante la transferencia de electrones hacia un aceptor como el oxígeno. Esta conversión se facilita por las bacterias localizadas en el ánodo (Rajalakshmi y Dhathathereyan, 2008).

2.4. Configuración y generación de electricidad.

Un aparato ideal de celda de combustible microbiana consiste en dos cámaras, una anódica y otra catódica, hechas de un material inerte como vidrio, policarbonato o plexiglás, con su respectivo electrodo. Estas cámaras están separadas por una membrana de intercambio protónico. Un prototipo básico de celda de combustible microbiana, puede ser de simple cámara o doble cámara (Figura 2.1).

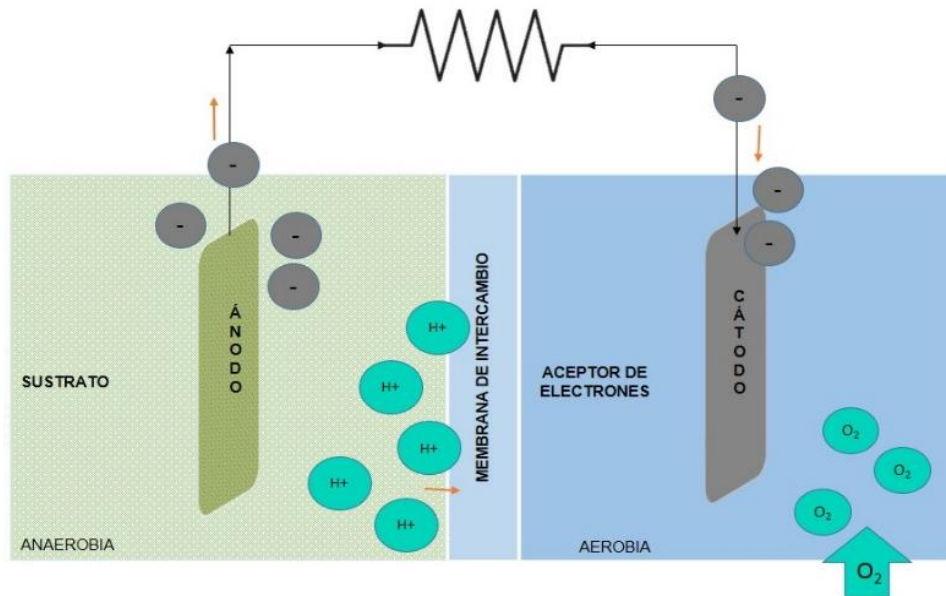


Figura 2.1. Esquema de configuración de una CCM de doble compartimiento.

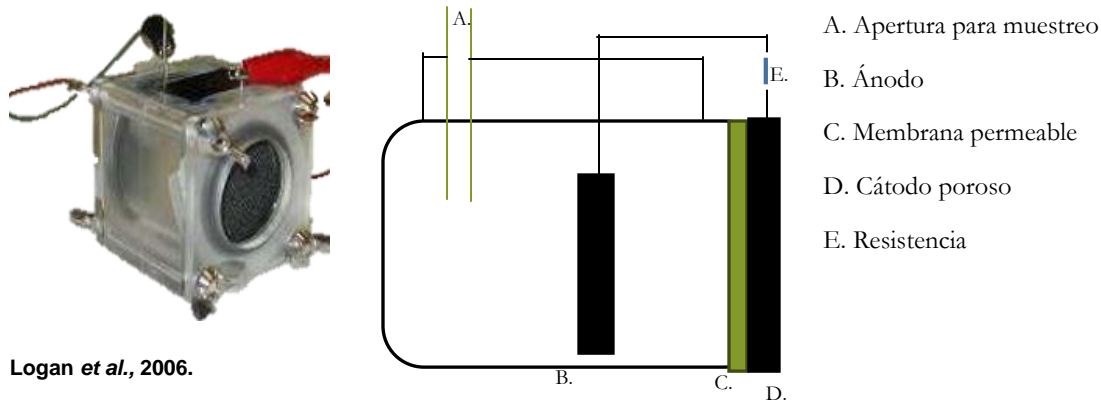
En la cámara anódica, se descompone el sustrato orgánico (oxidación anaerobia) por microorganismos generadores de electrones y protones (H^+) que son transferidos al cátodo a través del circuito externo y membrana respectivamente. El sustrato orgánico es utilizado por los microorganismos como fuente de energía, el resultado de este proceso es la liberación de electrones de alta energía que son transferidos por los aceptores de electrones, pero en ausencia de estos, los microorganismos transportan electrones a la superficie del ánodo que resulta en la generación de electricidad, como sucede en las celdas de sistema simple. Los sustratos orgánicos utilizados son aquellos que puedan ser metabolizados por microorganismos, para su crecimiento y producción de energía al mismo tiempo que generan electrones y protones, como lo son algunos carbohidratos de unidad básica llamados monosacáridos; glucosa o almidón (Das y Mangwani, 2010).

La cámara catódica está llena con un alto potencial aceptor de electrones para completar el circuito. Un ideal aceptor de electrones puede no interferir necesariamente con microorganismos y debe ser un compuesto sostenible de efecto no tóxico, tal es el caso del oxígeno que sirve como aceptor de electrones y no produce efectos tóxicos por ello es preferido como reactivo oxidante. Como medida estándar el aceptor adecuado es el $K_3[Fe(CN)_6]$ (ferricianuro de potasio), ya que también puede aumentar la densidad de potencia (Sengodan y Hays, 2012).

Las reacciones que ocurren en los electrodos se deben a la biopelícula formada en el ánodo y por el catalizador empleado para la reducción del oxígeno. En el ánodo, el material polimérico puede ser degradado a moléculas simples, tales como ácidos grasos e hidrógeno, que son utilizados para la generación de electricidad. Otras reacciones de conversión; tal como la conversión de glicerol a etanol, puede producir compuestos para la generación de energía. En el cátodo, las reacciones pueden resultar en la generación de energía o adicionalmente en la formación de subproductos, como agua (Pistonesi *et al.*, 2010).

2.4.1. Sistema de un solo compartimento.

El diseño de CCM de un solo compartimento contiene tanto ánodo como cátodo (Figura 2.2). La cámara anódica está vinculada a un cátodo poroso expuesto directamente al aire del ambiente en ausencia de una solución catalítica, separado por una capa de difusión de gas o una membrana de intercambio protónico. Los electrones se transfieren al cátodo poroso para completar el circuito. Este diseño limita el requerimiento de recarga periódica con medios de oxidación y hace más versátil el sistema. Entre las diferentes ventajas del diseño, se incluye la reducción de costos que hacen flexible la aplicación en tratamientos de agua y generación de electricidad (Das y Mangwani, 2010).

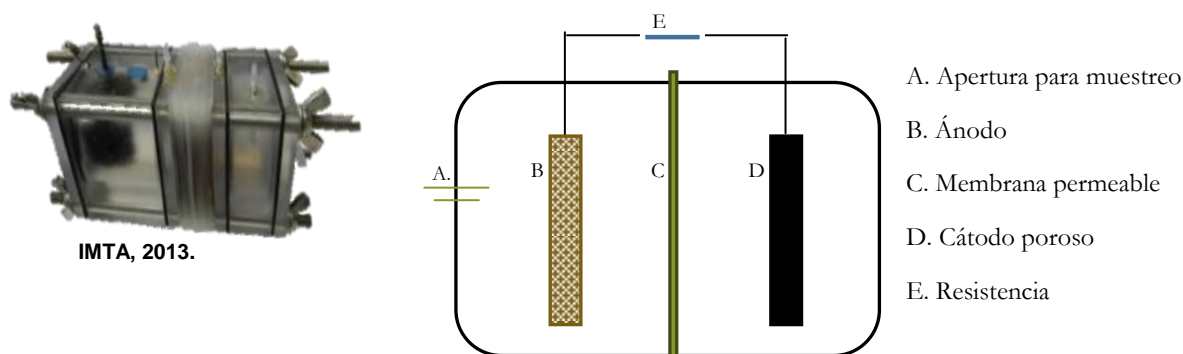


Logan *et al.*, 2006.

Figura 2.2. Esquema del sistema de un solo compartimento.

2.4.2. Sistema de doble compartimento.

En general, este tipo de CCM tiene una cámara anódica y una catódica, conectadas por una membrana de intercambio protónico mediante la cual se transfieren los protones del ánodo al cátodo mientras se rompe la difusión de oxígeno en el ánodo (Figura 2.3). Este tipo de sistema en general es utilizado para el tratamiento de residuos orgánicos con generación simultánea de electricidad. El escalamiento de este diseño puede ser complicado a tamaño industrial. Además la aireación periódica del compartimento catódico también limita la aplicación de dobles compartimentos (Das y Mangwani, 2010). Liang *et al.*, 2007 citado por Bora A., 2014, divulgo que si el ánodo es más cercano al cátodo, se reduce la resistencia interna.



IMTA, 2013.

Figura 2.3. Esquema del sistema de doble compartimento.

2.5. Materiales de los componentes de la CCM.

Los materiales anódicos deben ser conductores, biocompatibles y químicamente estables en el medio con que se alimenta la cámara. El acoplamiento metálico utilizado para el ánodo debe ser consistente y no susceptible de corrosión en el medio en que se sumerge. Así podría usarse acero inoxidable, pero no cobre, dado que algunas disoluciones pueden generar corrosión del mismo, eso generaría un efecto tóxico para las bacterias. El material más versátil para la fabricación de electrodos es el carbono en forma de aerosoles, placas, barras o gránulos de grafito, y como carbón vítreo. Cabe mencionar que la mayor área superficial ha sido alcanzada usando un material compacto como espumas, carbón vítreo reticulado, disponible con diversos tamaños de poro, o usando gránulos de grafito compactado. Como solución catódica el oxígeno es el aceptor de electrones más adecuado, dado costes y disponibilidad, pero debido a su buen desempeño el ferricianuro es muy popular como un aceptor experimental de electrones. En cuanto a la membrana de intercambio protónico, la mayoría de los diseños usan Nafion R 115 o 117, pero una alternativa a este es la membrana Ultrex (CMI-7000), la cual tiene mejor relación costo-eficiencia (Falcón *et al.*, 2009).

2.5.1. Polímeros conductores en el material anódico.

Es importante mencionar que la configuración y material de los electrodos anódicos impacta en el metabolismo microbiano, desde la formación de biopelícula hasta la oxidación directa del sustrato, así como también los mecanismos de transferencia de electrones y sus efectos sobre la resistencia de la celda.

Yong y Kim, 2008 mencionan que, los polímeros conductores han sido de gran interés debido a su potencial aplicación en la preparación de actuadores,

sensores bioquímicos, electrodos y dispositivos electrónicos. Poseen múltiples propiedades eléctricas favorables, son fáciles de sintetizar y de alta conductividad en temperatura ambiente.

