

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y
DISMINUCIÓN DE DQO EN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA MEDIANTE CELDAS
DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A ESCALA LABORATORIO

SERGIO ANDRES MEDINA MESA
MARIA JULIETA ZAPATA ROJAS

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA
BOGOTÁ D.C
2017

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y
DISMINUCIÓN DE DQO EN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA MEDIANTE CELDAS
DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A ESCALA LABORATORIO

SERGIO ANDRES MEDINA MESA
MARIA JULIETA ZAPATA ROJAS

Trabajo de investigación para optar el título de
INGENIERO QUÍMICO

Director
ANDREA LACHE MUÑOZ
Ingeniera Química

Codirector
ADRIANA PÁEZ
Microbióloga

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMERICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA
BOGOTÁ D.C
2017

Nota de aceptación: (Dirección de investigaciones)

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá D.C., Febrero de 2017.

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del claustro

Dr. JAIME POSADA DÍAZ

Vicerrector de Desarrollo y Recursos humanos

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrector Académico y de Posgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Secretario General

Dr. JUAN CARLOS POSADA GARCÍA-PEÑA

Decano general Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director de Investigaciones

Ing. ARMANDO FERNÁNDEZ CARDENAS

Director del Departamento de Ingeniería Química

Ing. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y los docentes no son responsables por las ideas y conceptos emitidos en el presente documento. Estos corresponden únicamente al autor.

DEDICATORIA

*A nuestros padres por su
esfuerzo y dedicación.*

AGRADECIMIENTOS

Infinitas gracias a nuestros padres por su apoyo y amor, a los educadores que permitieron que esto fuese posible y por supuesto, gracias a Dios por darnos la oportunidad de ser mejores personas.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	25
OBJETIVOS	26
1. GENERALIDADES TEÓRICAS	27
1.1 ENERGIA	27
1.1.1 Energía mecánica.	27
1.1.2 Energía eléctrica.	27
1.1.3 Energía térmica.	28
1.1.4 Energía química.	28
1.1.5 Energía nuclear.	28
1.1.6 Energía hidráulica.	28
1.1.7 Energía solar.	28
1.1.8 Energía de biomasa.	28
1.2 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (MFC)	29
1.2.1 Arquitectura y funcionamiento de una MFC.	29
1.2.1.1 Diseños de MFC's.	30
1.2.2 Bacterias en una MFC.	35
1.2.2.1 Mediadores.	35
1.2.2.2 Variabilidad enzimática.	36
1.2.3 Materiales de construcción de una MFC.	38
1.2.3.1 Materiales para el ánodo.	39
1.2.3.2 Materiales para el cátodo.	39
1.3 CÉLULA PROCARIOTA	40
1.3.1 Pared celular.	40
1.3.1.1 Pared celular en Gram positivas.	40
1.3.1.2 Pared celular en Gram negativas.	40
1.4 OXIDACIÓN – REDUCCIÓN	41
1.4.1 Donadores y aceptores de electrones.	41
1.4.2 Transportadores de electrones.	42
1.4.3 Fermentación y fosforilación a nivel sustrato	43
1.4.4 Sistemas transportadores de electrones.	43
1.4.5 Respiración anaeróbica.	45
1.5 CRECIMIENTO MICROBIANO	46
1.5.1 Nutrición de los microorganismos.	47
1.5.1.2 Requerimientos nutricionales elementales.	47
1.5.2 Factores ambientales que afectan el crecimiento microbiano.	47
1.5.3 Medios de cultivo.	50
1.5.3.1 Medios de cultivo químicamente definidos.	50

1.5.3.2 Medios complejos.	51
1.6 AGUAS RESIDUALES	51
1.6.1 Agua residual doméstica.	51
1.6.1.1 Materia orgánica.	51
1.6.1.2 Materia inorgánica.	52
1.6.2 Agua residual sintética	52
1.6.3 Niveles en el tratamiento de aguas residuales.	52
2. METODOLOGÍA	54
2.1 SELECCIÓN DE DOS CEPAS CON CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA	54
2.1.1 Disponibilidad y selección de las cepas.	54
2.1.2. Condiciones de crecimiento de las cepas seleccionadas.	55
2.1.2.1 Temperatura.	55
2.1.2.2 pH.	55
2.1.2.3 Oxígeno.	55
2.1.3 Selección del material de los electrodos.	55
2.1.4 Evaluación y selección del mediador.	56
2.1.5 Selección del agua residual a evaluar.	57
2.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LAS CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A ESCALA LABORATORIO PARA LAS DOS CEPAS	57
2.2.1 Selección del diseño de la celda.	57
2.2.1.1 Selección del material de las cámaras.	58
2.2.1.2 Determinación de la cantidad de sustrato.	58
2.2.1.3 Selección del tamaño de los electrodos.	58
2.2.1.4 Selección del puente que permite el paso de protones.	59
2.2.1.5 Definición de los equipos para la medición de energía eléctrica.	59
2.2.2 Diseño de experimentos según las variables seleccionadas.	60
2.2.3 Realización del montaje de las dos MFC.	60
2.2.4 Pruebas según el diseño de experimentos establecido.	60
2.2.5 Estimación de parámetros para la evaluación de la energía producida.	60
2.2.6 Selección de la configuración de celda más eficiente energéticamente	62
2.2.6.1 Análisis de resultados mediante un modelo estadístico (ANOVA).	62
2.3 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA DE LAS CEPAS BAJO LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS	62
2.3.1 Replicas para las combinaciones seleccionadas.	62
2.3.2 Evaluación de la cuantificación de crecimiento.	62
2.3.2.1 Procedimiento para realizar la curva de crecimiento microbiano.	62
2.3.2.2 Evaluación de parámetros de crecimiento.	65
2.3.3 Determinación de parámetros de calidad del agua	65
2.3.3.1 Análisis de DQO	65
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67

3.1 CEPAS SELECCIONADAS	67
3.1.1 Disponibilidad y selección.	67
3.1.2 Condiciones de crecimiento de las dos cepas.	69
3.1.2.1 Temperatura.	69
3.1.2.2 pH.	69
3.1.2.3 Oxígeno.	70
3.1.3 Material de los electrodos seleccionados.	70
3.1.4 Mediadores seleccionados.	71
3.1.5 Agua residual seleccionada.	75
3.2 CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LAS MFC A ESCALA LABORATORIO PARA LAS DOS CEPAS	77
3.2.1 Celda seleccionada.	77
3.2.1.1 Material de las cámaras.	78
3.2.1.2 Cantidad de sustrato definido.	79
3.2.1.3 Tamaño de los electrodos.	79
3.2.1.4 Puente que permite el paso de protones.	81
3.2.1.5 Equipos para la medición de energía eléctrica.	82
3.2.2 Diseño de experimentos.	82
3.2.3 Montaje de las MFC.	84
3.2.4 Pruebas de las MFC.	84
3.2.5 Parámetros para la evaluación de la energía producida.	85
3.2.6 Resultado favorable en las 16 pruebas realizadas.	87
3.2.6.1 Modelo estadístico (ANOVA).	92
3.3 CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA DE LAS CEPAS BAJO LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS	95
3.3.1 Pruebas para las combinaciones seleccionadas.	95
3.3.2 Cuantificación de crecimiento.	96
3.3.2.1 Curva de crecimiento microbiano.	99
3.3.2.2 Parámetros involucrados en el crecimiento.	103
3.3.3 Parámetros de calidad del agua.	106
3.3.3.1 DQO.	106
4. CONCLUSIONES	109
5. RECOMENDACIONES	111
BIBLIOGRAFÍA	112
ANEXOS	118

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Bacterias principales con capacidad de producción de energía.	37
Tabla 2. Principales mediadores usados.	71
Tabla 3. Aguas residuales sintéticas.	76

LISTA DE SIGLAS

ATP	Adenosin trifosfato
CM	Con uso de mediador
DQO	Demanda química de oxígeno
FMN	Flavinamonucleótido
FAD	Flavín adenín dinucleótido
g	Gramos
MFC	Celda de combustible microbiana (Microbial fuel cell)
mL	Mililitros
mV	Milivoltios
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido de hidrogeno
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PEM	Membrana de intercambio protónico (Proton exchange membrane)
SM	Sin uso de mediador
UFC	Unidades formadoras de colonias
μ A	Microamperios

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Área del electrodo
I	Corriente eléctrica
j	Densidad de corriente eléctrica
P	Potencia eléctrica
P^*	Densidad de potencia
P_V	Potencia volumétrica
R	Resistencia eléctrica
V	Voltaje
v	Volumen total de las celdas
μ	Velocidad específica de crecimiento
$\mu_{m\acute{a}x}$	Velocidad máxima específica de crecimiento
N_f	Población microbiana al finalizar la fase exponencial
N_0	Población microbiana al iniciar la fase exponencial
t_f	Tiempo final de la fase exponencial
t_0	Tiempo inicial de la fase exponencial
t_d	Tiempo de duplicación

LISTA DE GRAFICOS

	pág.
Grafico 1. Selección de las cepas.	68
Grafico 2. Selección del material de los electrodos.	71
Grafico 3. Selección del mediador.	75
Grafico 4. Selección del material de las cámaras.	79
Grafico 5. Selección del puente de intercambio protónico.	82
Grafico 6. Voltaje, pH vs tiempo; <i>Escherichia coli</i> .	88
Grafico 7. Voltaje, intensidad de corriente (μA) vs tiempo; <i>Escherichia coli</i> .	90
Grafico 8. Voltaje, pH vs tiempo; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	91
Grafico 9. Voltaje, intensidad de corriente vs tiempo; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	91
Grafico 10. Curva de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> .	99
Grafico 11. Curva de crecimiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	100
Grafico 12. Curva de crecimiento microbiano, voltaje vs tiempo; <i>E. coli</i> .	101
Grafico 13. Curva de crecimiento microbiano, pH vs tiempo; <i>E. coli</i> .	101
Grafico 14. Curva de crecimiento microbiano, voltaje vs tiempo; <i>P. aeruginosa</i> .	102
Grafico 15. Curva de crecimiento microbiano, pH vs tiempo; <i>P. aeruginosa</i> .	102

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Cuadro de ponderación para la selección de las cepas.	67
Cuadro 2. Cuadro de ponderación para la selección del material de los electrodos.	70
Cuadro 3. Cuadro de ponderación para la selección del mediador.	74
Cuadro 4. Cuadro comparativo de tipos de celdas.	77
Cuadro 5. Cuadro de ponderación para la selección del material de las cámaras	78
Cuadro 6. Relación entre la cantidad de sustrato y el tamaño de electrodos.	80
Cuadro 7. Cuadro de ponderación para la selección del puente de intercambio protónico.	81
Cuadro 8. Resultados experimentales.	85
Cuadro 9. Resultados de parámetros para la evaluación de la energía producida.	86
Cuadro 10. Datos experimentales <i>Escherichia coli</i> .	88
Cuadro 11. Datos experimentales <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	90
Cuadro 12. Designación para los niveles de cada factor.	92
Cuadro 13. Resultados experimentales de la segunda puesta en marcha.	96
Cuadro 14. Recuento en placa de <i>Escherichia coli</i> .	97
Cuadro 15. Recuento en placa de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	98
Cuadro 16. Velocidad de crecimiento según el sustrato utilizado.	104
Cuadro 17. Resultados del análisis de DQO.	106
Cuadro 18. Porcentaje de reducción de DQO para las dos muestras.	107

Cuadro 19. Resultados de DQO obtenidos en algunas investigaciones de MFC.