Los polímeros conductores mayormente empleados como compósitos para celdas son el polipirrol, politiofeno y polianilina. De los cuales el polipirrol (Figura 2.4) puede ser considerado como uno de los materiales más atractivos dentro de las CCM, debido a su excelente conductividad, estabilidad y su fácil síntesis en medios ácidos. Además de presentar una alta biocompatibilidad a un en pH neutro. Al estar el polipirrol cargado positivamente aumenta la adherencia de bacterias negativamente cargadas, a la superficie, mediante una interacción electrolítica, haciendo más eficaz la transferencia de electrones al ánodo (Mase *et al.*, 2008; Zou *et al.*, 2008 ; Yong y Kim, 2008).

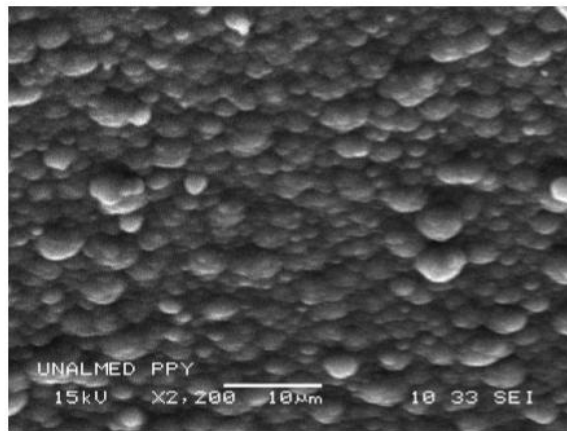


Figura 2.4. Superficie de polipirrol formada a potencia constante (Monterroza, 2006).

2.6. Sustratos utilizados en las CCM.

Cualquier fuente de carbono biodegradable puede ser utilizada en una CCM para la generación de electricidad incluyendo moléculas simples tales como

carbohidratos y proteínas, así como una mezcla compleja de materia orgánica presente en los humanos, animales y diferentes tipos de aguas residuales, principalmente en aguas residuales del tipo doméstico, municipal y de la industria alimentaria. La producción de electricidad a través de la materia orgánica depende de los microorganismos adheridos sobre el ánodo. Por lo tanto, en las CCM el sustrato es considerado como un factor biológico importante para la generación de electricidad (IMTA, 2013).

2.7. Microorganismos empleados en las CCM.

El uso de microorganismos en las CCM ofrece la ventaja de que pueden catalizar la oxidación de numerosos sustratos y pueden ser menos susceptibles a la inhibición. Los microorganismos que son capaces de transferir la energía a los electrodos son llamados electrógenos, mientras que a la vez permiten el crecimiento por la oxidación de compuestos orgánicos a dióxido de carbono.

La mayoría de las CCM han utilizado cepas puras, entre las que se destacan *Shewanella putrefaciens*, *Escherichia coli*, *Geobacter sulfurreducens* y *Rhodoferrax ferrireducens*. Las dos últimas son importantes debido a la eficiencia coulombica (~98%) con que transfieren electrones al ánodo, a partir de glucosa y acetato. Sin embargo, la eficiencia coulombica no siempre es un parámetro que implica una alta transferencia energética, por ello es necesario considerar la densidad de potencia generada. Estudios con cultivos mixtos y consorcios microbianos han sido también analizados, en los cuales se han obtenido eficiencias coulombicas comparables con las de los cultivos puros (~90%). Sin embargo la *Geobacter sulfurreducens* no ha sido superada en cuanto al grado de recuperación de energía eléctrica que esta ha obtenido, la única desventaja de esta bacteria es que requiere condiciones de anaerobiosis estricta (Burgos, 2012).

La bacteria *Geobacter sulfurreducens* es capaz de acoplar la respiración anaerobia a la reducción de metales en el medio ambiente produciendo energía biológicamente útil en forma de ATP durante la oxidación. Debido a su metabolismo, puede biorremediar varios metales pesados. En la reacción de una CCM el ánodo actúa como aceptor final de electrones de manera similar a como lo hacen estas bacterias con los minerales que se encuentran en su hábitat natural, en el subsuelo. Además esta bacteria posee una red de Citocromos tipo C, una proteína que funciona como mecanismo de transporte electrónico (Falcón *et al.*, 2009).

La bacteria *Rhodoferax ferrireducens* es buena candidata ya que oxida azúcares como la glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y xilosa a CO₂ con un 80% de la recuperación de los electrones en forma de electricidad, se adhiere a la superficie del electrodo por largos periodos y tiene habilidad para mantenerse activa (Falcón *et al.*, 2009).

Recientemente se ha demostrado en cultivos mixtos que los microorganismos fermentativos pueden tener poca o nula capacidad para transferir electrones al ánodo, sin embargo, su metabolismo contribuye a la generación de energía en la CCM, ya que aportan subproductos que pueden ser utilizados como sustratos por otras poblaciones microbianas, permitiendo el establecimiento de interacciones sintróficas, así unos microorganismos hidrolizan y fermentan compuestos orgánicos complejos y otros utilizan los subproductos para la generación de corriente (Revelo *et al.*, 2013).

2.7.1 Metabolismo y nutrición de los microorganismos en una CCM.

El factor principal que influye en la generación de energía dentro de una CCM son las vías metabólicas de los microorganismos, ya que estas gobiernan el

flujo de electrones y protones, conjuntamente con el sustrato empleado y el potencial del ánodo. Y es precisamente del ánodo del cual depende si las bacterias pueden usar la cadena respiratoria en un metabolismo oxidante, ya que a mayor potencial anódico es menor la necesidad de aceptores de electrones (Revelo D. *et al.*, 2013).

En general el metabolismo celular de los microorganismos para degradar contaminantes, depende de la forma de obtención de energía de éstos, de esta forma los que utilizan compuestos orgánicos se denominan quimiorganótrofos, en particular las bacterias empleadas en una CCM tienden a ser quimiorganótrofos anaerobios, es decir utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y de carbono para su crecimiento y desarrollo (Mejía *et al.*, 2012).

2.7.2. Digestión anaerobia.

Tortora *et al.*, 2007 describen la digestión anaerobia como un proceso biológico en el que la materia orgánica se descompone en productos gaseosos, en este proceso el receptor final de electrones tiene un potencial más alto de reducción que el oxígeno. En la reacción oxido reducción es necesaria la presencia de posibles receptores de electrones como lo son: nitratos, sulfatos y algunos iones metálicos. En ausencia de cualquier receptor externo, muchos organismos pueden oxidar algunos compuestos orgánicos con liberación de energía.

La digestión anaerobia está caracterizada por la existencia de varias fases de reacciones químicas consecutivas diferenciadas en el proceso de degradación del sustrato, intervienen diferentes poblaciones de microorganismos, los cuales se diferencian por la velocidad de crecimiento y su sensibilidad a compuestos inhibidores.

2.7.2.1. Hidrólisis.

La hidrólisis consiste en una transformación controlada por enzimas extracelulares en la que las moléculas orgánicas complejas y no disueltas se rompen en compuestos susceptibles de emplearse como fuente de materia y energía para las células de los microorganismos. La materia orgánica polimérica, como lípidos, proteínas y carbohidratos, no puede ser utilizada directamente por las bacterias a menos que se hidrolice (por acción de enzimas hidrolíticas) en moléculas solubles y fácilmente degradables, como polisacáridos de cadena corta, ácidos grasos, aminoácidos, alcoholes, etc.

2.7.2.2. Acidogénesis.

La segunda etapa, controlada por bacterias, consiste en la fermentación de los compuestos formados en la primera etapa en otros compuestos de peso molecular intermedio; como dióxido de carbono, hidrogeno, ácidos y alcoholes alifáticos, metilamina y amoniaco. La proporción entre productos de la fermentación varían en función del consumo de H_2 por las bacterias que utilizan hidrogeno. Cuando este es eliminado de forma eficiente, las bacterias fermentativas no producen etanol, favoreciendo a la producción de H_2 y liberan energía en forma de ATP.

2.7.2.3. Acetogénesis.

En la etapa de acetogénesis, los ácidos y alcoholes que provienen de la acidogénesis se van transformando por la acción de bacterias en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. Las bacterias acetogénicas sintróficas son las

encargadas de convertir los productos finales de la etapa acidogénica en acetato a partir de dos rutas: deshidrogenación acetogénica e hidrogenación acetogénica.

2.7.2.4. Metanogénesis.

La metanogénesis, última etapa, consiste en la transformación bacteriana del ácido acético a metano y del ácido fórmico en dióxido de carbono, y la formación de metano a partir de dióxido de carbono e hidrogeno.

2.8. Mecanismos de transferencia de electrones.

Sengodan y Hays (2012), definen la transferencia extracelular de electrones como el proceso en el cual los electrones derivados de la oxidación de compuesto orgánicos son transferidos a la superficie externa de la célula para reducir un aceptor terminal de electrones. En una CCM la transferencia de electrones, por bacterias, desde los sustratos a los electrodos se da principalmente por dos vías, ya sea por vía directa o indirecta, como se desarrollan a continuación.

2.8.1. Transferencia de electrones directa.

Existen varios microorganismos exoelectrógenos (ej. *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *G. metallireducens* y *Rhodospirillum rubrum*) que transfieren electrones desde dentro de la célula a aceptores exteriores, vía citocromos y pilis de alta conductividad. Estas bacterias tienen alta eficiencia eléctrica y pueden formar biofilamentos en la superficie del ánodo que transfieren electrones directamente dando como resultado mayor producción de energía (Sengodan y Hays, 2012).

2.8.2. Transferencia de electrones por mediadores artificiales.

En este mecanismo, los electrones portados por los microorganismos son transportados hacia la superficie del electrodo por mediadores agregados. Cabe señalar que un mediador es un compuesto que entra a la célula, acepta los electrones que se encuentran dentro y sale de la célula para donar los electrones. Estos mediadores proveen una plataforma para los microorganismos al generar actividad electroquímica reduciendo productos. Las bacterias *Echerichia coli* son ejemplo de aquellas que no pueden transferir electrones fuera de la celda. (Sengodon y Hays, 2012).

Los buenos mediadores deben poseer las características de atravesar la membrana celular fácilmente, tomar los electrones a partir de la cadena transportadora, poseer una alta velocidad de reacción con el electrodo, tener buena solubilidad en el anolito y no ser toxico para los microorganismos. La mayoría de los mediadores son sintéticos como: azul de metileno, rojo neutro, azul de meldola, tionina y derivados de la fenotiazina (Du Z. *et al.*, 2007; Yong y Kim, 2008).

2.9. Biopelículas.

En la naturaleza la mayoría de los microorganismos viven en comunidades de limo llamadas biopelículas, son comunidades sésiles y embebidas en una matriz de exopolisacáridos (sustancias poliméricas extracelulares producidas por las bacterias) o glicocálix, adheridos a un tejido vivo o inerte. Por lo tanto las biopelículas no son simples capas de limo sino un sistema biológico complejo y funcional. Las bacterias coordinan sus actividades y se agrupan en comunidades gracias a la detección de autoinducción lo que les permite obtener beneficios

similares a los de los organismos pluricelulares. Dentro de esta comunidad las bacterias pueden compartir nutrientes y refugiarse para evitar factores nocivos del ambiente, y la gran proximidad de los microorganismos podría facilitar la transferencia de información genética. La capacidad de formar biopelículas no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos, se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formarlas (Nazar J., 2007; Tortora *et al.*, 2007).

2.10. Composición y arquitectura de la matriz extracelular (MEC).

La MEC es considerada como un hidrogel que está constituida por exopolisacáridos (EPS) sintetizados por los microorganismos integrantes de la biopelícula y sustancias poliméricas extracelulares (SPE), como proteínas, ácidos nucleicos y diversos productos que proceden de la lisis bacteriana. El ADN extracelular ayuda a la adhesión microbiana y aumenta la versatilidad genética del consorcio. La producción de EPS es influida por la calidad nutricional del medioambiente. Se ha observado que un incremento en la concentración de nutrientes esta correlacionada con un aumento en el número de células bacterianas adheridas. Además, una disponibilidad excesiva de carbono y/o limitación de nitrógeno, potasio o fosfato promueve la síntesis de EPS (Nazar J., 2007).

Loera, *et al* (2012) enfatizan que la arquitectura de la matriz no es sólida, las bacterias se extienden en torreonos celulares en forma tridimensional a la cual están adheridas formando tejidos. Las bacterias que le componen no se dividen en su interior por lo que se les podría atribuir el hecho de adoptar un fenotipo alterado, diferente al de la misma bacteria en estado de libre flotación.

2.11. Características fisicoquímicas de los sustratos que influyen en el desarrollo de biopelículas.

Es importante que se analicen las características del sustrato, ya que son determinantes para la primera etapa de crecimiento microbiano que se da en la formación de una biopelícula, presentando relación con la adsorción de compuestos orgánicos. Las características del sustrato influyen en la unión de microorganismos; las bacterias tienden a unirse a las superficies hidrófilas, lo que significa que prefieren superficies de alta energía como lo es el acero inoxidable. Cuando la energía superficial de la bacteria es superior a la del sustrato, la hidrofilia es favorecida y hay una mayor adhesión. Sin embargo, cuando el sustrato es revestido por una película proteica, éste puede generar un efecto amortiguador, enmascarando los efectos del material. Por otra parte estudios han demostrado que las bacterias se retienen mejor en superficies rugosas, las grietas superficiales proveen mayor área para la adhesión de microorganismos. La disponibilidad de nutrientes en el sustrato de manera que niveles bajos de fosfatos estimulan el desarrollo de películas, asimismo el tipo de azúcares disponibles influyen en esta formación como lo son la trehalosa y la manosa (Diaz, 2011).

El desarrollo de biopelículas se favorece tanto por las características del sustrato como por las de la superficie celular de los microorganismos, por ello no está de más mencionar que hay células que poseen flagelos, pili, proteínas de adhesión y cápsulas que también ejercen influencia. Los pili actúan como un velcro para anclar las bacterias a algunas superficies y son caracterizados como quimiorreceptores (AESAN, 2010).

2.12. Etapas del proceso de formación de la biopelícula.

El proceso de formación de una biopelícula (Figura 2.5) inicia con la adherencia de una bacteria individual sobre la superficie, para posteriormente tener una etapa de bipartición y agregación de células. Durante esta primera fase, el sustrato tiene que ser adecuado para la adsorción reversible y, finalmente la adhesión irreversible de la bacteria.

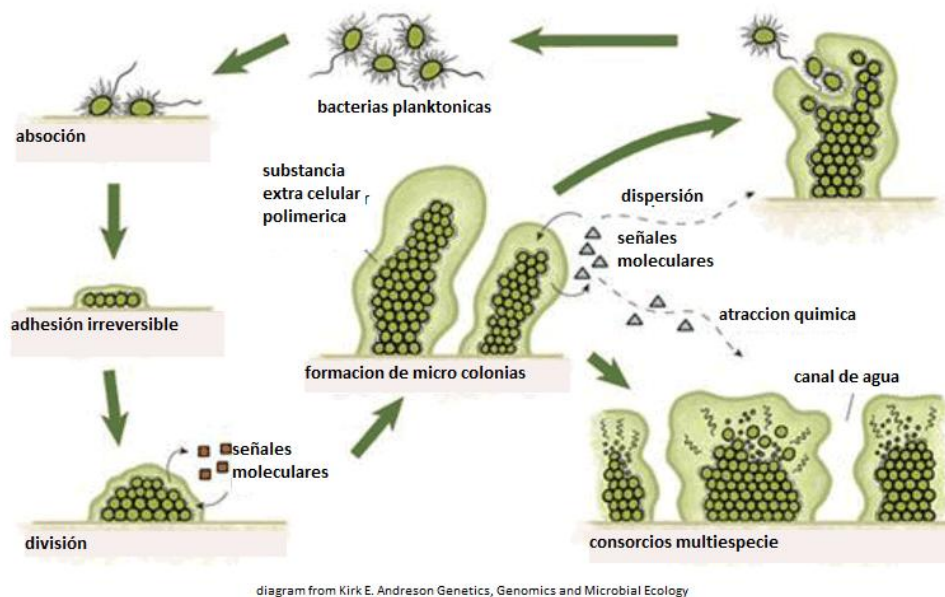


Figura 2.5. Proceso de formación de biopelículas en un gráfico cíclico (American Scientist, 2006).

Diaz (2011), especifica que la adsorción de la materia orgánica presente en el agua sobre la superficie, es también conocida como “película acondicionante” y torna una superficie más amigable para la adhesión reversible bacteriana; esta puede ser de tipo activa mediante flagelos, fimbrias o pilis, como también puede ser pasiva dándose por factores externos como la gravedad. Ya en una adhesión irreversible se involucran otras estructuras poliméricas como los EPS.

La capacidad de la bacteria para realizar este ataque inicial depende de los factores ambientales como la temperatura y el pH, y de factores genéticos que codifiquen las funciones motrices, las adhesinas y otras proteínas. Las bacterias, una vez percibida una superficie, proceden a formar una unión activa vía apéndices, como fimbrias o flagelos. Las bacterias de las biopelículas viven en sociomicrobiología donde se favorece el crecimiento, reproducción, estabilidad estructural, difusión de sustancias y reserva de energía.

En bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*) se ha visto que los flagelos son importantes para la adherencia primaria (Figura 2.6). La motilidad parece que ayuda a la bacteria a alcanzar la superficie y contrarrestar las repulsiones hidrofóbicas. Sin embargo, aunque la motilidad ayude al proceso, esta no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias Gram positivas inmóviles (estreptococos) son capaces de formar biopelículas, mediante la participación de proteínas de la superficie (AtIE) (Bonilla, 2007).

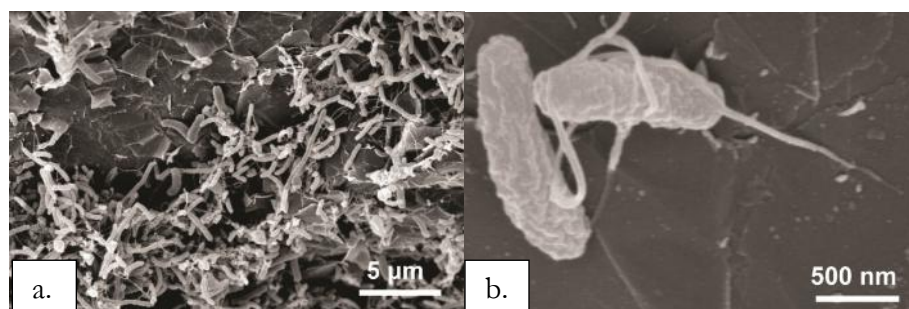


Figura 2.6. a). Colonización de la espuma de poliuretano recubierta de grafito. b). Acercamiento de identificación de la biopelícula (*E. Coli*) (Xie X. *et al.*, 2012).

Durante la segunda etapa, hay una redistribución de bacterias, la bacteria comienza a dividirse por fisión binaria y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando microcolonias en una monocapa, mientras tanto las células se diferencian transformando su comportamiento y dan lugar a la compleja

arquitectura de la biopelícula presentando canales y poros (Figura 2.7). El más evidente de estos cambios es la producción de la matriz de exopolisacáridos que cementan a todo el conjunto y dentro del cual se lleva a cabo la maduración de las colonias (Bonilla, 2007).

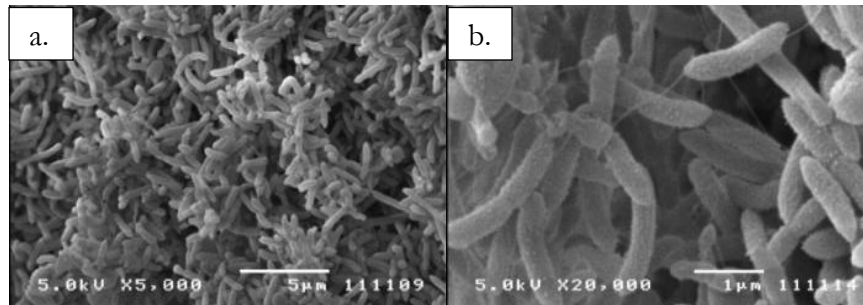


Figura 2.7. a). Adhesión irreversible de *Geobacter sulfurreducens* a la superficie del electrodo. b). Acercamiento a la biopelícula (Richter *et al.*, 2007).

La composición del exopolisacárido es diferente en cada tipo de bacteria y condiciones ambientales, por ejemplo, la *V. Cholerae* produce un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa, mientras que la *P. Aeruginosa* produce alginato (Lasa *et al.*, 2005).

Ya en una tercera etapa, cuando la biopelícula ha alcanzado la madurez, algunas células, ya sea aisladas o en conglomerados bacterianos, se liberan de la matriz para poder colonizar nuevas superficies, cerrando el proceso de formación y desarrollo de la biopelícula. Hay tres mecanismos de desprendimiento: la erosión, que es una remoción continua; la separación, que es una remoción rápida y masiva; la abrasión, que libera partículas por colisión del líquido con la biopelícula (Nazar, 2007).