107

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Componentes de una celda de combustible microbiana.	30
Figura 2. MFC de dos compartimientos.	31
Figura 3. MFC de un compartimiento.	32
Figura 4. MFC de flujo ascendente.	34
Figura 5. Seis MFC's conectadas entre sí con un ánodo de grafito granular.	35
Figura 6. Materiales para los electrodos usados en MFC.	38
Figura 7. Generación fuerza motriz de protones. modelo de transferencia de electrones en una celda de combustible microbiana (modelos <i>Geobacter sulfurreducens</i>).	45
Figura 8. Niveles en el tratamiento de aguas residuales.	53
Figura 9. Diseño de experimentos.	83
Figura 10. Tabla de datos diseño factorial 2^4 sin replicas.	93
Figura 11. Análisis de varianza.	93
Figura 12. Efectos principales para voltaje.	94
Figura 13. Interacción binaria para voltaje.	95

LISTA DE DIAGRAMAS

	pág.
Diagrama 1. Metodología para la determinación de diluciones y conteo en placa.	63

LISTA DE IMÁGENES

	pág.
Imagen 1. Cámara anódica.	84
Imagen 2. Celda de combustible microbiana.	84
Imagen 3. Cámara catódica.	84
Imagen 4. Metabolismo fermentativo anaerobio en <i>E. coli</i> .	89
Imagen 5. Siembra en superficie hora 0.	97
Imagen 6. Siembra en superficie hora 12.	97
Imagen 7. Siembra en superficie hora 24.	98
Imagen 8. Siembra en superficie hora 0.	98
Imagen 9. Siembra en superficie hora 12.	99
Imagen 10. Siembra en superficie hora 20.	99

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Volumen de una placa.	58
Ecuación 2. Relación entre el sustrato y el volumen de los electrodos.	59
Ecuación 3. Volumen de los electrodos.	59
Ecuación 4. Intensidad de corriente eléctrica.	60
Ecuación 5. Potencia.	61
Ecuación 6. Densidad de corriente	61
Ecuación 7. Densidad de potencia.	61
Ecuación 8. Potencia volumétrica.	61
Ecuación 9. Velocidad específica de crecimiento.	65
Ecuación 10. Tiempo de duplicación.	65

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Investigaciones hechas con <i>Escherichia coli</i> entre 2000-2016, tomado de la base de datos Scopus.	119
Anexo B. Documentos por área para <i>Escherichia coli</i> , tomado de la base de datos Scopus.	120
Anexo C. Investigaciones hechas con <i>Pseudomonas aeruginosa</i> entre 2000-2016, tomado de la base de datos Scopus.	121
Anexo D. Documentos por área para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , tomado de la base de datos Scopus.	122
Anexo E. Preparación del inóculo.	123
Anexo F. Costo de los materiales de los electrodos.	124
Anexo G. Costo del medio de cultivo usado como agua residual sintética.	126
Anexo H. Costo del material de las cámaras de la celda.	127
Anexo I. Costo de la membrana de intercambio protónico.	128
Anexo J. Ensamblaje MFC.	129
Anexo K. Resultados experimentales de las 16 pruebas.	130
Anexo L. Resultados experimentales de las dos replicas.	135
Anexo M. Resultados del análisis de DQO.	137

GLOSARIO

AGUA RESIDUAL: material procedente del alcantarillado doméstico o son efluentes industriales que por razones de sanidad pública y por consideraciones de tipo recreativo, económico y estético no pueden utilizarse o eliminarse vertiéndolas sin previo tratamiento a lagos, ríos o mar.

ANAEROBIOSIS: capacidad de organismos de realizar su metabolismo en ausencia de oxígeno. Si es anaerobiosis estricta significa que el oxígeno impide el proceso.

ATP: adenosintrifosfato, el principal transportador de energía en la célula.

BACTERIA: son organismos unicelulares procariotas microscópicos.

BIORREMEDIACIÓN: empleo de microorganismos para suprimir o detoxificar productos químicos tóxicos o indeseables en un hábitad.

BIOTECNOLOGÍA: empleo de organismos vivos para llevar a cabo procesos químicos definidos para la aplicación industrial.

CELDA DE COMBUSTIBLE: dispositivo electroquímico que convierte la energía química de una reacción directamente en energía eléctrica.

CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA: dispositivo que utiliza microorganismos para convertir la energía química presente en un sustrato en energía eléctrica, esto es posible cuando bajo ciertas condiciones algunos microorganismos transfieren los electrones producidos en su actividad metabólica a un electrodo (ánodo) en lugar de a un aceptor natural de electrones (como oxígeno).

DONADOR DE ELECTRONES: compuesto que proporciona electrones en una reacción de oxidación – reducción.

FERMENTACIÓN: catabolismo anaeróbico de un compuesto orgánico donde el compuesto actúa tanto de donador como de aceptor de electrones y el ATP se produce por fosforilación a nivel de sustrato.

FOSFORILACIÓN POR TRANSPORTE DE ELECTRONES: síntesis de ATP en la que interviene una cadena de transporte de electrones asociada a la membrana y una fuerza protonmotriz. También denominada fosforilación oxidativa.

FUERZA MOTRIZ DE PROTONES: estado energético de una membrana, creado por la expulsión de protones a través de la acción de una cadena transportadora de electrones.

MEDIO: en microbiología, soluciones nutritivas usadas para el cultivo de microorganismos.

MICROORGANISMO: organismo microscópico consistente en una célula o grupo de células.

REACCIÓN DE ÓXIDO REDUCCIÓN: reacción en la que un compuesto se oxida mientras otro se reduce y se toman los electrones liberados en la oxidación.

RESPIRACIÓN ANAERÓBICA: empleo de un aceptor de electrones diferente del O_2 en una oxidación con transporte de electrones y que crea una fuerza protonmotriz.

DQO (DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO): el DQO es un parámetro que sirve para la estimación de la calidad del agua.

DBO (DEMANDA BIOLÓGICA DE OXIGENO): el DBO es la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para degradar la materia orgánica presente en las aguas residuales.

RESUMEN

Las energías alternativas son oportunidades para la producción de energía eléctrica por medios renovables, una de ellas, son las celdas de combustible microbianas, capaces de producir energía eléctrica y disminuir la carga orgánica en el sustrato usado, de manera simultánea.

En el presente proyecto de investigación se abarca la evaluación de la producción de energía eléctrica y disminución de DQO en un agua residual sintética, mediante la acción de dos bacterias, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* bajo unas condiciones óptimas de crecimiento y condiciones especiales de operación en la celda, como electrodos se emplearon grafito y tela de carbono. *Escherichia coli* fue la bacteria que con determinadas condiciones de pH, temperatura, mediador y material del electrodo se obtuvo los mayores valores de voltaje, medidos en mV, que las combinaciones expuestas en el diseño de experimentos. Además, se logró obtener una reducción significativa con dicha bacteria en la demanda química de oxígeno.

Lo anterior permite determinar la factibilidad del uso de bacterias como *Escherichia coli* en celdas de combustible microbianas para la producción de energía eléctrica y disminución de DQO. Pues, proporcionan un proceso de depuración y producción de energía simultaneo que busca la disminución en los costos de operación de cualquier planta de tratamiento de aguas residuales.

PALABRAS CLAVE: Celda de combustible microbiana, DQO, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, barra de grafito, tela de carbono y azul de metileno.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el volumen de agua residual tanto industrial como doméstica ha aumentado, por ello las plantas de tratamiento son más necesarias, además, los costos en los respectivos tratamientos para la reducción de la carga de contaminantes en dichas aguas son altos.

Las energías alternativas son oportunidades para la producción de energía eléctrica a partir de fuentes renovables como la biomasa. En los últimos años se ha empezado a estudiar el uso de pilas de combustible microbianas, celdas que se encargan de convertir la energía química producida por microorganismos, en energía eléctrica, es por ello, que el agua residual puede llegar a ser un sustrato de amplia disponibilidad para el funcionamiento adecuado de las MFC. Las celdas de combustible microbianas proporcionan un proceso de depuración y producción de energía eléctrica simultaneo que busca la disminución en los costos de operación de cualquier planta de tratamiento de aguas residuales.

Si bien, es una tecnología prometedora, actualmente las investigaciones se encuentran escaladas a nivel laboratorio, debido a que aún se siguen estudiando las diferentes variables que influyen en el proceso. Sin embargo, se han hecho estudios en los cuales esta tecnología ha sido aplicada en aguas residuales reales, mientras que otros han utilizado aguas residuales sintéticas, ambos a pequeña escala.

En el presente trabajo se realiza una investigación respecto a las variables que afectan directamente la producción de energía eléctrica a partir de una celda de combustible microbiana, con el fin de obtener la combinación que permita la producción de energía y reducción de contaminantes en el agua, medidos por el nivel de DQO, mediante el uso de dos tipos de bacterias.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de energía eléctrica y disminución de DQO en agua residual sintética mediante el uso de celdas de combustible microbianas a escala laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las condiciones de crecimiento de dos cepas con capacidad de producción de energía eléctrica.
- Definir las condiciones óptimas de operación a escala laboratorio para las dos cepas.
- Evaluar la cinética de crecimiento de las cepas para la disminución de DQO del agua y la producción de energía eléctrica bajo las condiciones establecidas.

1. GENERALIDADES TEÓRICAS

Teniendo en cuenta que la investigación está relacionada con la producción de energía eléctrica, a continuación, se presentaran diferentes conceptos que permiten entender de una mejor manera esta forma de energía.

1.1 ENERGIA

La energía está definida como la capacidad para realizar un trabajo, es necesaria y está relacionada con el avance y el progreso mundial; gracias a esta es posible que se puedan realizar diferentes actividades diarias tanto a nivel doméstico como a nivel industrial. Existen diferentes formas de energía como la luz, el calor, la electricidad, el sonido, etc. Todas estas procedentes de fuentes como el agua, plantas, la gravedad, el sol, los combustibles fósiles, el viento y algunas otras más, siendo las fuentes fósiles las más usadas (no renovables) debido a que solo hasta hace poco tiempo se han venido desarrollando nuevas tecnologías de generación de energía limpia.^{1, 2}

Como ya se mencionó anteriormente, existen diferentes formas o tipos de energía, los principales se explicarán a continuación.

1.1.1 Energía mecánica. Es la energía que se puede obtener mediante el movimiento y las fuerzas que lo producen, puede ser cinética o potencial.³

- Energía cinética: Energía generada gracias a la velocidad de un objeto.⁴
- Energía potencial: Energía obtenida por la posición que ocupa un cuerpo dentro de un campo vectorial, como el gravitatorio, magnético o eléctrico.⁵

1.1.2 Energía eléctrica. Energía que se produce cuando se da el flujo de electrones a través de un conductor eléctrico o cuando dos partículas con diferente carga se repelen entre sí. Es una energía fácil de transportar y de transformar en otras formas de energía.⁶

¹ EL TEMARIO. Producción y transformación de las distintas formas de energía [en línea]. Disponible en: <https://oposinet.cvexpres.com/temario-de-tecnologia/temario-1-tecnologia/tema-1b-produccion-y-transformacion-de-las-distintas-formas-de-energa/> [03 de marzo de 2016]. p.2

² TEACH ENGINEERING. Lección: ¿Qué es la energía? [en línea]. Disponible en: https://www.teachengineering.org/lessons/view/cub_energy2_lesson01 [03 de marzo de 2016].

³ EL TEMARIO, Op. cit. p. 2

⁴ Ibíd. p. 2

⁵ Ibíd. p. 2

⁶ TEACH ENGINEERING, Op. cit.

1.1.3 Energía térmica. Esta energía se produce cuando las moléculas de cuerpos o sustancias se encuentran vibrando, a mayor vibración se obtiene mayor cantidad de energía, es por esto que depende de la energía mecánica de las moléculas y puede ser de tipo conductivo, convectivo o por radiación.^{7,8}

1.1.4 Energía química. Es una energía que esta almacenada en los enlaces químicos de las moléculas, se libera cuando reaccionan uno o varios productos químicos para formar otro u otros.^{9,10}

1.1.5 Energía nuclear. Energía encontrada a nivel atómico, exactamente en el interior del núcleo, puede ser liberado mediante fusión (unión de átomos) o fisión (división de un átomo en dos o más fragmentos) de los átomos, transformándose así la materia en energía.^{11,12}

Otra clasificación de las formas o tipos de energía se da a partir de la fuente de la cual se obtiene.

1.1.6 Energía hidráulica. Energía potencial obtenida cuando hay caídas debido a desniveles presentados por el terreno por donde esta fluye, que luego es convertida a energía cinética.¹³

1.1.7 Energía solar. Energía obtenida de la radiación del sol para aprovecharse en forma de energía eléctrica o térmica.¹⁴

1.1.8 Energía de biomasa. Utiliza materia orgánica como fuente de energía, materia orgánica obtenida gracias a la realización de funciones vitales de plantas y animales.^{15,16}

⁷ TEACH ENGINEERING. Lección: ¿Qué es la energía? [en línea]. Disponible en: https://www.teachengineering.org/lessons/view/cub_energy2_lesson01 [03 de marzo de 2016]

⁸ EL TEMARIO. Producción y transformación de las distintas formas de energía [en línea]. Disponible en: <https://oposinet.cvexpres.com/temario-de-tecnologia/temario-1-tecnologia/tema-1b-produccion-y-transformacion-de-las-distintas-formas-de-energa/> [03 de marzo de 2016]. p. 3

⁹ *Ibíd.* p. 3

¹⁰ TEACH ENGINEERING, Op, cit.