2.13. Percepción de Quórum.

Los microorganismos han desarrollado sofisticados mecanismos de comunicación denominados en conjunto “Quórum”, este mecanismo depende de la densidad celular, donde se utiliza la emisión de diversas moléculas químicas como la acil homoceril lastona (AHL) y la presencia de uno o más autoinductores, logrando así la expresión coordinada de genes de respuesta. Lo que les permite detectar y responder a las condiciones ambientales, incluyendo estímulos como los cambios de temperatura, la disponibilidad de nutrientes, presión, oxígeno y pH. A su vez que determinan la densidad de población en el consorcio microbiano (Loera *et al.*, 2012).

Entre las bacterias, este mecanismo de comunicación les permite regular procesos importantes como la formación de biopelículas, la producción de metabolitos secundarios y mecanismos de resistencia ante el estrés. Tales fenómenos se llevan a cabo a través de mecanismos de autoinducción de señales químicas presentes tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas (Galeano *et al.*, 2013).

2.14. Metabolismo de las biopelículas.

Al aumentar el número de organismos adheridos, éstos trabajan como un consorcio estableciendo diferentes rutas metabólicas. Conforme la población fototrófica declina, aumenta la actividad catabólica de las bacterias heterotróficas sésiles que tienen la capacidad de incorporar y metabolizar la materia orgánica a través de secreción de enzimas que hidrolizan los sustratos liberados por la materia orgánica disuelta. Las bacterias fermentadoras inician el catabolismo, liberando diversos ácidos y alcoholes que son rápidamente utilizados como sustratos para las bacterias acetogénicas (Sánchez y Torres, 2005).

2.15. Protones en la biopelícula.

La oxidación de la materia orgánica produce tanto protones como electrones. Los electrones son removidos casi instantáneamente a través de la biopelícula y el circuito eléctrico de la CCM. Los protones tienen que migrar fuera de la biopelícula y después hacia el cátodo. Esto ocurre a un ritmo mucho más lento y puede causar una baja en la producción de energía. Por cada electrón producido en forma de corriente, también se produce un protón dentro de la biopelícula. La producción de corriente por los microorganismos en la CCM causa un aumento de diez veces la concentración de protones (Franks y Nevin, 2010).

CAPITULO III

METODOLOGÍA

En la fase experimental se evaluó el desempeño electroquímico de tres tratamientos, correspondientes a la modificación secuencial del material anódico de las CCM. Los tratamientos fueron los siguientes: T₁ Espuma de Poliuretano (PU), T₂ Espuma de Poliuretano recubierta con Grafito aerosol (PU/Grafito) y T₃ Espuma de Poliuretano recubierta con Grafito aerosol y polipirrol (PU/Grafito/Ppy). Para ello se ensamblaron tres celdas de combustible microbianas modelo "H", separando los compartimentos de la celda con una membrana de intercambio protónico Nafion 117. En el compartimento anódico se aplicó agua residual doméstica como sustrato mientras que en el compartimento catódico se utilizó una solución de K₃[Fe(CN)₆] al 0.05 M como aceptor de electrones. Se aplicó una resistencia externa de 1000 Ω

Todas las muestras de agua residual municipal empleadas en esta metodología, fueron obtenidas de la planta de tratamiento de agua residual municipal (PTARM) del Gran Bosque Urbano Ejercito Mexicano, Saltillo, Coah.

3.1. Estrategia experimental.

El experimento se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, la fase metódica consistió en cinco etapas, abarcando desde la producción de los electrodos hasta la optimización de la CCM, como se enumeran a continuación:

ETAPA 1. Producción de electrodos anódicos y catódicos.

ETAPA 2. Cinética de remoción biológica.

ETAPA 3. Acondicionamiento de materiales y armado de CCM.

ETAPA 4. Inoculación y Operación de las CCM.

ETAPA 5. Ciclo de optimización.

3.2. ETAPA 1. Producción de electrodos anódicos y catódicos.

3.2.1. Obtención de material primario para preparación de tratamientos.

Se recortaron veinticuatro recuadros de 9 cm² de espuma de poliuretano los cuales se acondicionaron de la siguiente manera: las piezas se colocaron en un recipiente con agua destilada para ser lavados, se exprimieron para retirar el contenido de agua y se sumergieron en acetona, posteriormente se extrajeron y fueron colocados en charolas de aluminio, previamente identificadas, para secarlos en estufa a 80 °C por 45 min, después se pusieron en el desecador a enfriar por 15 min. Se registró el peso inicial de cada pieza empleando una balanza analítica W_0 .

3.2.2. Recubrimiento con grafito aerosol.

Los electrodos se identificaron de acuerdo a los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 , de manera que los correspondientes a T_2 y T_3 fueron recubiertos con grafito aerosol de la siguiente forma: se extendieron los electrodos en aluminio con etiquetas de identificación y se recubrieron con grafito en aerosol en todas sus caras, se pusieron a secar en estufa a 80 °C por 30 min, posteriormente se elevó la temperatura a 90 °C por 30 min más. Pasado el tiempo de secado, se extrajeron los electrodos de la estufa y se colocaron en el desecador por 15 min. Finalmente las piezas fueron pesadas de nuevo. Los datos se registraron en la bitácora como $W_{Grafito}$.

3.2.3. Polimerización química.

Los electrodos correspondientes a T3 se sometieron a un recubrimiento con el polipirrol monómero (C_4H_5N). La polimerización química consistió en la preparación de una solución de 0.25 g de C_4H_5N con 100 mL de agua destilada, que se colocó en una parrilla de agitación continua, para posteriormente colocar los electrodos, previamente hidratados con agua destilada, agitando por 1 h. Se realizó una segunda solución, para la cual se requirieron 2.32 g de $FeCl_3 + 6H_2O$ con 5 g de agua destilada, agregando esta solución a la anterior y dejando reaccionar por 1 h más.

Al finalizar la reacción, se extrajeron los electrodos y se enjuagaron con agua destilada. Se secaron en una estufa a 80 °C por 1h, se colocaron en el desecador por 20 min. Se tomó el peso final de las piezas, dato que se identifica como W_{PPy} .

3.2.4. Cálculos de adhesión.

Una vez obtenido el peso de los tratamientos T_2 y T_3 , se realizaron los cálculos del porcentaje de adhesión para cada uno de los materiales. Las ecuaciones empleadas fueron las siguientes:

Ecuación 1.1. Porcentaje de adhesión de grafito aerosol ($\%Ad_{Graf}$).

$$\%Ad_{Graf} = \frac{W_{Graf} - W_0}{W_{Graf}} 100$$

Ecuación 1.2. Porcentaje de adhesión de polipirrol (%Ad_{PPy}).

$$\%Ad_{PPy} = \frac{W_{PPy} - W_{Graf}}{W_{PPy}} 100$$

Donde:

W_0 es el peso inicial.

W_{Graf} es el peso del electrodo con grafito aerosol.

W_{PPy} es el peso del electrodo con polipirrol.

3.3. ETAPA 2. Cinética de remoción biológica.

La cinética de remoción biológica corresponde a un monitoreo en reactores batch, de la degradación del sustrato por los microorganismos.

3.3.1. Acondicionamiento de electrodos con lodo anaerobio y agua residual doméstica.

Los electrodos se sometieron a un acondicionamiento para generar una biopelícula microbiana. Se procedió de la siguiente manera: se prepararon seis reactores batch de 250 mL, correspondiendo a los tres tratamientos con dos repeticiones cada uno, se etiquetaron los reactores y en su interior se colocaron los electrodos, hidratados previamente con agua destilada. Posteriormente se alimentaron con 40 mL de lodo anaerobio granular macerado y 100 mL de agua residual municipal filtrada, se sellaron con parafilm para dejar reaccionar por 15

días (Figura 3.1), dentro de este periodo cada 48 h el contenido del reactor era homogenizado con suaves movimientos.



Figura 3.1. Reactores batch de acondicionamiento.

3.3.2. Preparación de reactores batch para la cinética de remoción biológica.

Se extrajeron los electrodos de los reactores de acondicionamiento, se enjuagaron ligeramente con agua destilada, de manera que no se removiera la biopelícula generada en el acondicionamiento. Estos electrodos se colocaron en los reactores batch (Figura 3.2), alimentados con 200 mL de agua residual doméstica cruda como sustrato, se les colocaron sus tapas y fueron sellados con parafilm, se homogenizo el contenido con ligeras agitaciones. Reaccionaron por 10 días a 24°C, empleando una incubadora “Hach modelo 205”, muestreando cada 4 días a partir del segundo día de reacción.



Figura 3.2. Reactores batch cinética de remoción biológica.

3.3.3. Extracción de muestras para DQO.

Para obtener la cinética de remoción biológica fue necesario muestrear los reactores batch para la determinación de Demanda Química Oxígeno (DQO). Los muestreos se realizaron agitando el contenido del reactor y reposando por 5 min, con el reactor en una inclinación de 45 ° sin mover los sedimentos, se introdujo la jeringa por los engomados de la tapadera del reactor, se extrajeron 6 mL de agua residual por cada reactor, y se colocaron en tubos de vidrio.

Las muestras se tomaron al llenar los reactores (día 0) y a los días 2, 6 y 10 de reacción para tener un historial progresivo.

3.3.4. Determinación de la Demanda Química Oxígeno (DQO).

La DQO expresa la cantidad de materia orgánica e inorgánica que se encuentra susceptible de ser oxidada por un oxidante fuerte, en un cuerpo de agua, como lo es el sustrato de esta experimentación. Se determinó la DQO con el método de espectrofotometría, también conocido como de circuito abierto o HACH, que emplea dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como el oxidante fuerte. Se

procedió de la siguiente manera: se precalentó el digestor a 150 °C, mientras las muestras tomadas de los reactores de cinética se centrifugaban a 3000 RPM durante 3 min. Se etiquetaron los tubos correspondiendo a los tratamientos en una doble repetición. Posteriormente se tomaron 2.5 mL de cada muestra y se colocaron en los tubos Hach, a continuación se agregó 1.5 mL de dicromato de potasio y 3.5 mL de ácido sulfúrico/sulfato de plata de igual manera se prepararon dos blancos con agua destilada. Listo el digestor se introdujeron las muestras y los blancos, dejando reaccionar por 2 h. Al término se extrajeron los tubos y se pusieron a enfriar en gavetas sin iluminación por 15 min. Ya fríos se llevaron al espectrofotómetro (Figura 3.3), el cual se calibro con la lectura de los dos blancos a una longitud de onda única de 600 nm en espectro visible. Con la misma configuración se leyeron las muestras, por triplicado y finalmente promediando los resultados.



Figura 3.3. Determinación de DQO.

3.3.5. Calculo del porciento de remoción biológica.

Para conocer el valor de remoción de materia orgánica, se procedió a calcular el porciento de remoción biológica con la ecuación 1.3.

Ecuación 1.3. Porcentaje de remoción biológica.

$$\% \text{ Remocion} = \frac{DQO_i - DQO_p}{DQO_i} * 100$$

Donde:

DQO_i es la lectura inicial.

DQO_p es la lectura promedio.

3.3.6. Producción de Biomasa.

Una vez finalizada la cinética de remoción se extrajeron los electrodos de los reactores y se enjuagaron ligeramente con agua destilada, posteriormente se colocaron en crisoles, previamente identificados y tarados ($W_{o_{crisol}}$). Los crisoles se llevaron a la estufa de secado a 80 °C por 24 h para remover la humedad. Al término del secado se extrajeron las muestras y se enfriaron en el desecador para después obtener su peso, identificado como $W_{f_{crisol}}$.

Para calcular la biopelícula formada se empleó la ecuación 1.4 donde el valor nombrado como $w_{f_{electrodo}}$ corresponde al peso de los electrodos antes de la cinética.

Ecuación 1.4. Biopelícula ($T\delta\delta$).

$$Biopelicula(T\delta\delta) = W_{f_{crisol}} - W_{o_{crisol}} - W_{f_{electrodo}}$$

Con el valor de biopelícula se calcula el peso de la biomasa producida sobre el electrodo, aplicando la ecuación 1.5.

Ecuación 1.5. Biomasa.

$$Biomasa [g/g] = \frac{T\delta\delta}{Wf_{electrodo}}$$

3.4. ETAPA 3. Preparación de Material y Armado de las CCM.

3.4.1. Acondicionamiento de membranas de intercambio protónico.

El acondicionamiento de las membranas de intercambio protónico consistió en hervir las membranas en H₂O₂ al 30 % durante 1h, al término se hirvieron en agua destilada por 1h, posteriormente se hirvieron en una solución de H₂SO₄ a una concentración de 0.5 M por 1h y una vez más se hirvió en agua destilada por 1h, para retirar el ácido (Mansoorian *et al.*, 2016) La membrana se conservó hidratada en agua destilada hasta ser colocada en el sistema.

3.4.2. Ensamblado de electrodos.

Los electrodos fueron montados en varillas de acero inoxidable, fijados con tornillería del mismo material. La configuración correspondió a tres electrodos por varilla en cada tratamiento, obteniendo un área total por electrodo de 27 cm². Las estructuras para cátodos emplearon únicamente electrodos de grafito, mientras que los ánodos fueron de PU, Grafito y PPy, a según los tratamientos.

3.4.3. Solución aceptora de electrones.

Para alimentar la cámara catódica de las celdas se preparó una solución de ferricianuro de potasio 0.05 M, empleando 4.1155 g de $K_3[Fe(CN)_6]$ por cada 250 mL de agua destilada.

3.4.4. Armado de las CCM.

Se armaron tres CCM de doble compartimento modelo "H" (Figura 3.4) a partir de tubería de PVC con un diámetro de 1", las cámaras eran dos "T" reducidas c/u con un volumen de 100 mL, a 13 cm de separación entre ambas, conectadas por un juego de adaptadores que sostenían la membrana de intercambio protónico (Nafion 117). Se etiquetaron las celdas y se colocaron los ánodos y cátodos según el tratamiento analizado.

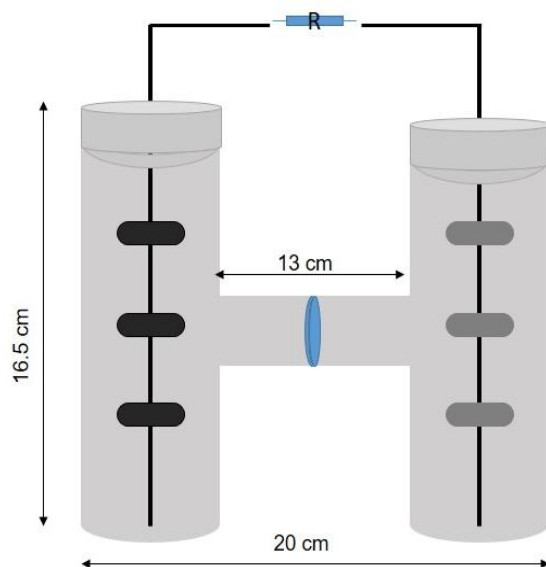


Figura 3.4. Esquema de la CCM modelo H.

Por último se alimentaron las cámaras, colocando como sustrato en la cámara anódica 100 mL agua residual domestica filtrada de la PTARD del Gran Bosque Urbano Ejercito Mexicano de la ciudad de Saltillo, Coah. En la cámara catódica se vertieron 100 mL de la solución de $K_3[Fe(CN)_6]$.

3.5. ETAPA 4. Inoculación y operación de las CCM.

Se realizó una cinética de producción eléctrica con cuatro ciclos de siete días, de los cuales los dos primeros se aplicaron como inoculación. Cabe mencionar que en cada ciclo se reemplazó el sustrato y la solución de $K_3[Fe(CN)_6]$.

Para evaluar el trabajo de las celdas, al inicio de cada ciclo se realizó una lectura de voltaje en circuito abierto (CA) la cual de acuerdo con Logan *et al.*, 2006 debe acercarse a la fuerza electromotriz de la celda, sin embargo suele ser considerablemente inferior a esta, debido a varias pérdidas potenciales. Las demás lecturas se aplicaron en circuito cerrado con una resistencia externa de 1000Ω en intervalos de 12 h reportando los valores respecto al voltaje generado.

3.5.1. Caracterización eléctrica las de CCM.

El desempeño eléctrico de las CCM se estudió a partir de las mediciones de voltaje (V), Corriente (A), Densidad de potencia ($mW.m^{-2}$) y eficiencia coulombica (%). De la misma forma se estudió la curva de polarización de la celda variando la resistencia externa en una serie de 1 a 100000Ω con un total de 13 resistencias, para con ello identificar la resistencia que se semejara a la resistencia interna.

3.5.2. Voltaje (V).

La tensión eléctrica o voltaje, es la magnitud física que en un circuito eléctrico que impulsa el movimiento de los electrones a lo largo del conductor. Se midió de manera directa con un multímetro auto rango RMS (MUL-630).

3.5.3. Corriente eléctrica (A).

Es el movimiento de electrones a través del circuito eléctrico externo, moviéndose de polo negativo a polo positivo. De manera que se expresa como el flujo de carga eléctrica que existe en la CCM por unidad de tiempo.

Ecuación 1.6. Corriente Eléctrica (A).

$$A = \frac{V}{R_{externa}} = \Delta$$

Donde:

V es un valor de voltaje.

$R_{externa}$ es igual al valor de la resistencia externa en ohm.

3.5.4. Densidad de potencia (DP).

Descrita como la cantidad de energía generada por unidad de área del electrodo anódico (mW/m^2), también calculada por unidad volumétrica del sustrato (mW/m^3).

Ecuación 1.7. Densidad de Potencia (DP).

$$DP = \frac{(V)^2}{A_{electrodo} * R_{externa}} = \frac{mW}{m^2}$$

Donde:

V es un valor voltaje.

A es el área total de los electrodos.

3.5.5. Eficiencia Coulómbica (EC).

Esta representa la fracción de electrones recuperados como electricidad a partir del sustrato removido, y que son transferidos al ánodo. Para su cálculo se empleó la ecuación 1.8.

Ecuación 1.8. Eficiencia Coulómbica (EC).

$$\epsilon C b = \frac{M \int_0^t dt}{F b V_{an} \Delta D Q O} * 100$$

Donde se aplicaron las siguientes constantes:

F es la constante de Faraday = $96485 \text{ C/mol} \cdot \bar{e}$

b es el valor constante de los electrones intercambiables = $4 \bar{e}$

M es el peso molecular del oxígeno diatómico = 32 g/mol

V_{an} es la variable del volumen del compartimento anódico = $0.1L$

3.6. ETAPA 5. Ciclo Optimización.

Una vez identificado el T_3 como el de mayor potencia generada, este fue sometido a un ciclo de optimización. Donde una vez determinada la resistencia optima a la que trabaja el sistema, se colocó en el circuito externo y se realizaron

los cálculos pertinentes: **a.** Tensión eléctrica. **b.** Densidad de potencia. **c.** Porcentaje de remoción de materia orgánica. **d.** Eficiencia coulombica.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Para este apartado se analizaron, los resultados obtenidos en el cálculo de los parámetros de caracterización de las CCM antes descritos, de manera que se logró crear un estado comparativo del desempeño electroquímico, de los materiales que conformaron los tres tratamientos. Aceptando la hipótesis antes planteada.

4.1. Adhesión de materiales.

La Tabla 4.1 muestra el porcentaje que se logró adherir de los materiales; grafito en aerosol y polipirrol a la espuma de poliuretano.

Tabla 4.1. Porcentaje de Adhesión de Materiales

| Tratamiento | % Ad _{GRAFITO} | % Ad _{PPY} |
|-------------|-------------------------|---------------------|
| T1 | | |
| T2 | 37.70574 | |
| T3 | 43.64182 | 21.88273 |

Al presentar el grafito una conductividad eléctrica metálica favoreció la adhesión del polipirrol electropositivo, formando así un compuesto de intercalación, lo que puede resultar en un incremento en la conductividad del T₃. Además de que el polipirrol se estructura de largas cadenas que pueden penetrar la membrana de la célula bacteriana y tomar directamente los electrones de la vía metabólica.

4.2. Producción de Biomasa.

Es importante recordar que la generación de biopelícula sobre la superficie de los electrodos, es directamente afectada por las características fisicoquímicas que estos presentan. La Tabla 4.2 muestra la generación de biomasa en la superficie de los electrodos, donde T₁ presenta 0.1014 g.g⁻¹ de biomasa, siendo el de mayor producción, lo que es aceptable ya que la literatura refiere que materiales compactos como las espumas, poseen mayor área superficial por su gran cantidad de poros.

Tabla 4.2. Producción de biomasa en los electrodos sintetizados

| Tratamientos | T1 | T2 | T3 |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|
| Biomasa (g/g) | 0.1014 | 0.0756 | 0.0730 |

Los resultados obtenidos en los tratamientos T₂ y T₃ se debieron a la pérdida del espacio poroso en la superficie del electrodo, lo que es común en este tipo de tratamientos. Yong Y. y S. Kim (2008) produjeron electrodos de papel carbón polimerizados con polipirrol, donde este último ocupó gran parte del espacio libre entre las fibras de carbón como se puede observar en la Figura 4.2. A su vez los materiales modificaron la carga eléctrica del electrodo, el grafito puede incorporar a sus laminas compuestos tanto electronegativos como electropositivos, mientras que el polipirrol está positivamente cargado. Lo anterior favoreció a que bacterias con grandes cantidades de lipopolisacáridos, como podría ser la *E. Coli* (Gram negativa), se adhirieron a la superficie del electrodo T₃ PU/Grafito/PPy generando mayor conducción de electrones al ánodo.