¹¹ EL TEMARIO, Op. cit. p. 3

¹² TEACH ENGINEERING, Op, cit.

¹³ EL TEMARIO, Op. cit. p. 9

¹⁴ *Ibíd.* p. 10

¹⁵ TEACH ENGINEERING. Op, cit.

¹⁶ EL TEMARIO, Op. cit. p. 11

1.2 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (MFC)

Uno de los mecanismos de producción de energía eléctrica es mediante el uso de pilas de combustible, las cuales convierten energía química en energía eléctrica que puede ser aprovechada e implementada como fuente de energía renovable. Una de las tecnologías estudiadas actualmente son las celdas de combustible microbianas aplicadas en plantas de tratamiento de aguas residuales.

Una celda de combustible microbiana cumple la función de degradar materia orgánica o inorgánica (oxidarla), mediante microorganismos, produciendo a la vez electrones que viajan a través de una serie de enzimas respiratorias en la célula, haciendo que se genere energía para la célula en forma de ATP. Los electrones son atrapados por un aceptor terminal de electrones, el cual los recibe y se reduce. Por ejemplo, el oxígeno se reduce a agua gracias a una reacción catalizada de electrones con protones.¹⁷

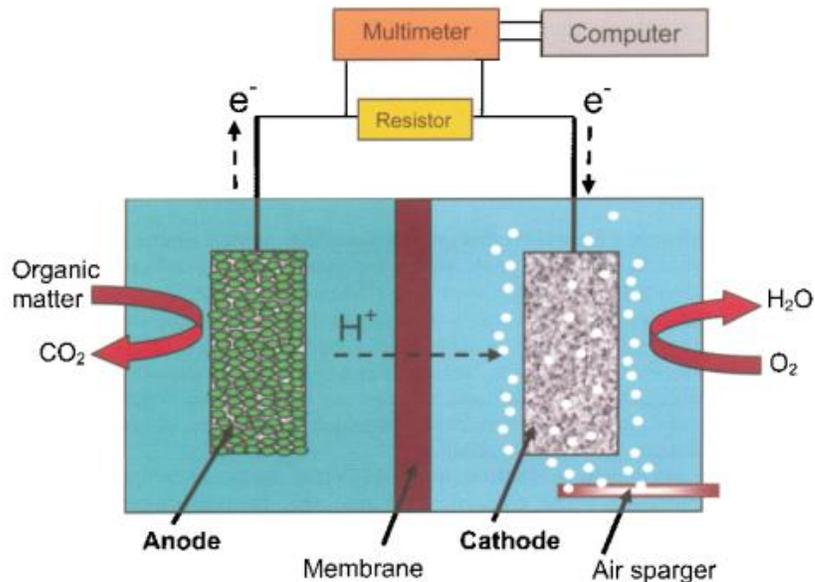
1.2.1 Arquitectura y funcionamiento de una MFC. Una MFC está construida por dos cámaras, una que debe ser anaeróbica (cámara anódica) y otra que es aeróbica (cámara catódica), los microorganismos deben estar en la cámara anódica, ya que el oxígeno inhibe la generación de electricidad, actuando como un aceptor final de electrones; es en esta cámara donde las bacterias crecerán. La separación de las dos cámaras se logra colocando una membrana que solo permite el paso de protones desde la cámara anódica hacia la catódica. Los dos electrodos pueden encontrarse en circuito abierto o cerrado, puesto que a los electrodos conectados entre sí por medio de un cable conductor y una resistencia se les denomina circuito cerrado y aquellos sin conexión entre sí, pero conectados a un medidor de voltaje se les conoce como circuito abierto, ver figura 1.^{18, 19}

¹⁷ LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells {en línea}. {3 de marzo de 2016}. New Jersey: Wiley, 2008. Disponible en: (https://books.google.com.co/books?id=cXnc2wmrE9gC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false), p. 4-5

¹⁸ REVELO, Dolly; HURTADO, Nelson; RUIZ, Jaime. Celdas de combustible microbianas (ccms): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica {en línea}. En: Biotecnología. Abril-Junio, 2013, vol. 24 no. 6, p. 19

¹⁹ LOGAN, Op. Cit., p. 5-6.

Figura 1. Componentes de una celda de combustible microbiana.



Fuente: LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells {en línea}. {3 de marzo de 2016}. New Jersey: Wiley, 2008. Disponible en: (https://books.google.com.co/books?id=cXnc2wmrE9gC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false), p. 5

La membrana como se mencionó anteriormente debe ser permeable solo al paso de protones, esto permite que los protones generados en el ánodo viajen hacia la cámara del cátodo, para que junto con los electrones que pasan a través del cable y el oxígeno, se forme agua.^{20, 21}

Vale la pena destacar que prácticamente cualquier materia orgánica biodegradable se puede utilizar en una MFC, incluyendo ácidos volátiles, carbohidratos, proteínas, alcoholes e incluso material orgánico con contenidos de celulosa.^{22,23}

1.2.1.1 Diseños de MFC's. Anteriormente se mencionó que una MFC consta de una cámara anódica y una catódica, partiendo de esto, a continuación, en las figuras 2, 3, 4 y 5 se presentan los diferentes diseños de celda que existen.

²⁰ REVELO, Dolly; HURTADO, Nelson; RUIZ, Jaime. Celdas de combustible microbianas (ccms): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica {en línea}. En: Biotecnología. Abril-Junio, 2013, vol. 24 no. 6, p. 19

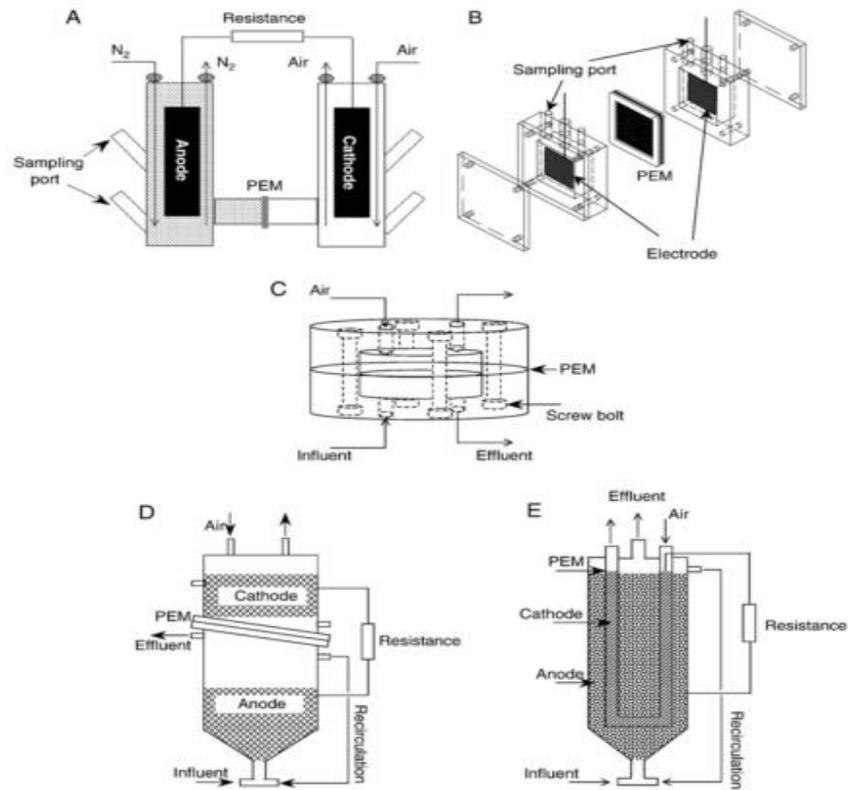
²¹ LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells. New Jersey: Wiley, 2008. Disponible en: (https://books.google.com.co/books?id=cXnc2wmrE9gC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false), p. 5-6

²² *Ibíd.*, p. 4-6

²³ REVELO, Op. cit., p. 18-19

- De dos compartimientos: Son usadas principalmente en modo batch, constan de una cámara anódica y una catódica conectadas entre sí por una membrana de intercambio protónico (PEM) o un puente de sal para permitir únicamente el paso de protones. Los compartimientos pueden ser ensamblados de diferentes maneras como se muestra a continuación.^{24, 25}

Figura 2. MFC de dos compartimientos.



Fuente: DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. No 5, p. 470-472.

Los modelos A y B son los comúnmente usados en el laboratorio debido a su bajo costo y fácil construcción. El C es un modelo pequeño, pero con una densidad de potencia de volumen alto. Los modelos D y E de flujo ascendente

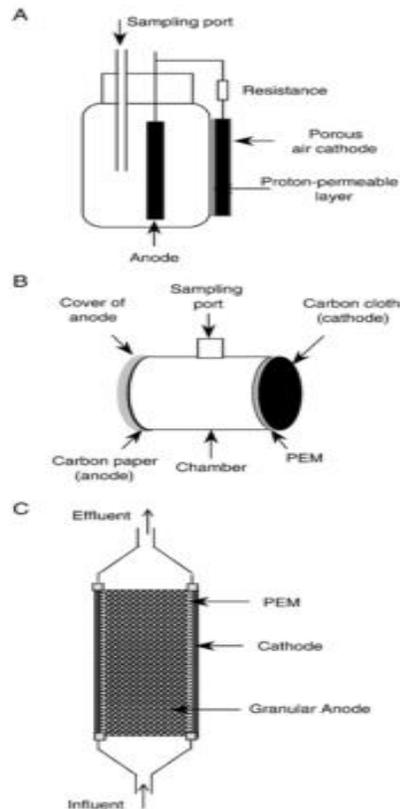
²⁴ DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 470

²⁵ LOGAN, Bruce E.; HAMELERS, Bert; Rozendal, René; SCHRÖDER, Uwe; KELLER, Jürg; FREGUIA, Stefano; AELTERMAN, Peter; VERSTRAETE, Willy; RABAEY, Korneel. Microbial fuel cells: Methodology and technology. En: *Environmental Science and Technology*. Julio, 2006, vol. 40 no. 17, p. 5182

son los más adecuados para aplicarlos en el tratamiento de aguas residuales debido a su fácil escalamiento.²⁶

- De un compartimiento: Son menos usadas que las anteriores debido a su alto costo y a su difícil escalamiento, sin embargo, pueden ser usadas en modo continuo o discontinuo. No requiere de aireación en la cámara catódica. A continuación, se presentan algunos modelos de MFC's de este tipo.^{27, 28}

Figura 3. MFC de un compartimiento.



Fuente: DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. No 5, p. 470-472.