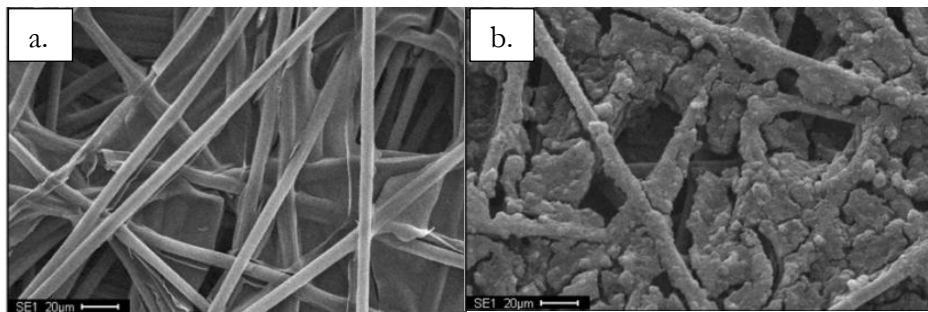


Figura 4.1. a.) Papel carbón. b.) Papel carbón con polipirrol.

4.3. Remoción biológica de la DQO.

La DQO es un parámetro importante en la caracterización de las CCM ya que permite observar la evolución del contenido de materia orgánica e inorgánica en el sustrato, y permite analizar la oxidación del mismo a través de un tiempo determinado. La Figura 4.1 muestra el comportamiento de la DQO durante el muestreo de las celdas para los tres tratamientos, donde es notorio que las CCM T_1 y T_2 llegaron a tener un comportamiento similar a partir del segundo tiempo de muestreo, mientras T_3 logro tener valores altos de degradación donde la DQO oscilo entre los 873.66 a 478.66 mg.L^{-1} . Esto a pesar de los resultados de la escasa producción de biopelícula, refiriendo a que las bacterias en este electrodo se encontraban metabólicamente más activas.

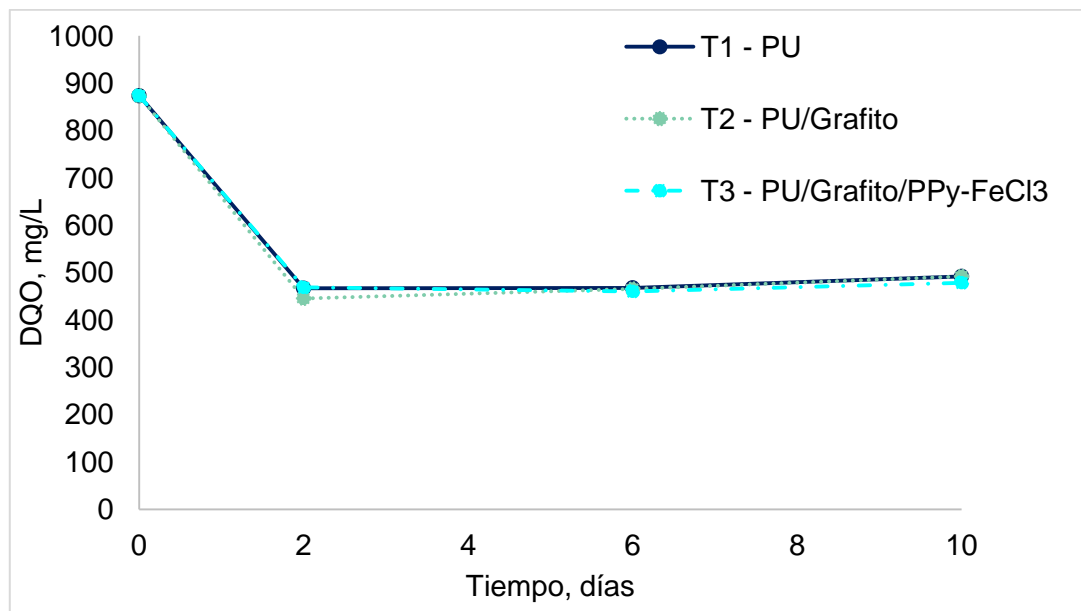


Figura 4.2. Remoción biológica de la DQO en los tratamientos analizados.

4.4. Caracterización eléctrica de las CCM.

La Figura 4.3 muestra el comportamiento voltaico de los tres tratamientos durante las 516 h de reacción, donde el voltaje máximo obtenido fue de 289 V correspondiente a la CCM T₃.

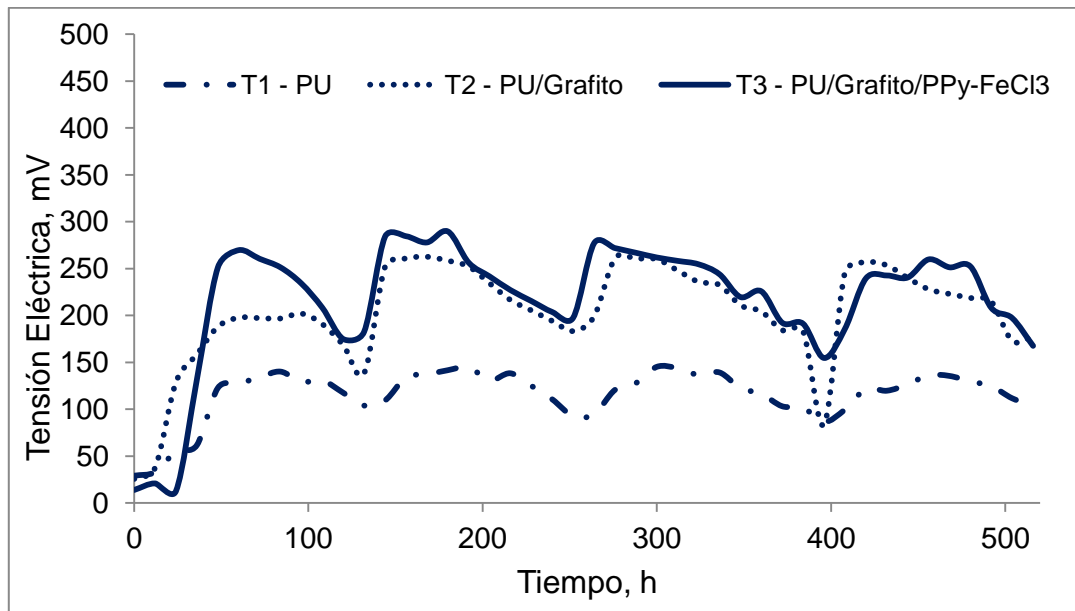


Figura 4.3. Voltaje generado por los tratamientos T₁, T₂ y T₃.

En la Figura 4.4 podemos observar marcados ciclos de reacción donde la potencia va en incremento y decae al alcanzar su valor máximo, esto en función a las pérdidas de activación del sistema y los contenidos de materia orgánica en el sustrato. En este caso la CCM T₃ alcanzo un valor máximo de potencia de 31.06 mW.m⁻² a las 180 h de reacción. Mientras que la CCM T₂ presentaba dramáticas caídas, alcanzando valores por debajo de los 3 mW.m⁻² que casi asemejarían a los valores de arranque. La CCM T₁ se mantuvo con baja potencia pero mostro una producción constante.

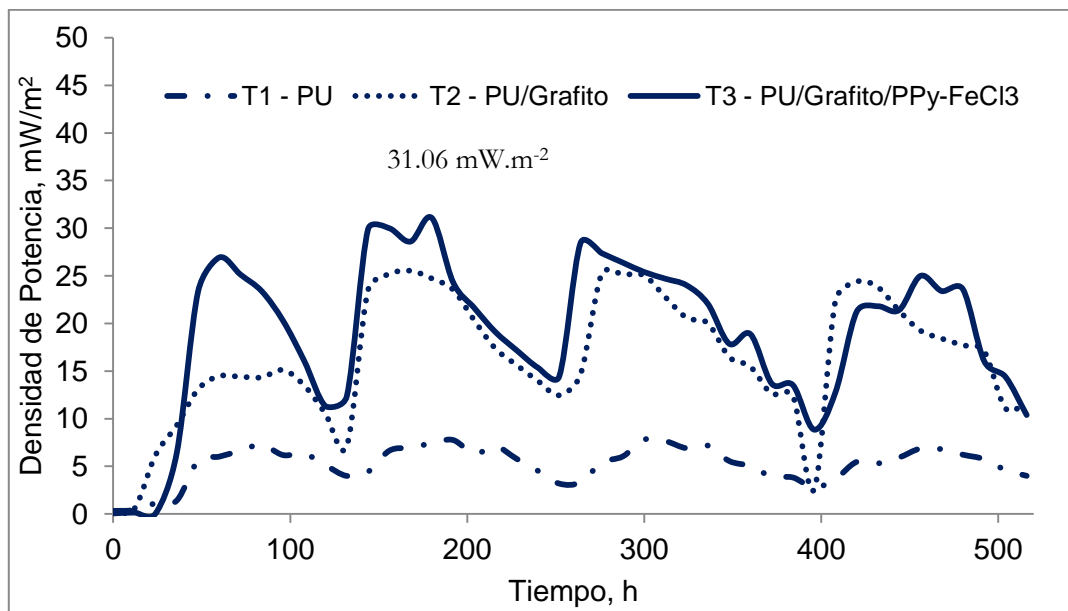


Figura 4.4. Comportamiento de los tratamientos T₁, T₂ y T₃ según la DP producida.

Xie X. *et al.*, (2014) evaluaron composites de espuma de poliuretano recubiertos con grafito en una CCM modelo “H” aplicando glucosa como sustrato, alcanzaron una densidad de potencia máxima de 27.7 W.m^{-3} con una resistencia de 180Ω , calculada con la curva de Nyquist. Cuyo resultado se encuentra por encima de lo que se obtuvo en este experimento con T₂ PU/Grafito cuyo valor máximo fue de 689.58 mW.m^{-3} a las 168 h de reacción. Lo anterior no logra comparación debido que 1 g.L^{-1} de glucosa posee una DQO de 1.4 g.L^{-1} , valor mayor a la del agua residual municipal empleada en este experimento.

4.5. Optimización eléctrica de la CCM T₃ PU/Grafito/PPy.

Al ser la CCM T₃ la que logró los máximos valores de voltaje y densidad de potencia, este fue sometido a un ciclo de optimización. La Figura 4.5 muestra la curva de polarización, donde la densidad de potencia máxima alcanzada fue de 0.432 mW.m^{-3} a una densidad de corriente de 1.549 A.m^{-3} con una producción de

0.278 V. A partir de la gráfica realizada se calculó la pendiente de la recta la cual se considera que es igual a la resistencia interna del sistema.

El valor calculado de la resistencia interna fue de 2484.80 Ω , misma que de ser aplicada en el circuito externo del sistema lo llevara a su máximo equilibrio. La resistencia de T₃ podría considerarse aceptable, ya que no existe tanta diferencia con valores calculados para sistemas más tecnificados que emplean nanotubos de titanio, cuyo valor de resistencia interna es de 1914.41 Ω y logran producir una potencia máxima de 12.13 mW.m⁻³ (Ortiz *et al.*, 2015).

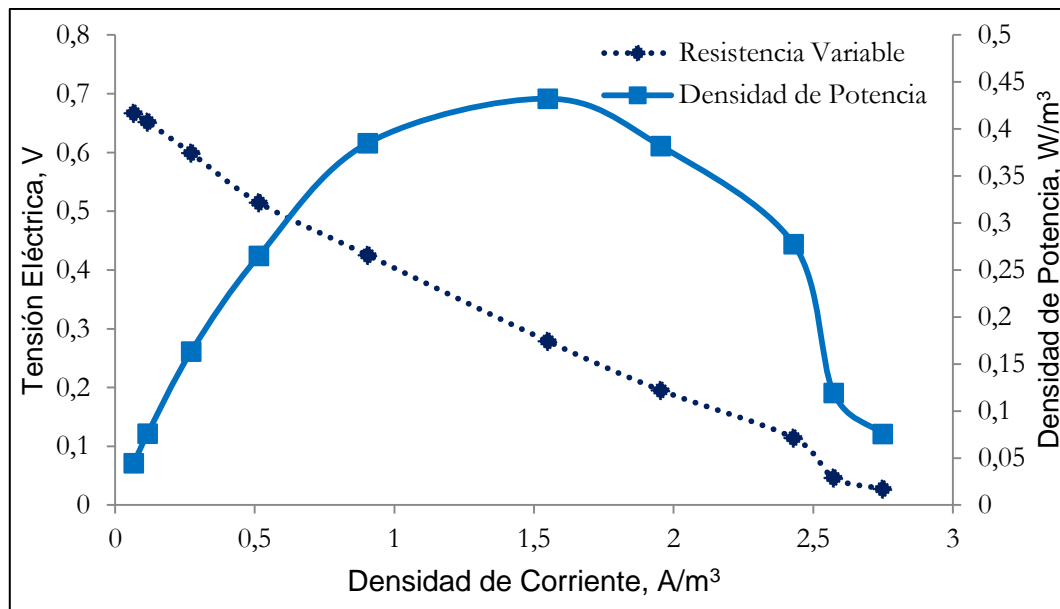


Figura 4.5. Curva de polarización para T₃ PU/Grafito/PPy.

***Metodo de resistencia variable de 1 a 100000 Ω .**

Al aplicar una resistencia externa de 2700 Ω la CCM T₃ consiguió un voltaje de 0.402V (Figura 4.6) con una densidad de potencia máxima de 22.31 mW.m⁻² (602.41 mW.m⁻³) a las 72 h de reacción (Figura 4.7).

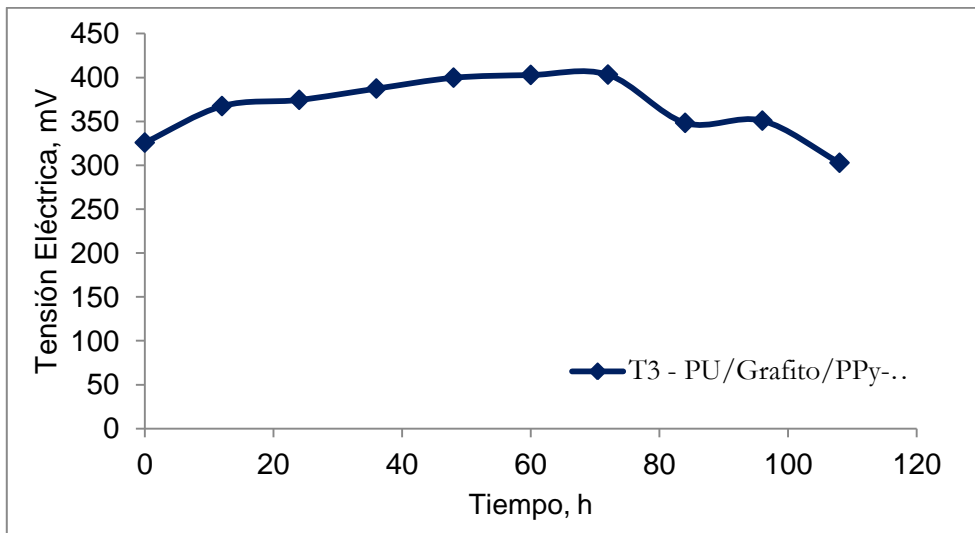


Figura 4.6. Comportamiento CCM T₃ en base al voltaje producido.

Autores como Domínguez *et al.*, (2013) han reportado una densidad de potencia menor a las alcanzada por T₃, aplicando sistemas de cámaras PEM, en serie y electrodos de carbón, alimentadas con agua residual sintética cuyo valores máximos de densidad de potencia obtenidos fueron de 325 y 97 mW.m⁻³ aplicando una resistencia externa de 1000 Ω.

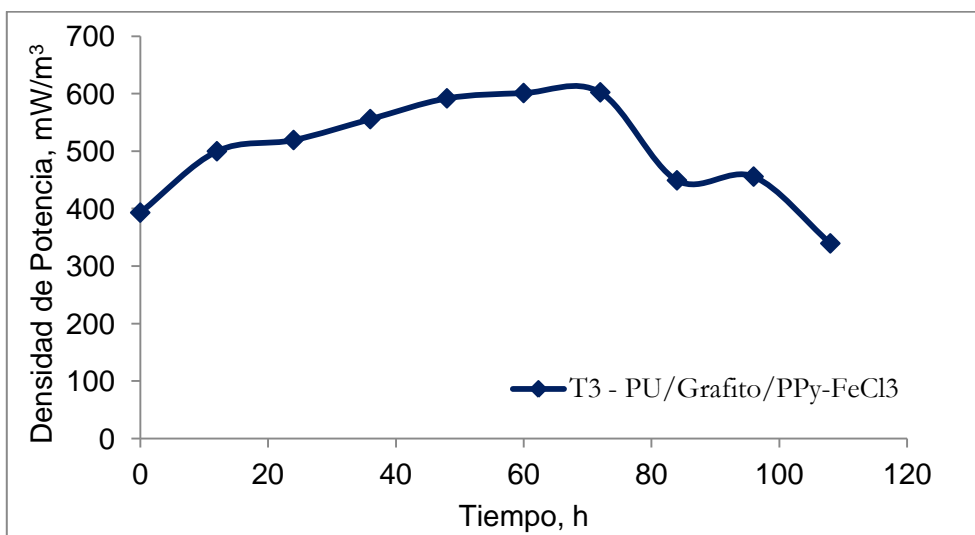


Figura 4.7. Comportamiento de T₃ según la Densidad de Potencia generada.

En la Tabla 4.3 se muestran diferentes modelos tecnológicos de CCM con sus respectivos valores máximos de densidad de potencia.

Tabla 4.3. Valores de Densidad de Potencia aplicando diferentes sustratos.

| Cámara | Ánodo | Cátodo | Sustrato | Resistencia Ω | DP mW/m^2 | Eficiencia coulómbica | Referencia |
|--------------------|---|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|--|
| DCCCM | Cepellón de grafito | De aire | Agua residual | 31 | 24000 | 60% | Logan B. <i>et al.</i> , 2007. |
| SCCCM | Papel carbón | Papel carbón con Pt | Acetato | 218 | 661 | 15% | Liu H. <i>et al.</i> , 2005. |
| DCCCM (Nafion 117) | Grafito superficie plana (950 cm^2) | Acuoso saturado de O_2 | Agua residual | 1000 | 48 | | Alzate-Gaviria L., <i>et al.</i> , 2010. |
| DCCCM | Grafito | Electrolito | BSR | 361 | 0.049 | | Villarreal A. <i>et al.</i> , 2005 |
| SCCCM | Carbón | De aire | Glucosa | 1000 | 262 | 40 | Liu H. and Logan B. 2004. |
| SCCCM | Carbón | De aire | Agua residual | 1000 | 28 | 28 | |
| ConMIP | | | Agua residual | 1000 | 146 | 146 | |
| SCCCM | Carbón | De aire | Agua residual | 1000 | 146 | 146 | |
| SCCCM | Grafito tela | Grafito | Agua residual domestica | | 264 | | Huang L. <i>et al.</i> , 2012. |
| SCCCM | Grafito | De aire | Agua residual | | 26 | 80 | Liu H., <i>et al.</i> 2004. |
| DCCCM | Cobre | Oro | Agua residual sintética | | 10.5 | | Kargi y Eker, 2007. |
| DCCCM | Fibras de carbón | Carbón | Agua residual | 300 | 830 | | Wen Q. <i>et al.</i> , 2010 |
| SCCCM | | | Agua residual urbana | 1000 | 13.2 mW/m^3 | 1.9 | Capodaglio <i>et al.</i> , 2013. |
| CCM (SEM) | Carbón tela | Papel carbón | Chitin 20 y Celulosa | 1000 | 64 | | Rezaei <i>et al.</i> , 2007. |
| DCCCM (Nafion 117) | Papel carbón | Papel carbón | Agua residual | 1000 | 45 | 7.2 | Min B., <i>et al.</i> 2005. |
| SCCCM | CNT/ Carbón tela | De aire | Agua residual | | 65 | 67 | Tsai Hung-Yin <i>et al.</i> , 2009. |
| SCCCM SEA | Fibra de grafito | De aire | Agua residual domestica | 1000 | 328 | 9-31 | Ahn Y. <i>et al.</i> , 2014. |
| SPA | Fibra de grafito | De aire | Agua residual | 1000 | 282 | 2-23 | |

CONCLUSIONES

Al analizar el desempeño electroquímico de los materiales anódicos, comunes y modificados, el polipirrol mostró gran adaptación para producir altos valores de densidad de potencia en comparación con el grafito. La modificación del electrodo con este polímero permitió la adhesión de microorganismos altamente activos e incremento la transferencia de electrones al ánodo, lo que genera una constante y mayor producción de energía eléctrica.

La CCM T₃ resulto ser un modelo muy eficiente, al obtener altos valores de voltaje y reducir un 33.5 % los contenidos de materia orgánica en el agua residual doméstica, con una eficiencia coulombica de 14.59 %. Por lo anterior se determinó su factibilidad para ser llevado a una escala planta piloto.

La adhesión de polímeros conductores a estructuras de bajo costo, empleadas como electrodos dentro de las CCM, podrían comenzar a revolucionar los diseños de estas, generando una mayor relación costo/beneficio en su aplicación a gran escala dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales. A su vez se estaría mejorando la disponibilidad de tecnologías alternas para la producción de energía renovable.