²⁶ DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 469

²⁷ *Ibid.*, p. 470

²⁸ LOGAN, Bruce E.; HAMELERS, Bert; Rozendal, René; SCHRÖDER, Uwe; KELLER, Jürg; FREGUIA, Stefano; AELTERMAN, Peter; VERSTRAETE, Willy; RABAEY, Korneel. Microbial fuel cells: Methodology and technology. En: *Environmental Science and Technology*. Julio, 2006, vol. 40 no. 17, p. 5182-5183

El modelo A fue diseñado por Park y Zeikus, consta de un ánodo en una cámara rectangular junto con un cátodo de aire poroso expuesto directamente al aire, de esta manera, los protones se transfieren desde la cámara anódica hacia la catódica. Liu y Logan diseñaron una MFC que consta de un ánodo colocado dentro de una cámara cilíndrica de plástico y un cátodo colocado por fuera de esta como se observa en el modelo B. En el modelo C se muestra una MFC tubular con un cátodo externo y un ánodo interno mediante el uso de gránulos de grafito. Al no haber una cámara catódica, el catolito es agregado al cátodo por goteo de un electrolito sobre la esterilla externa de un grafito tejido para evitar que se seque.²⁹

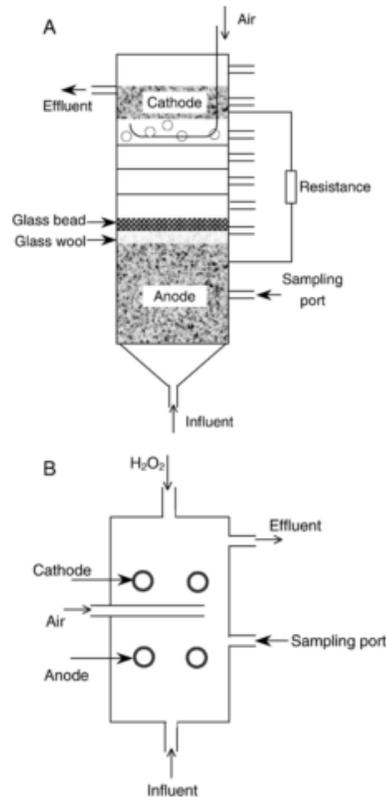
- De flujo ascendente: Un modelo diseñado por Jang, para operar en continuo. Consta de un cilindro de plexiglás dividido en dos secciones por lanas y capas de vidrio, siendo estas las cámaras anódicas y catódicas. El ánodo y el cátodo son de fieltro de carbono en forma de disco y se ubican en la parte inferior y superior respectivamente, (ver figura 4 A). Otro modelo, basado en el diseño anterior, pero con un recipiente rectangular y sin una barrera física lograda mediante el uso de lana de vidrio. La alimentación ingresa por la parte inferior del ánodo, pasando a través de la cámara catódica y saliendo por la parte superior de manera continua. (ver figura 4B)^{30, 31}

²⁹ DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 471

³⁰ LOGAN, Bruce E.; HAMELERS, Bert; Rozendal, René; SCHRÖDER, Uwe; KELLER, Jürg; FREGUIA, Stefano; AELTERMAN, Peter; VERSTRAETE, Willy; RABAEY, Korneel. Microbial fuel cells: Methodology and technology. En: *Environmental Science and Technology*. Julio, 2006, vol. 40 no. 17, p. 5182-5183

³¹ DU, Op. cit., p. 472

Figura 4. MFC de flujo ascendente.

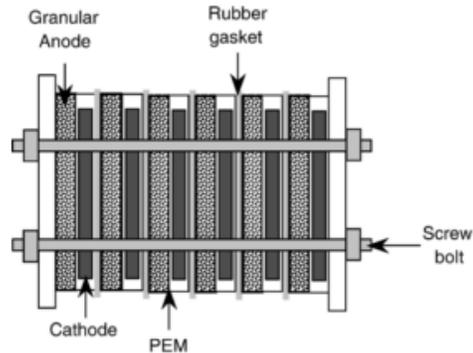


Fuente: DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. No 5, p. 470-472.

- Apiladas y conectadas entre sí: compuesta por varias MFC's conectadas entre sí en serie y paralelo, consiguiendo de esta manera un aumento en la salida de voltaje o corriente producida.³²

³² DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 472

Figura 5. Seis MFC's conectadas entre sí con un ánodo de grafito granular.



Fuente: DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. Mayo, 2007, vol. 25. No 5, p. 472.

1.2.2 Bacterias en una MFC. Las comunidades con capacidad de producir energía eléctrica pueden subdividirse en tres grupos principales, aquellas con capacidad de transferir electrones fuera de la célula directamente a un material, en este caso el ánodo, aquellas que requieren de un mediador para llevar a cabo este proceso y otras que producen su propio mediador para llevar a cabo el proceso. Las primeras son denominadas bacterias con capacidad exoelectrógena, es por ello, que las bacterias generalmente usadas en MFC son bacterias que además de ser reductoras de hierro tienen dicha característica como las del género *Shewanella* y *Geobacter*, sin embargo, en MFC también se pueden usar bacterias pertenecientes al segundo y tercer grupo, como la *E. Coli* y el género *Pseudomonas* respectivamente. Por otra parte, además, de la capacidad para generar energía, es indispensable el uso de bacterias capaces de depurar aguas residuales, tanto materia orgánica como inorgánica. Según los géneros mencionados con anterioridad, las diferentes especies que se pueden identificar son *S. putrefaciens*, *P. aeruginosa*, *G. sulfurreducens* y *G. metallireducens*, *E. coli*.^{33,34}

1.2.2.1 Mediadores. Uno de los factores que influyen en la producción de energía eléctrica es el uso de mediadores para bacterias del segundo y tercer grupo mencionadas anteriormente, ya que, serán estos los que faciliten la transferencia de electrones desde la membrana celular hacia el ánodo.^{35, 36}

³³ LOGAN, Bruce. *Microbial Fuel Cells*. New Jersey: Wiley, 2008. Disponible en: (https://books.google.com.co/books?id=cXnc2wmrE9gC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false), p. 12-17

³⁴ REVELO, Dolly; HURTADO, Nelson; RUIZ, Jaime. Celdas de combustible microbianas (ccms): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica {en línea}. En: *Biotecnología*. Abril-Junio, 2013, vol. 24 no. 6, p. 21-23

³⁵ SUND, C. J; MCMASTERS, S. R; CRITTENDEN, L. E; HARREL, L. E; SUMNER, J.J. Effect of electron mediators on current generation and fermentation in a microbial fuel cell. En: *Appl Microbiol Biotechnol*. Septiembre, 2007, vol. 76 no. 3, p. 562

Los mediadores deben cumplir con un requisito principal, el cual es brindar un buen contacto físico entre el donante y el aceptor de electrones, además, el potencial de dicho mediador también influirá ya que un electrón no será transferido a un electrodo más reducido.³⁷

Algunas bacterias poseen hidrogenasas que pueden llevar a cabo el proceso junto con una sustancia como el rojo neutro (mediador), sin embargo, en algunos casos el mediador puede suministrarse exógenamente, es decir, de manera externa como el rojo neutro, azul de metileno o tionina usados con la *Escherichia coli*, o las bacterias presentes en la cámara anódica pueden producir un mediador para el transporte de electrones endógeno, es decir, que es elaborado por la misma bacteria, como la *Pseudomonas aeruginosa* que obtiene piocianina. El funcionamiento del mediador consiste en actuar como aceptor de electrones desde las células bacterianas, para luego difundirse en el ánodo descargando los electrones en él, y vuelve a la membrana celular para repetir el proceso.^{38,39,40}

Un buen mediador debe atravesar la membrana celular fácilmente, para poder atrapar los electrones de la cadena de transporte de estos, además, debe poseer una alta velocidad de reacción en el electrodo, tener una buena solubilidad y estabilidad en el anolito, es decir, el sustrato, no debe ser absorbido por los microorganismos ni ser tóxico para ellos, y, por último, debe ser de bajo costo.^{41,42}

1.2.2.2 Variabilidad enzimática. Es fundamental identificar el tipo de sustrato que cada bacteria es capaz de degradar para que de esta manera sea posible seleccionar la bacteria adecuada para un tipo específico de agua residual.

La variabilidad enzimática para cada una de las bacterias mencionadas anteriormente puede destacarse en la Tabla 1, con los respectivos sustratos que estas requieren para su crecimiento.

³⁶ MOOK, W.T; AROUA, M.K.T; CHAKRABARTI, M.H; NOOR, I.M; IRFAN, M.F; LOW, C.T.J. A review on the effect of bio-electrodes on denitrification and organic matter removal processes in bio-electrochemical systems. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. Abril, 2013, vol. 19 no. 1, p. 4

³⁷ RABAEY, Korneel; VERSTRAETE, Willy. Microbial fuel cells: Novel biotechnology for energy generation. En: Trends in Biotechnology. Junio, 2005, vol. 23 no. 6, p. 293.

³⁸ KATO, Marcus A; TORRES, CI; RITTMANN, BE. Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell. En: Biotechnol Bioeng. Diciembre, 2007, vol. 98 no. 6, p. 1171-1182

³⁹ *Ibíd.*, p. 1171-1173.

⁴⁰ RABAEY, *Op. cit.*, p. 293-294.

⁴¹ DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnology Advances. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 465-469

⁴² DANIEL, D.K; DAS MANKIDY, B; AMBARISH K; MANOGARI, R. Construction and operation of a microbial fuel cell for electricity generation from wastewater. En: International Journal of Hydrogen Energy. Agosto, 2009, vol. 34 no. 17, p. 7557

Tabla 1. Bacterias principales con capacidad de producción de energía.

Bacteria	Sustratos
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Azúcares como lactosa, sacarosa y glucosa, en presencia de óxido de manganeso. ⁴³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hidrocarburos, azúcares, utiliza variedad de compuestos orgánicos como sustrato. ^{44,45}
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Compuestos orgánicos y algunas vitaminas. ⁴⁶
<i>Geobacter metallireducens</i>	Ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, compuestos monoaromáticos con Fe III, Uranio, Nitrato, disolventes clorados. ^{47,48}
<i>Escherichia coli</i>	Azúcares como glucosa, lactosa, sacarosa, peptona, NaCl. ⁴⁹

⁴³ LARSEN, Inga; LITTLE, Brenda; NEALSON, Kenneth; RAY, Rinchar; STONE Alan; TIAN, Juihan. Manganite reduction by *Shewanella putrefaciens*. En: American Mineralogist. [base de datos en línea] Vol. 83 (1998); p. 1564 [20 de abril de 2016].

⁴⁴ RUIZ MARTINEZ, Lidia. *Pseudomonas Aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antibióticos. Barcelona, 2007, p. 3. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de medicina. Departamento de patología.

⁴⁵ SOBERÓN CHÁVEZ, Gloria. *Pseudomonas aeruginosa*: una bacteria fascinante y temible. En: III Encuentro participación de la mujer en la ciencia. 2010: Ciudad de México. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México: 2010. p. 1-5

⁴⁶ BOND, D. R; LOVLEY, D. R. Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* Attached to Electrodes. En: Applied and environmental microbiology. [base de datos en línea] Vol. 69 no. 3 (marzo de 2003); p. 1548-1550 [20 de abril de 2016].

⁴⁷ ROMERO, Alba; VASQUEZ, Jorge; GONZALEZ, Armando. Bacterias, fuente de energía para el futuro. En: Tecnura. [base de datos en línea] Vol. 16 no. 32 (abril-junio de 2012); p. 120-121 [28 de mayo de 2016].

⁴⁸ TREMBLAY, Pier-Luc; AKLUJKAR, Muktak; LEANG, Ching; NEVIN, Kelly P; LOVLEY, Derek. A genetic system for *Geobacter metallireducens*: role of the flagellin and pilin in the reduction of Fe(III) oxide. En: Environmental Microbiology Reports. [base de datos en línea] Vol. 4 no. 1 (noviembre de 2012); p. 82-88 [20 de abril de 2016].

⁴⁹ XI, Ming-yue; SUN, Yan-ping. Preliminary study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst. En: The Chinese Journal of Process Engineering. Diciembre, 2008, vol. 8 no. 6, p. 1180

1.2.3 Materiales de construcción de una MFC. La cámara catódica y anódica se suelen fabricar en acrílico o en vidrio, este material no afecta el rendimiento de la celda. El material de los electrodos debe ser conductor, para permitir el flujo de electrones, se puede usar cobre, platino o grafito. La membrana que separa las dos cámaras es muy importante, ya que impide el paso de electrones de la cámara anódica hacia la catódica, pero si permite el flujo de protones, pueden ser membrana de intercambio de cationes (PEM), membrana bipolar, membrana de micro filtración, puente salino o fibra de vidrio.⁵⁰

Teniendo en cuenta que el material de los electrodos es uno de los aspectos que influye de manera significativa en la producción de energía eléctrica y que además determina en gran manera el costo de la MFC, es importante conocer los diferentes materiales que pueden ser usados como ánodo y cátodo. Dicho material debe contar con algunas características generales como lo es tener buena conducción, estabilidad química, alta resistencia mecánica y bajo costo; Actualmente los materiales de carbono y metales no corrosivos son los más usados ya que cumplen con los requisitos generales mencionados, a continuación, se presentan algunos de ellos.⁵¹

Figura 6. Materiales para los electrodos usados en MFC.



Fuente: WEI, Jincheng; LIANG, Peng; HUANG, Xia. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. Mayo-julio, 2011, vol. 102 no. 20, p. 9335.

⁵⁰ XI, Ming-yue; SUN, Yan-ping. Preliminary study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst. En: The Chinese Journal of Process Engineering. Diciembre, 2008, vol. 8 no. 6, p. 1179-1180

⁵¹ WEI, Jincheng; LIANG, Peng; HUANG, Xia. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. Mayo-julio, 2011, vol. 102 no. 20, p. 9335.