BIBLIOGRAFÍA

- AESAN.** 2010. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición en relación a los biofilms y su repercusión en la seguridad alimentaria. *Revista del Comité científico de la AESAN.* No.12. Pp 37-61.
- Ahn Y., M. C. Hatzell, F. Zhang and B. E. Logan.** 2014. Different electrode configurations to optimize performance of multielectrode microbial fuel cells for generating power or treating domestic wastewater. *Journal of Power Sources.* Vol. 249. Pp 440-445.
- Alzate-Galviria L., K. González, I. Peraza, O. García, J. Domínguez-Maldonado, J. Vázquez, Tzec-Simá y B. Canto-Canche.** 2010. Evaluación del desempeño e identificación de exoelectrónos en dos tipos de celdas de combustible microbianas con diferente configuración en el ánodo. *Interciencia.* Vol. 35. Pp 25.
- Arribas C. A.** 1991. Investigación de nuevos materiales conductores: polipirrol crecido en polímeros sulfonados. *Memoria grado Doctorado.* Universidad Complutense de Madrid. Madrid. Pp 140.
- Bonilla C. F.** 2007. Biofilms Bacterianos. *Monografía de Licenciatura.* Universidad de Veracruz. Xalapa, Veracruz. Pp 32.

- Bora** A. 2014. Microbial Fuel Cells as an alternative energy source: a comprehensive review. *Journal of international academic research for multidisciplinary*. Vol. 2. Pp 234-240.
- Buitrón** G. y J. Pérez. 2011. Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos. *Revista Especializada en Ciencias Químicas – Biológicas*. 14(1). Pp 5-11.
- Burgos** C. R. 2012. Evaluación electroquímica de materiales anódicos y su aplicación en celdas de combustible. *Tesis de Ingeniero Químico Industrial*. Facultad de ingeniería química, Universidad Autónoma de Yucatán. México. Pp 103.
- Capodaglio** A. G., D. Molognoni, E. Dallago, A. Liberale, R. Cella, P. Longoni and L. Pantaleoni. 2013. Microbial Fuel Cells for direct electrical energy recovery from urban wastewater. *The Scientific World Journal*. Article ID 634738. Pp 1-8.
- Das** S. and Mangwani N. 2010. Recent developments in microbial fuel cells: a review. *Scientific & Industrial Research*. Vol. 69. Pp. 727-73
- Diaz** C. 2011. Capítulo 1. Descripción de biofilms, desarrollo e importancia de su estudio. Impacto de las técnicas de micronanofabricación en sistemas biológicos. Pp 1-44.
- Domínguez – Maldonado**, O. García R., M. Aguilar V., M. Smit y L. Alzate G. 2014. Disminución de la capacidad de intercambio catódico en una pila de combustible microbiana y su relación con la densidad de potencia. *Revista Mexicana de Ingeniería Química A. C.* Vol. 13. Pp 527-538.

- Du Z.**, H. Li and T. Gu. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology form wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*. Vol. 25. Pp 464-482.
- Elías C. X.** y Bordas A., S. 2011. Energía, agua, medioambiente territorialidad y sostenibilidad. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid. España. Pp 349-352.
- Falcón A.**, J. E. Lozano y K. Juárez. 2009. Bioelectricidad. *BioTecnología*. Instituto de Biotecnología. UNAM. Vol. 13. Pp 65-67.
- Franks A.** and K. P. Nevi. 2010. Microbial Fuel cells, a current review. *Energies*. Vol.3. Pp 899-919.
- Feng Y.**, Wang X., Logan B. and Lee He. 2008. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *Journal Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 78. Pp. 873-880.
- Galeano A. S.**, S. González B. y R. Y. Ramirez R.2013. Quorum sensing: El lenguaje bacteriano. Pp1-18.
- IMTA.** 2013. Generación de energía eléctrica a partir del tratamiento de aguas residuales por medio de bioceldas. TC1314.1 Informe Final. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Morelos. México. Pp1-181.

INEGI. 2010. Balance Nacional de Energía y su relación con el Inventario Nacional de Emisiones. Realidad, Datos y Espacio. *Revista Internacional de Estadística*. Vol.10. No. 1. Pp 52-72.

Kargi F. y Eker S. 2007. Electricista generation with simultaneous wastewater treatment by a microbial fuel cell (CCM) with cu and cu–au electrodes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. VOL. 82. Pp 658–662.

Lasa I., J. L. del Pozo, J. R. Penadés y J. Leiva. 2005. Biofilms bacterianos e infección. Análisis del Sistema Sanitario de Nava. Vol.28. Pp 163-175.

Liu H., S. Cheng and Logan B. 2005. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber Microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 39. Pp 658-662.

Liu H. and Logan B. 2004. Electricity generation using air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton Exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 38. Pp 4040-4046.

Loera M. A., F. Y. Ramírez C., F. J. Avelar G. y A. L. Guerrero B. 2012. Biopelículas multi-especie: asociarse para sobrevivir. *Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. No.54. Pp 49-56.

Logan B., B. Hamnelers, R. Rozendal, U. Schroder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete and K. Rabaey. 2006. Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* Pp 5181-5192.

- Logan B.**, S. Cheng, V. Watson and Garrett Estads. 2007. Graphite Fiber Brush Anodes for Increased Power Production in Air-Cathode Microbial Fuel Cells. *Environ Sci. Technol.* Vol 41. Pp 3341-3346
- Lui H.**, Ramnarayanan R. and Logan B. E. 2004. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ Sci Technol.* Pp 2281-2285.
- Mase W.**, R. Sainz, M. T. Martinez and A. M. Benito. 2008. Electroactive polymer-carbon nanotube composites: smart organic materials for optoelectronic applications. *Contributions to science.* Instituto de Carboquímica. España.
- Mejía R. A.**, J. A. Vásquez y A. L. González. 2012. Bacterias, fuente de energía para el futuro. *Tecnura.* Vol. 16. No. 32. Pp 118-143.
- Melnick J.** y Adelberg. 2011. Microbiología médica. 2da ed. Trad. Blengio P. *et al.* McGrawHill. México. Pp 26-30.
- Min B.**, Kim J., Oh S., Regan J. and Logan B. 2005. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Journal Water Research.* Vol. 39. Pp. 4961-4968.
- Mansoorian H. J.**, A. H. Mahvi, A. J. Jafari and Narges Khanjani. Evaluation of dairy industry wastewater treatment and simultaneous bioelectricity generation in a

catalyst-less and mediator-less membrane microbial fuel cell. *Journal of Saudi Chemical Society*. Vol. 20. Pp 88-100.

Monterroza A. D. 2006. Estudio cinético de la oxidación de hidrogeno en electrodos de pirrol-platino. *Tesis de Maestría*. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín. Pp 56.

Nazar C. J. 2007. Biofilms bacterianos. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*. Vol.67. Pp 61-72.

Oh S. and Logan B. 2005. Hydrogen and electricity Production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Journal Water Research*. Vol. 39. Pp. 4673-4682.

Ortiz V. M., M. J. Salar G., S. A. Ali, F. J. Hernández y A. Pérez de los Ríos. 2015. Aplicación de nanotubos de TI/TIO₂ en pilas de combustible microbianas. *Anuario de Jóvenes Investigadores*. Vol. 8. Pp 30-32.

Pistonesi C., J. L. Haore y R. D' Elmar. 2010. Diferentes alternativas a los procesos de los tratamientos de aguas residuales para obtener energía ecológicamente limpia. Energía a partir de las aguas residuales. Universidad Tecnológica Nacional. Pp 1-63.

Rezaei F., T. L. Richard, R. A. Brennan y B. E. Logan. 2007. Substrate-Enhanced microbial fuel cells for improved remote power generation from sediment-based systems. *Environ. Sci. Technol*. Vol. 41. Pp 4053-4058.

- Rajalakshmi N.** and K. S. Dhathathereyan. 2008. Present Trends in Fuel Cell Technology Development. *Nova Science Publishers*. New York. Pp 93-102.
- Revelo D.,** N. H. Hurtado y J. O. Ruiz. 2013. Celdas de Combustible Microbianas (CCM's):Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía. *Información Tecnológica*. Vol. 24. Pp 17-28.
- Richter H.,** K. McCarthy, K. P. Nevin, J. P. Johnson, V. M. Rotello and D. R. Lovley. 2007. Electricity generation by *Geobacter sulfurreducens* attached to gold electrodes. *Langmuir*. Vol. 24. Pp 4376-4379.
- Sánchez P.J** y M.R.Torres-Alvarado.2005.Estructura y aspectos biotecnológicos de las comunidades acuáticas microbianas: biopelículas y tapetes microbianos. UAM-I. Pp 67.
- Sengodan P.** and D. B. Hays. 2012. Future Fuel Technologies, National Petroleum Council (NPC) Study. *Microbial Fuel Cells*. Vol. 13. Department of Soil and Crop Sciences. Texas A & M University. Pp 2-3
- SENER.** 2014. Sistema de Información Energética. Balance Nacional de Energía: Indicadores económicos y energéticos. Secretaria de Energía. México D.
- Tortora G. J,** B. R. Funke y C. L. Case. 2007. Introducción a la microbiología. 9ª ed. Panamericana. Buenos Aires. Pp 821.

Tsai Hung-Yin, Wu Chen-Chang, Lee Chi-Yuan and E. Pierre S. 2009. Microbial fuel cell performance of multiwall carbon nanotubes on carbon cloth as electrodes. *Journal of Power Sources*. Vol. 194. Pp 199-204.

Villarreal A., M. Velázquez, C. Estrada, S. Revah, A. Bergel y B. Cercado. 2005. Evaluación de un consorcio de bacterias sulfatoreductoras en un nuevo diseño de celda microbiana de combustible. Pp 1-10.

Wen Q., Y. Wu., Li-xin Zhao, Q. Sun and Fan-ying Kong. Electricity generation and brewery wastewater treatment from sequential anode-cathode microbial fuel cell. *Journal of Zhejiang University SCIENCE*. Vol. 11. Pp 87-93.

Xie X., G. Yu, N. Liu, Z. Bao, C. S. Criddle and Y. Cui. 2012. Graphene-sponges as High-performance low-cost anodes for microbial fuel cells. *Energy and Environmental Science*. Vol. 5. Pp 6862.

Yong Y. y S. Kim. 2008. Improved Performance of a Microbial Fuel Cell with Polypyrrole/ Carbon Black Composite Coated Carbon Paper Anodes. *Korean Chem*. Vol. 29, No. 7. Pp 1344-1348.

Zou Y., C. Xiang, L. Yang, Li-Xian Sun, F. Xu and Z. Cao. 2008. A mediatorless microbial fuel cell using polypyrrole coated carbon nanotubes composite as anode material. *International Hydrogen Energy*. Vol. 33. Pp 4856-4862.