En la figura 6 se muestra, A. Papel de carbón, B. Placa de grafito, C. Tela de carbono, D. Malla de carbono, E. Grafito granular, F. Carbón activado granular, G. Filtro de carbono, H. Carbono reticulado vitrificado, I. Cepillo de carbono, J. Malla de acero inoxidable.⁵²

Los electrodos pueden clasificarse en dos grupos: bioelectrodos y electrodos químicos, los primeros además de ser conductivos son portadores de bacterias y deben tener alta rugosidad superficial, buena biocompatibilidad, y una transferencia eficiente de electrones entre las bacterias y la superficie del electrodo; los segundos deben cumplir con los requisitos generales mostrados anteriormente. A continuación, se muestran los diferentes materiales que pueden ser usados tanto para el cátodo como para el ánodo.⁵³

1.2.3.1 Materiales para el ánodo. Los materiales más usados son los materiales a base carbono gracias a su buena biocompatibilidad, buena estabilidad química, alta conductividad y coste relativamente bajo. Los materiales pueden clasificarse de acuerdo a su estructura, pudiendo ser planos (tela de carbón y placas de grafito, filtro de carbono, malla de carbono), empacados (grafito granular, barras de grafito, carbón activado granular), cepillo (cepillo de grafito, cepillos de fibra de carbono).⁵⁴

Existen algunos materiales no carbonados que han sido usados, uno de ellos son los metálicos debido a su alta conductividad, mayor a la de los materiales ya mencionados, sin embargo, no son ampliamente usados debido a la necesidad de que deban ser no corrosivos, los únicos que han sido utilizados son el acero inoxidable y el titanio.⁵⁵

1.2.3.2 Materiales para el cátodo. Este aspecto es uno de los más estudiados actualmente, teniendo en cuenta que limita el rendimiento de las MFC. Dentro de los materiales usados para cátodo se encuentran los ya mencionados para el ánodo con la diferencia de que para este caso se usa un catalizador como Pt para favorecer la reducción del oxígeno, aunque el uso de este no es necesario, pues se ha estudiado el uso de ferrocianuro para reemplazar este catalizador, sin embargo, es una sustancia que genera varios problemas durante el proceso.⁵⁶

Para poder entender el funcionamiento de las MFC es necesario tener en cuenta diferentes generalidades que se presentarán a continuación.

⁵² WEI, Jincheng; LIANG, Peng; HUANG, Xia. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. Mayo-julio, 2011, vol. 102 no. 20, p. 9336.

⁵³ *Ibíd.*, p. 9335.

⁵⁴ *Ibíd.*, p. 9335.

⁵⁵ *Ibíd.*, p. 9337-9338

⁵⁶ *Ibíd.*, p. 9340-9342

1.3 CÉLULA PROCARIOTA

Se abordará el tema de células procariotas únicamente, debido a que las bacterias (células procariotas) serán usadas en el proyecto de investigación, esta célula tiene la siguiente estructura: pared celular, membrana plasmática, ribosomas, inclusiones y el nucleoide, adicionalmente se encuentran flagelos, filamentos axiales, fimbrias y pili. La membrana plasmática es la que separa el exterior y el interior de la célula, tiene 8 nm de espesor, esta actúa como una barrera muy selectiva que permite que en el interior de la célula se concentren algunos metabolitos y se excreten las sustancias de desecho, la pared celular cumple una función similar, rodea la membrana plasmática, le da forma a la célula y la protege de la presión generada al interior de la célula, cerca de 2 atmosferas, esta será la encargada de permitir el flujo de electrones al exterior. La capa responsable de la rigidez se denomina peptidoglucano.^{57, 58}

1.3.1 Pared celular. Como ya se mencionó anteriormente, la pared celular confiere cierta rigidez a la célula, sin embargo, ésta no es rígida, es elástica y es una capa delgada, es la encargada de proteger la membrana celular y evitar la ruptura de la célula bacteriana cuando se presentan presiones mayores en el interior de la célula que en el exterior. Determina en gran medida que el paso de los electrones hacia el ánodo pueda llevarse a cabo.^{59, 60}

1.3.1.1 Pared celular en Gram positivas. Es una pared celular que está compuesta por varias capas de peptidoglucano, aproximadamente 30-70% del peso seco de la pared, 40 capas de grosor que le confieren a la célula rigidez. Por otro lado, ésta pared contiene ácidos teicoicos que se componen de alcohol y fosfatos, los cuales cumplen la función de impedir que la pared celular sufra ruptura.^{61, 62}

1.3.1.2 Pared celular en Gram negativas. Ésta pared está compuesta por solo una o por muy pocas capas de peptidoglucano, aproximadamente 10%, junto a esta sustancia, se encuentran grandes cantidades de lipopolisacáridos y lipoproteínas que se encuentran adheridos al peptidoglucano. La pared celular en Gram negativas difiere de la pared de las Gram positivas en que ésta no contiene

⁵⁷ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 78-84

⁵⁸ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 29-33

⁵⁹ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 50-60

⁶⁰ TORTORA, Op. cit., p. 85

⁶¹ SCHLEGEL, Op. cit., p. 50-60

⁶² TORTORA, Op. cit., 85-86

ácido teicoico y debido a que tiene muy poca cantidad de peptidoglucano, es más susceptible de sufrir ruptura mecánica.^{63,64}

1.4 OXIDACIÓN – REDUCCIÓN

Como se mencionó anteriormente, las pilas de combustible microbianas producen energía eléctrica gracias a las reacciones de óxido reducción que tiene lugar tanto a nivel celular como en los electrodos.

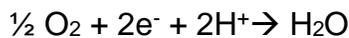
La oxidación se define como la pérdida de un electrón o electrones de una sustancia y una reducción se define como la ganancia de un electrón o electrones. Estas reacciones implican no solo la pérdida o ganancia de electrones sino también una transferencia de átomos complejos de hidrogeno, esto se da cuando el electrón es eliminado y el átomo de hidrogeno se convierte en protón o hidrogenión.⁶⁵

En muchos de los procesos de oxidación celular, los protones y electrones se eliminan simultáneamente, esto equivale a la eliminación de átomos de hidrógeno, debido a que un átomo de hidrógeno está compuesto por un protón y un electrón, por ello, a este proceso se le conoce como deshidrogenación, pues dicho tipo de reacciones están relacionadas con la pérdida de átomos de hidrogeno.⁶⁶

1.4.1 Donadores y aceptores de electrones. Las reacciones mencionadas anteriormente requieren de un donador de electrones y de un aceptor de los mismos, por ejemplo, el hidrógeno gas puede liberar electrones e hidrogeniones y oxidarse:



Para que un electrón pueda estar en una solución debe haber átomos y moléculas, y por otro, la reacción mostrada es solo la mitad del proceso, ya que para cualquier oxidación ocurra es necesario que se dé una reducción, de esta manera, con la oxidación del hidrógeno se puede presentar la reducción del oxígeno gaseoso, junto con los dos hidrogeniones y los dos electrones liberados en la:



⁶³ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 85-86

⁶⁴ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 50-60

⁶⁵ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 114-115

⁶⁶ TORTORA, Op. cit., p. 123

La reacción general de esta oxido-reducción sería:



Para el caso mencionado anteriormente se presenta el H₂ (sustancia oxidada) como el donador de electrones y el O₂ (sustancia reducida) como el aceptor de electrones.⁶⁷

1.4.2 Transportadores de electrones. En la célula, cuando ocurren las reacciones de óxido-reducción, el transporte de los electrones desde el donador hacia el aceptor se da gracias a intermediarios llamados transportadores. Cuando se usan estos intermediarios se dice que el donador inicial es el donador primario de electrones y que el aceptor final es el aceptor terminal de electrones. Entre el donador primario y el aceptor terminal existe una diferencia en los potenciales de reducción el cual determina el cambio neto de energía de la reacción completa.^{68,69}

Los transportadores de electrones pueden dividirse en dos clases generales: los que se difunden libremente y los que están anclados con las enzimas en la membrana citoplasmática. Los que se difunden libremente incluyen las coenzimas nicotinamida adenina dinucleotido (NAD⁺) y NAD⁻ fosfato (NADP⁺), los dos mencionados anteriormente son transportadores de átomos de nitrógeno y siempre transportan dos átomos de hidrógeno al próximo transportador de la cadena. Las coenzimas intervienen ayudando a que moléculas muy diferentes actúen como donadoras y aceptores de electrones.^{70,71}

Otros autores dan una clasificación diferente, puesto que dividen estas moléculas en tres clases. La primera clase son las flavoproteínas, las cuales contienen riboflavina (vitamina B₂) y tienen la función de realizar reacciones de oxidación y reducción de manera alternativa. Una coenzima importante presente en esta clase es la flavinamononucleotido (FMN). La segunda clase está conformada por los citocromos, los cuales son proteínas que contienen grupos hemo (hierro) que actúan de manera alternativa entre un estado de reducción y uno de oxidación, los citocromos presentes en la cadena transportadora de electrones son: citocromo b (cit b), citocromo c₁ (cit c₁), citocromo c (cit c), citocromo a (cit a) y el citocromo a₃ (cit a₃). Finalmente se encuentra la tercera clase, conformada por la ubiquinona o

⁶⁷ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 116-118

⁶⁸ MADIGAN, Op. cit., p. 122-124

⁶⁹ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 125

⁷⁰ MADIGAN, Op. cit., p. 125-128

⁷¹ *Ibíd.*, p. 126

coenzima Q. Vale la pena destacar que cada bacteria puede tener una cadena diferente de transporte de electrones.^{72, 73}

Gracias a la cadena transportadora de electrones es posible que las bacterias tengan la capacidad de ceder electrones al ánodo de una pila de combustible.

1.4.3 Fermentación y fosforilación a nivel sustrato. Las rutas para que se produzca la oxidación de compuestos orgánicos y se conserve la energía en forma de ATP, son dos principalmente: la fermentación y la respiración. La fermentación es aquella en donde los procesos de óxido-reducción ocurren en ausencia de aceptores terminales de electrones, estas reacciones de compuestos orgánicos son balanceadas internamente con liberación de energía. La respiración es aquella en donde el oxígeno molecular u otros oxidantes sirven como aceptores terminales de electrones, siendo esta (fosforilación oxidativa), el mecanismo usado por las bacterias utilizadas en MFC.⁷⁴

En la fermentación el ATP se produce por un proceso llamado fosforilación a nivel de sustrato durante el catabolismo del compuesto orgánico y en pasos enzimáticos muy concretos, mientras que en la fosforilación oxidativa el ATP es producido a través de unos procesos que no están conectados directamente con el metabolismo de los sustratos.⁷⁵

1.4.4 Sistemas transportadores de electrones. La cadena de transporte de electrones se da de la siguiente manera: El NADH, NADPH (nicotinamida adenina dinucleotido fosfato), FAD (forma oxidada) y FADH₂ (forma reducida) son provenientes del ciclo de Krebs. Estas moléculas en su estado reducido representan el donador primario de electrones en la cadena de transporte de electrones a través de una serie de transportadores de electrones que se ubican en entre el citoplasma y el periplasma de la célula.^{76,77}

Estos transportadores incluyen flavoproteínas, proteínas hierro-azufre, quinonas y citocromos. Las funciones principales de esta cadena son aceptar electrones

⁷² MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 127

⁷³ TORTORA, TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 124

⁷⁴ MADIGAN, Op. cit., p. 119

⁷⁵ TORTORA, Op. cit., p. 134-137

⁷⁶ ORIHUELA, María del Socorro Salazar. Generación de energía eléctrica a partir del tratamiento de aguas residuales por medio de bioceldas [en línea]. Informe final. Mexico. Instituto mexicano de tecnología del agua, 2013. [consultado el 02 de marzo de 2016. Disponible en internet: (<http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1377/1/TC-1314.1.pdf>), p. 25-26

⁷⁷ MADIGAN, Op. cit., p. 116-118

procedentes de un donador de electrones y transferirlos al siguiente aceptor de electrones, además de conservar la energía liberada durante el proceso de transporte para posteriormente producir ATP.^{78, 79}

Luego, el electrón abandona el centro de reacción y pasa a otra quinona, libre en la bicapa lipídica, al reducirse, la quinona forma quinol, el cual es un buen reductor (donador de electrones). El electrón es capaz de pasar el periplasma gracias al citocromo c, el cual es el encargado de transportar los electrones hacia el ánodo y permitir el flujo de electrones hacia el citocromo bc.^{80, 81}

El proceso mencionado anteriormente provoca un bombeo de protones (átomos de hidrógeno H⁺) hacia la parte exterior de la membrana, generando un potencial electroquímico de protones, los cuales serán usados por las ATP-sintasas para la producción de ATP celular. Por lo general se establece que tres protones son necesarios para producir una molécula de ATP. Mientras los electrones son transportados a través de toda la cadena, los átomos de hidrógeno son bombeados fuera de la célula o hacia el periplasma. Esta liberación genera una fuerza móvil de protones a través de la membrana celular, liberándose aproximadamente 10 protones por cada par de electrones derivado de un NADH.⁸²

En la figura 7 se presenta la cadena transportadora de electrones para determinada bacteria.

⁷⁸ TORTORA, TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 124-125

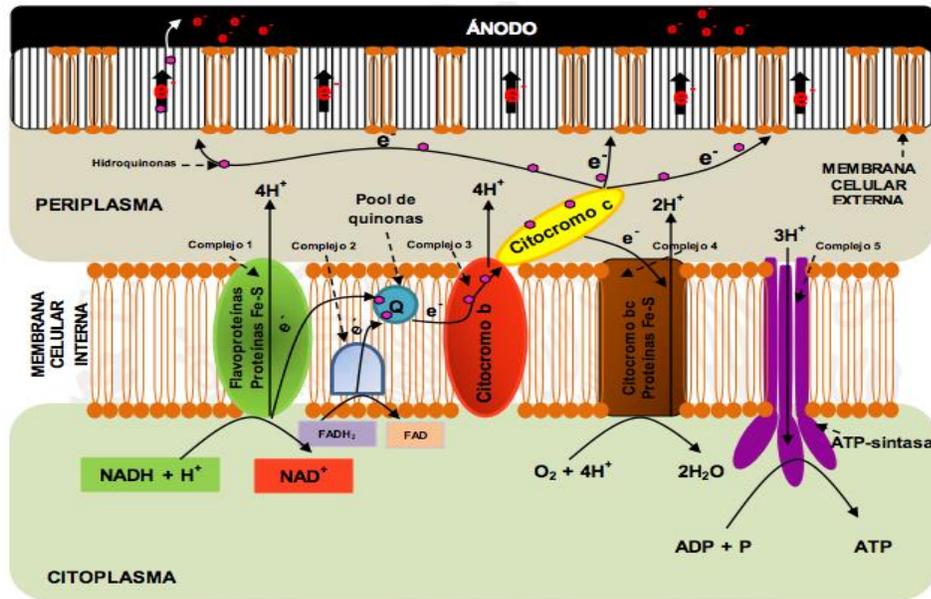
⁷⁹ ORIHUELA, María del Socorro Salazar. Generación de energía eléctrica a partir del tratamiento de aguas residuales por medio de bioceldas [en línea]. Informe final. Mexico. Instituto mexicano de tecnología del agua, 2013. [consultado el 02 de marzo de 2016. Disponible en internet: (<http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1377/1/TC-1314.1.pdf>), p. 27-28

⁸⁰ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 116-118

⁸¹ ORIHUELA, Op. cit., p. 24-28

⁸² ORIHUELA, Op. cit., p. 24-28

Figura 7. Generación fuerza motriz de protones. Modelo de transferencia de electrones en una celda de combustible microbiana (modelos *Geobacter sulfurreducens*).



Fuente: ORIHUELA, María del Socorro Salazar. Generación de energía eléctrica a partir del tratamiento de aguas residuales por medio de bioceldas [en línea]. Informe final. México. Instituto mexicano de tecnología del agua, 2013. [consultado el 02 de marzo de 2016. Disponible en internet: <http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1377/1/TC-1314.1.pdf>

1.4.5 Respiración anaeróbica. Otra de las maneras que existen para la producción de energía es mediante aceptores de electrones diferentes al oxígeno. Debido a que la cámara en donde se encuentran las bacterias es anaerobia, es necesario entender este tipo de respiración. Los aceptores pueden ser nitratos (NO_3^-), ion férrico (Fe^{3+}), sulfatos (SO_4^{2-}), carbonatos (CO_3^{2-}), y algunos compuestos orgánicos. Este proceso les permite a algunos microorganismos la respiración en medios con bajas concentraciones de oxígeno, sin embargo, en la respiración anaeróbica se produce menos energía que en la aerobia debido a dos factores principalmente, el primero es gracias a que el par O_2/H_2O tiene un E_0 más electropositivo que cualquiera de los aceptores mencionados anteriormente y el segundo se debe a que en este proceso el ciclo de Krebs se desarrolla parcialmente y por ende no todas las moléculas de transporte actúan en esta respiración. En consecuencia, los factores mencionados conllevan a que la producción de ATP sea mucho menor que en la respiración aerobia, logrando

determinar de esta manera que los microorganismos anaerobios se desarrollan más lentamente que los aerobios.⁸³

Algunas bacterias como la *Pseudomonas* y *Bacillus* pueden utilizar el ion nitrato como aceptor final (NO_3^-), éste ion es reducido a ion nitrito (NO_2^-) y finalmente a óxido nitroso (N_2O) o nitrógeno gaseoso (N_2), otras como *Desulfovibrio* utilizan el ion sulfato (SO_4^{2-}) para convertirlo en sulfuro de hidrogeno (H_2S) y por otra parte usan el ion carbonato (CO_3^{2-}) para formar metano (CH_4).⁸⁴

1.5 CRECIMIENTO MICROBIANO

Para llevar a cabo la producción de energía eléctrica junto con la disminución de contaminantes en aguas residuales es fundamental que las condiciones de crecimiento sean las adecuadas las bacterias, consiguiendo de esta manera que los microorganismos puedan llevar a cabo los dos procesos mencionados de manera simultánea y con la obtención de buenos resultados.

El crecimiento se define como el incremento en el número de células microbianas en una población, y no como el aumento en el tamaño de las células, también puede ser medido como un incremento en la masa microbiana. Durante el crecimiento, las células forman grupos denominados colonias que hacen posible que los microorganismos puedan ser vistos por el microscopio. Otro término asociado es la velocidad de crecimiento, la cual relaciona el número de células o masa celular por unidad de tiempo. El tiempo de generación es el tiempo que tarda en formarse dos células a partir de una, en ocasiones llamado tiempo de duplicación, en esta etapa todos los componentes estructurales de la célula se duplican, haciendo que, durante una sola generación tanto las células como la masa celular se dupliquen.^{85, 86}

Hay cuatro fases de crecimiento las cuales se explicarán brevemente a continuación.⁸⁷

- Fase de adaptación: En esta etapa las bacterias se adaptan a los nutrientes del medio, por ende, no hay crecimiento y el tiempo de duración de esta fase puede ser largo o corto.

⁸³ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 122-124

⁸⁴ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 129-133

⁸⁵ TORTORA, Op. cit., p. 174

⁸⁶ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 211-213

⁸⁷ TORTORA, Op. cit., p. 176-177

- Fase exponencial: Se lleva a cabo la división celular que conlleva a la duplicación de las mismas, la mayoría de los microorganismos crecen exponencialmente pero las velocidades de este crecimiento pueden variar; esta velocidad depende de algunas condiciones ambientales como temperatura y composición del medio, además de las características genéticas del microorganismo, es decir, los procariontes suelen crecer más rápido que los eucariotes, y los eucariotes pequeños lo hacen más rápido que los grandes.
- Fase estacionaria: Ocurre cuando el medio no se renueva y por ende los microorganismos no pueden efectuar el crecimiento exponencial indefinidamente, esto sucede cuando un nutriente esencial del medio se agota o algún producto de desecho se acumula, alcanzando concentraciones que inhiben el crecimiento exponencial. En esta fase no hay un incremento neto ni decremento celular, sin embargo, algunos microorganismos pueden llegar a tener crecimiento lento en esta fase y otros pueden morir simultáneamente.
- Fase de muerte: Ocurre cuando el proceso de incubación continúa a pesar de que la población haya alcanzado la fase estacionaria; las células deben permanecer vivas y metabólicamente activas, pero otras deben morir, cuando estas mueren se dice que hay fase de muerte, esta fase es también exponencial, pero siendo más lenta que el crecimiento exponencial.

1.5.1 Nutrición de los microorganismos. Los nutrientes que son usados por los microorganismos se encuentran disueltos en el agua, a partir de estos, los microorganismos obtienen la energía y el material celular, dichos nutrientes varían para cada especie, debido a que la nutrición microbiana se ve afectada por otros factores que se mostrarán más adelante.⁸⁸

1.5.1.2 Requerimientos nutricionales elementales. Los requerimientos nutricionales se dividen en dos grupos, los macroelementos y los microelementos. Los macroelementos son: carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, azufre, fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro (C, O, H, N, S, P, K, Na, Ca, Mg, Fe), los cuales están presentes en todos los microorganismos. Los microelementos u oligoelementos son: manganeso, molibdeno, zinc, cobre, níquel, vanadio, boro, cloro, selenio, silicio, wolframio, entre otros, los cuales no son necesarios para todos los microorganismos, se encuentran también los metales pesados, los cuales son componentes de las enzimas que transforman sustancias inorgánicas (O_2 , N_2 , H_2 , S^0 , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+), estas son sustancias de las cuales se requieren trazas y en algunas ocasiones pueden ser tóxicas a muy bajas concentraciones.⁸⁹

1.5.2 Factores ambientales que afectan el crecimiento microbiano. Algunos de los factores que influyen en el crecimiento microbiano se presentan a continuación.

⁸⁸ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 193-195

⁸⁹ *Ibíd.*, p. 203

- **Temperatura:** Este es uno de los factores que más afecta el crecimiento y la supervivencia microbiana influyendo de diferentes maneras. En primera instancia, al aumentar la temperatura las reacciones enzimáticas son más rápidas haciendo que el crecimiento también lo sea, sin embargo, si se supera cierto límite de temperatura, las proteínas, ácidos nucleicos y ciertos componentes celulares pueden dañarse irreversiblemente. Debido a esto cada microorganismo tiene una temperatura mínima, una óptima y una máxima, es decir, por debajo de la mínima no hay crecimiento, en la óptima el crecimiento es el máximo posible y por encima de la máxima no hay crecimiento; la temperatura óptima siempre está más cerca de la máxima que de la mínima, además, pueden variar ligeramente dependiendo de la composición del medio de cultivo.⁹⁰

Los microorganismos se pueden dividir en cuatro grupos según su temperatura óptima: psicófilos (< 20°C), tienen temperaturas óptimas bajas, mesófilos (20°C – 42°C) con temperaturas óptimas medias, termófilos (>40°C) con temperaturas óptimas más altas e hipertermófilos (>80°C y 100°C) con temperaturas muy altas. Existen además los termotolerantes, los cuales son capaces de crecer aún a 50°C, y finalmente los termófilos extremos, los cuales tienen una temperatura óptima por encima de los 65°C.^{91,92,93}

- **Acidez y alcalinidad (pH):** se mide en una escala donde pH 7 es neutralidad, valores menores a 7 se consideran ácidos y valores mayores, alcalinos o básicos; se debe destacar que el pH es una escala logarítmica, por ende, un cambio en una unidad de pH representa 10 veces el cambio en la concentración de hidrogeniones.⁹⁴

Al igual que con la temperatura, cada microorganismo tiene un pH óptimo en el cual el crecimiento es más favorable. La mayoría de las bacterias crecen mejor en un rango de pH entre 6,5 y 7,5, y muy pocas crecen por debajo de un pH de 4, por ende, pocas especies pueden crecer en pH menores a 2 o mayores a 10; aquellos que crecen en pH bajos se llaman acidófilos. Existen otros microorganismos que tienen pH óptimos de 10-11, estos se conocen como

⁹⁰ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 151-152

⁹¹ *Ibíd.*, p. 153-154

⁹² SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 196-202

⁹³ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 160-162

⁹⁴ MADIGAN, Op. cit., p. 155-156

alcalofilos y viven comúnmente en ambientes carbonatados y lagos bicarbonatados.^{95, 96}

- Disponibilidad de agua (Presión osmótica): Todos los microorganismos requieren de agua para su crecimiento, pero la disponibilidad de agua no solo depende de su contenido en el medio sino también de la concentración de solutos en ella, es decir, hay solutos que tienen gran afinidad por el agua haciendo que esta no pueda ser utilizada por los microorganismos.⁹⁷

El agua se difunde desde una región de elevada concentración (baja concentración de soluto) hacia una de baja concentración (concentración de soluto más alta), este es el proceso denominado osmosis, cuando un microorganismo se encuentra en una solución donde hay una concentración de solutos mayor que el de la célula, el agua celular atraviesa la membrana plasmática y se difunde hacia una zona de mayor concentración de soluto. La disponibilidad de agua se expresa como actividad de agua, y es la razón entre la presión de vapor de aire en equilibrio con una sustancia o solución y la presión de vapor, a la misma temperatura del agua pura; por tanto, sus valores varían entre 0 y 1.^{98,99}

- Oxígeno: Su función principal es ser el aceptor final de electrones en la respiración aerobia. Los microorganismos varían de acuerdo a la tolerancia o necesidad de oxígeno, es por esto que se pueden dividir en diversos grupos dependiendo del efecto de oxígeno. Los aerobios capaces de crecer en presencia de oxígeno (en aire la concentración de oxígeno es del 21%), algunos lo pueden hacer incluso a concentraciones mayores. Los microaerofilos pueden crecer en presencia de oxígeno, pero solo cuando la concentración es más baja que la del aire (a presiones parciales de aire entre 0,01 – 0,03 bar). Los anaerobios son aquellos que carecen de sistema respiratorio por ende no pueden crecer en presencia de oxígeno, y los aceptores finales de electrones deben ser diferentes al oxígeno. Existen anaerobios aerotolerantes que pueden tolerar el oxígeno y crecer en presencia de él, y anaerobios estrictos que mueren en presencia de oxígeno, estos últimos no toleran el oxígeno debido a que no tienen enzimas que puedan

⁹⁵ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 161-162

⁹⁶ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 156-157

⁹⁷ *Ibíd.*, p. 157

⁹⁸ *Ibíd.*, p. 159-160

⁹⁹ TORTORA, Op. cit., p. 162

descomponer los productos tóxicos que se producen cuando se reduce el oxígeno.^{100, 101}

- Carbono: Además de los factores mencionados anteriormente, el carbono es fundamental debido a que la mitad del peso seco de una célula bacteriana es carbono. Por otro lado, es importante destacar que en los quimioheterotrofos la mayor fuente de energía a partir de carbono (carbohidratos, proteínas, lípidos).¹⁰²
- Nitrógeno: También hace parte de los elementos primordiales para el crecimiento microbiano. A partir de éste se producen moléculas como DNA y RNA, proteínas, al igual que en la síntesis de ATP. Así como el carbono corresponde a la mitad del peso seco de una célula bacteriana, el nitrógeno es el 14%. La función principal del nitrógeno es obtener el grupo amino presente en los aminoácidos.¹⁰³

1.5.3 Medios de cultivo. Para que un cultivo de microorganismos pueda crecer, debe estar en un medio que contenga los nutrientes necesarios, dicha solución acuosa en donde están presentes estos nutrientes se llama medio de cultivo. Además de los nutrientes que hacen posible que se produzcan más células idénticas entre sí, se requiere de una fuente de energía, ya sea un compuesto orgánico, inorgánico o la luz. El medio de cultivo debe tener fuentes de carbono y nitrógeno junto con otros nutrientes, y el medio puede ser preparado para usarse en medio líquido o como geles en estado semisólido gracias la adición de un solidificante que comúnmente es el agar.^{104,105}

1.5.3.1 Medios de cultivo químicamente definidos. Un medio de cultivo químicamente definido es aquel al cual se le conoce la composición exacta, dichos medios deben contener los nutrientes necesarios para que el microorganismo pueda crecer, por ejemplo, para los microorganismos quimioheterotrofos, el medio debe contener fuentes de carbono y energía tales como glucosa, fosfatos, nitratos, cloruros y agua.¹⁰⁶

¹⁰⁰ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 161-163

¹⁰¹ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 198-200

¹⁰² TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 163

¹⁰³ *Ibíd.*, p. 163

¹⁰⁴ MADIGAN, *Op. cit.*, p. 107

¹⁰⁵ TORTORA, *Op. cit.*, p. 168

¹⁰⁶ *Ibíd.*, p. 168

1.5.3.2 Medios complejos. Son usados para aquellos microorganismos de los cuales no se tiene suficiente información acerca de los requerimientos nutricionales, éstos se cultivan en medios con extractos de levadura y carne o peptona, estos extractos le proporcionan al medio vitaminas, minerales, nitrógeno orgánico y compuestos ricos en carbono, sin embargo, la mayor parte de carbono, nitrógeno y azufre son aportados por proteínas que solo una minoría de bacterias son capaces de utilizar directamente. ^{107, 108}

1.6 AGUAS RESIDUALES

La identificación del sustrato (agua residual) para el desarrollo del proyecto de investigación depende de su composición, por ello reconocer el agua residual, sus tipos y características hace parte de uno de los criterios de selección de las bacterias.

1.6.1 Agua residual doméstica. Se puede identificar al agua residual doméstica como un sustrato químicamente complejo, es decir, al cual no se le conoce una composición definida, además, contiene gran variedad de vitaminas, minerales, proteínas y carbohidratos posibilitando el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos. Proviene de las heces y orina humana, del aseo personal, la cocina y la limpieza de los hogares, en general contienen gran cantidad de materia orgánica y microorganismos, residuos de jabones y detergentes, aceites y grasas. ^{109,110}

Generalmente el agua residual doméstica puede llegar a tener la siguiente composición.

1.6.1.1 Materia orgánica. Dentro de los compuestos orgánicos los principales que se pueden encontrar son proteínas (40-60%) las cuales son degradadas a aminoácidos. Los carbohidratos (25-50%) conformados principalmente por almidón, celulosa y azúcares entre los cuales se encuentra glucosa, lactosa, sacarosa, fructosa y galactosa. Las grasas y aceites (10%) las cuales son descompuestas lentamente por bacterias generando como resultado glicerina y

¹⁰⁷ SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997, p. 196

¹⁰⁸ TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007, p. 169

¹⁰⁹ METCALF, Eddy. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización. Ed. Mc Graw Hill. México. 1997.

¹¹⁰ RIVAS MIJARES, G: Tratamiento de aguas residuales. segunda ed. Ediciones Vega. Caracas. 1978.

ácidos grasos. Finalmente, otro constituyente orgánico primordial del agua residual es la urea ya que es el constituyente principal de la orina.^{111, 112}

1.6.1.2 Materia inorgánica. El principal material inorgánico que se puede encontrar en aguas residuales domésticas son cloruros procedentes de la contaminación fecal, nitrógeno orgánico, amoníaco, también puede encontrarse nitritos y nitratos en forma de materia proteica y urea, fósforo presente en soluciones acuosas como ortofosfato (PO_4 , HPO_4 , H_2PO_4 y H_3PO_4), polifosfato y fosfato orgánico, azufre producto de la descomposición de proteínas, compuestos tóxicos inorgánicos constituidos por cobre, plomo, plata, cromo, arsénico y boro; estos resultan ser muy tóxicos para los microorganismos, y metales pesados como níquel, manganeso, plomo, cromo, cadmio, zinc, cobre, hierro y mercurio.^{113, 114}

1.6.2 Agua residual sintética. Son medios compuestos por sustancias orgánicas e inorgánicas basados en aguas residuales, su utilización se limita a estudios de pequeña escala debido a que en ocasiones se dificulta trabajar con aguas residuales domésticas o industriales, ya sea por la variabilidad en la composición o por el tipo de contaminante que contengan. Este tipo de agua tiene la ventaja de tener composiciones y concentraciones controladas, evitando así, los problemas que conlleva el uso del agua residual real.¹¹⁵

1.6.3 Niveles en el tratamiento de aguas residuales. El tratamiento convencional de aguas residuales está dividido en tres niveles.

- Tratamiento primario: Consiste en separaciones físicas, el material que ingresa a la planta se hace pasar por unas rejillas y cribas que eliminan objetos grandes, luego el efluente se deja reposar para permitir que los sólidos se sedimenten. Vale la pena destacar que después de este tratamiento se sigue teniendo agua contaminada, por esto no es recomendable hacer solo este tratamiento.¹¹⁶
- Tratamiento secundario: Se reduce la carga orgánica presente en el agua residual, hasta niveles aceptables, se realiza mediante procesos microbiológicos como la digestión anaerobia. Teniendo en cuenta lo

¹¹¹ METCALF, Eddy. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización. Ed. Mc Graw Hill. México. 1997.

¹¹² RIVAS MIJARES, G: Tratamiento de aguas residuales. segunda ed. Ediciones Vega. Caracas. 1978.

¹¹³ METCALF, Op. cit.,

¹¹⁴ RIVAS MIJARES, Op. cit.,

¹¹⁵ TORRES LOZADA, Patricia; FORESTI, Eugenio; VAZOLLER, Rosana F.; Composición y uso de agua residual doméstica en reactores a escala de laboratorio. [En línea]; Cali; p. 2

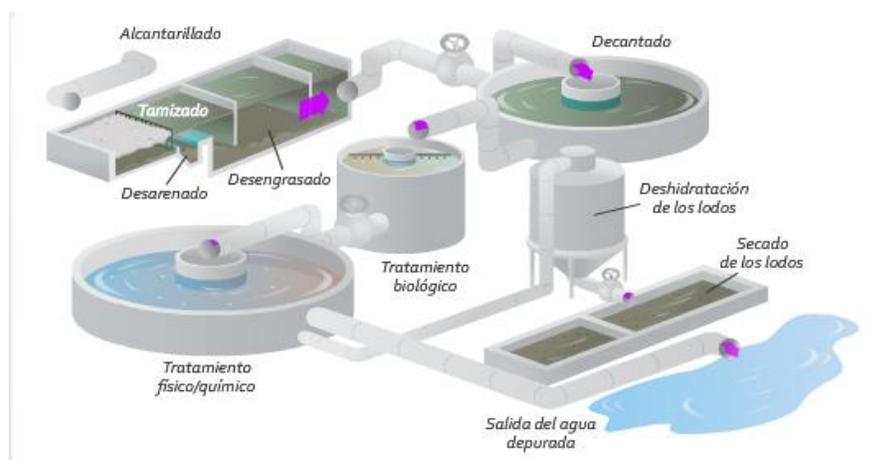
¹¹⁶ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 927

mencionado anteriormente, es en esta parte del tratamiento donde las celdas de combustible microbianas pueden llegar a ser aplicadas, debido a que es una tecnología que utiliza procesos microbiológicos para llevar a cabo su funcionamiento.¹¹⁷

- Tratamiento terciario: Es el proceso más completo para el tratamiento, pero no es muy usado debido a su alto costo. Este es proceso fisicoquímico que utiliza precipitación, filtración y cloración para reducir en gran cantidad los niveles de compuestos inorgánicos presentes en el agua, en especial los nitratos y fosfatos.¹¹⁸

En la figura 8, se presenta una figura donde se puede observar los tres niveles en el tratamiento del agua residual.

Figura 8. Niveles en el tratamiento de aguas residuales.



Fuente: DIDACTALIA. Tratamiento de aguas residuales. [En línea]. Argentina. [consultado el 22 de octubre de 2016].

¹¹⁷ MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998, p. 928

¹¹⁸ *Ibíd.*, p. 929

2. METODOLOGÍA

Con base en el objetivo general y los objetivos específicos establecidos, se desarrollará cada uno de los puntos planteados, partiendo en primera instancia de la descripción paso a paso para la selección de las dos cepas, el desarrollo para la elección de las condiciones de operación de la MFC y, por último, se determinará el procedimiento para la evaluación de la cinética de crecimiento y producción de energía eléctrica.

2.1 SELECCIÓN DE DOS CEPAS CON CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA

2.1.1 Disponibilidad y selección de las cepas. Se realizará la selección de las cepas mediante un cuadro de ponderación, para estructurarlo se seleccionarán las cepas reportadas en artículos relacionados con producción de energía eléctrica y degradación de sustratos presentes en aguas residuales, esto mediante revisión en la base de datos Scopus, donde se encontraron:

- Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells de Bruce E. Logan y John M. Regan publicado el 16 de octubre del año 2006.
- Iron management and production of electricity by microorganisms realizado por Felipe Folgosa, Pedro Tavares y Alece Pereira publicado el 18 de agosto del año 2015.
- Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production de Jung Rae Kim, Booki Min, Bruce E. Logan publicado el 13 de enero del año 2005.
- Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp*, and their combine deffect with mediator on MFC performance publicado por Mohammad Reza Miroliaei, Abdolreza Samimi, Davod Mohebbi-Kalhari y Mohammad Khorram el 18 de octubre del 2014.
- Comparative bioelectrochemical analysis of *Pseudomonas aeriginosa* and *Escherichia coli* with anaerobic consortia as anodic biocatalyst for biofuelcell application escrito por S. Veer Raghavulu, P.N. Sarma and S. Venkata Mohan el 29 de noviembre del año 2011.
- Preliminary Study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst de XI Ming-yue y SUN Yan-ping el 23 de octubre del año 2008.

Se efectuará una ponderación de uno a cinco, siendo uno el de menor favorabilidad y cinco el de mayor, teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Variabilidad enzimática: De acuerdo a la Tabla 1, se tendrá en cuenta que, a mayor variabilidad, mayor será la favorabilidad, pues permitirá que la bacteria pueda crecer en diferentes medios y, por ende, tendrá una mayor aplicación en aguas residuales domésticas.
- Documentos referenciados teniendo en cuenta el número de menciones de cada microorganismo en artículos disponibles en Scopus sobre MFC, donde, las bacterias con 1000 o más menciones obtendrán como ponderación 5 y menores o iguales a 150 obtendrán un valor de 1.
- Disponibilidad a las colecciones de cultivos. Para las cuales, 5 será la ponderación de aquellas que sean de fácil adquisición y 1 las de baja disponibilidad.

2.1.2. Condiciones de crecimiento de las cepas seleccionadas.

2.1.2.1 Temperatura. Se seleccionará la temperatura con base en las características fisiológicas y metabólicas de cada microorganismo, mediante una revisión bibliográfica de artículos científicos que permitan identificar las temperaturas óptimas de crecimiento de cada cepa seleccionada para operar en una celda de combustible microbiana. Para el control de la temperatura en la fase experimental se dispondrá de un sistema tipo “cámara” en el que se mantendrá la temperatura.

2.1.2.2 pH. Siendo el pH una variable importante en el crecimiento de ambas cepas y el proceso de producción de energía, se harán una serie de pruebas modificando el pH teniendo el rango reportado para cada cepa, con el fin de medir la incidencia de este en la producción de energía y la degradación de contaminantes en las aguas residuales. El pH durante la experimentación será ajustado con 1 N NaOH.

2.1.2.3 Oxígeno. Según las características de las cepas y sus requerimientos de oxígeno, se dispondrá del uso de cámaras anaerobias, según sea el requerimiento de crecimiento de las dos cepas seleccionadas.

2.1.3 Selección del material de los electrodos. Se seleccionarán dos materiales de electrodos, a partir de los cuales se obtendrá el material que, combinado con las condiciones de crecimiento, permita la mayor producción de energía.

La selección se realizará mediante un cuadro de ponderación de uno a cinco, donde se tendrá en cuenta factores tales como:

- Cantidad de energía producida, observada en artículos disponibles sobre los materiales en los últimos 10 años, siendo 1 el material con menor cantidad de energía producida, y 5 el de mayor.

- Costo del material, teniendo en cuenta que se propone ensamblar una celda de bajo costo, se le dará una ponderación de 1 al material con mayor costo y 5 al de menor.
- Número de veces mencionado según la base del buscador Scopus en estudios relacionados con las dos cepas seleccionadas, se le dará una ponderación de 5 si se encuentra entre 901 – 1000 menciones, 4, para 701 – 900, 3, para 400 – 701, 2, 201 – 399 y finalmente 1 entre 1 – 200.
- Disponibilidad, se especifica según la disponibilidad a escala comercial de cada uno de los materiales determinados, la clasificación se hará de 1 a 5 siendo el 1, el material con menor facilidad de adquisición y 5 con la mayor facilidad.

2.1.4 Evaluación y selección del mediador. Teniendo en cuenta que para determinadas bacterias el uso de sustancias externas como el rojo neutro, el azul de metileno y la tionina actúan como mediador y favorecen el proceso de producción de energía eléctrica se evaluará el efecto de este a partir de las dos cepas seleccionadas, se establecerá el uso o no de mediador para las condiciones de operación elegidas anteriormente, temperatura, pH y material de los electrodos.
119,120,121

La selección del mediador se realizará teniendo en cuenta aquellos que han sido utilizados en diferentes estudios con celdas de combustibles microbianas, además, se seleccionará según el cumplimiento de las características mencionadas en el apartado 1.2.2.1.

Se realizará una ponderación teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- El mediador con más menciones en la base del buscador Scopus en artículos científicos relacionados con ambas bacterias. Sera 5 si tiene valor igual o mayor 11; 3, si esta entre 5 – 10 y 1, si es menor a 5.
- Disponibilidad, basada en la facilidad para adquirir el mediador, donde 5 será el de mayor accesibilidad y 1 el de menor.

¹¹⁹ HAN, Thi Hiep; KHAN, Mohammad Mansoob; KALATHIL, Shafeer; LEE, Jintae; CHO, Moo Hwan. Simultaneous enhancement of methylene blue degradation and power generation in a microbial fuel cell by gold nanoparticles. En: Industrial and Engineering Chemistry Research. [base de datos en línea]. Mayo, 2013, vol. 52. no 24, p. 3-5.

¹²⁰ POPOV, Arseniy L.; KIM, Jung Rae; DINSDALE, Richard M.; ESTEVES, Sandra R.; GUWY, Alan J.; PREMIER, Giuliano C. The effect of physico-chemically immobilized methylene blue and neutral red on the anode of microbial fuel cell. En: Biotechnology and Bioprocess Engineering. [base de datos en línea]. Diciembre, 2011, vol. 17. no 2, p. 361-363.

¹²¹ MIN, Booki; CHENG, Shaoan; LOGAN, Bruce E. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. En: Water Research. [base de datos en línea]. Marzo, 2005, vol. 39. no 9, p. 1675-1676.

- La cantidad de artículos más recientes donde han sido mencionados según la base de datos del buscador Scopus, siendo 5 los más recientes y 1 los menos, en los últimos 15 años.
- La economía o bajo costo del mediador, donde se le asignara 5 a aquel que tenga el menor costo y 1 al de mayor costo.

2.1.5 Selección del agua residual a evaluar. El agua residual es un factor determinante en la construcción de la celda de combustible microbiana, debido a que hará las veces de sustrato para los microorganismos que operen en ellas, es por eso, que el agua residual debe contener los nutrientes necesarios para que cada una de las cepas pueda crecer y desarrollar su metabolismo y fases de crecimiento. Se formulará un agua residual sintética que cumpla con parámetros tales como: relación carbono nitrógeno, pH, concentración de micronutrientes y macronutrientes y sólidos totales que puedan aproximarse a un agua residual real. De acuerdo con lo anterior se realizará una revisión en la cual, mediante el uso de referencias teóricas, se seleccionará el agua residual sintética a evaluar.

Se realizará una tabla de presentación de las posibles composiciones del agua residual sintética según los autores anteriormente mencionados, donde de allí se seleccionará la composición del agua residual a estudiar identificando el índice de citación en la base de datos del buscador Scopus, donde 1 será los artículos con menor número de citas y 5 con el mayor. Además, se tendrá en cuenta un diseño de experimentos que mantenga las mismas condiciones de operación y en el caso del agua las mismas concentraciones de nutrientes, para poder establecer la mejor combinación entre mediador, pH y material del ánodo, con la mayor producción de energía para las dos cepas seleccionadas.

2.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LAS CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS A ESCALA LABORATORIO PARA LAS DOS CEPAS

2.2.1 Selección del diseño de la celda. Hay diferentes configuraciones de celdas de combustible microbianas existentes, no obstante, en las investigaciones realizadas acerca de celdas de combustible microbianas, se han adoptado dos diseños tradicionales, uno de doble cámara, las cuales se encuentran conectadas por medio de un puente externo que permite el paso de protones y un segundo diseño que consta de una sola cámara, sin puente intermediario externo.

Para la selección del diseño de la celda, se realizará un cuadro comparativo entre ambas configuraciones destacando la importancia de las ventajas y desventajas de cada una.

2.2.1.1 Selección del material de las cámaras. El material de las cámaras en la celda de combustible microbiana, además de ser económico, debe tener características como, baja conductividad, puesto que se requiere que el transporte de electrones se dé exclusivamente a través de los electrodos presentes en el ánodo y el cátodo, si el material de las cámaras se caracteriza por ser buen conductor afectará el rendimiento de la celda, pues atraerá los electrones liberados durante el metabolismo de los microorganismos. No debe ser un material tóxico para los microorganismos, pero si, resistente a contaminantes como los previstos en el agua residual.

Para la correspondiente selección del material de ambas cámaras, se procederá a realizar un cuadro de ponderación con base en materiales previstos en investigaciones relacionadas con celdas de combustible microbianas. El cuadro de ponderación tendrá una calificación de uno a cinco para cada uno de los siguientes criterios:

- Costo del material, teniendo en cuenta que se propone ensamblar una celda de bajo costo, se le dará una ponderación de 1 al material con mayor costo y 5 al de menor.
- El material con más citación en artículos según la base del buscador Scopus en artículos científicos relacionados con ambas bacterias. Sera 5 si tiene valor igual o mayor 46; 4, si se encuentra entre 26 – 45; 3, si esta entre 15 – 25; 2, entre 6 – 15 y 1, si es menor a 5.
- Disponibilidad, basada en la facilidad para adquirir las cámaras con dicho material, donde 5 será el de mayor accesibilidad y 1 el de menor.

2.2.1.2 Determinación de la cantidad de sustrato. La cantidad de sustrato a utilizar en la experimentación dependerá del volumen de las cámaras, en especial para el ánodo. Además, de ser un proyecto limitado exclusivamente a escala laboratorio, el volumen de sustrato, en este caso agua residual sintética, se hará de acuerdo con los volúmenes correspondientes a dicha escala.

2.2.1.3 Selección del tamaño de los electrodos. Para determinar la medida de los electrodos se analizará mediante un cuadro, la relación entre la cantidad de sustrato usada en MFC y el tamaño de los electrodos.

En primera instancia, según las medidas establecidas en cada uno de los artículos, se determina el volumen de cada electrodo de la siguiente manera:

Ecuación 1. Volumen de una placa.

$$\text{Volumen} = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times \text{Espesor}$$

A continuación, se determina la relación entre el volumen de sustrato y el volumen de los electrodos.

Ecuación 2. Relación entre el sustrato y el volumen de los electrodos.

$$\text{Relación} = \frac{\text{Volumen del electrodo}}{\text{Volumen ocupado por el sustrato}}$$

Finalmente, con la relación seleccionada se procederá a determinar el volumen de los electrodos requerido según el volumen de sustrato propuesto.

Ecuación 3. Volumen de los electrodos.

$$\text{Volumen del electrodo} = (\text{Relación}) (\text{Volumen ocupado por el sustrato})$$

Teniendo el volumen de los electrodos, se procederá a determinar el largo, ancho y espesor de cada placa, teniendo en cuenta su volumen y el promedio de las medidas utilizadas en las diferentes investigaciones referenciadas, así como lo disponible comercialmente.

2.2.1.4 Selección del puente que permite el paso de protones. Seleccionado el diseño de la cámara, se procederá a la selección del puente que permite el paso de protones desde el ánodo al cátodo, dicho puente debe cumplir las características destacadas en el apartado 1.2.1, se realizará una preselección de puentes de intercambio protónico basados en estudios anteriores relacionados con celdas de combustibles microbianas. Para la selección del puente de intercambio protónico se realizará una ponderación determinando de uno a cinco el que cumpla con los siguientes criterios:

- Costo del puente, además de los otros materiales para la construcción de la MFC, el puente debe ser de bajo costo. En la ponderación contara con un valor de 1 el de mayor costo y 5 el de menor.
- Disponibilidad, el puente de intercambio protónico debe ser de fácil disponibilidad, por ende, se determinará de uno a cinco, siendo 1 el débil acceso y 5 de fácil adquisición.
- Permeabilidad, el puente de intercambio protónico, como se mencionó en el apartado 1.2.1 debe ser permeable solo al paso de protones, esto permite que los protones generados en el ánodo viajen hacia la cámara del cátodo, entre mayor permeabilidad obtendrá un puntaje de 5 y a menor de 1.

2.2.1.5 Definición de los equipos para la medición de energía eléctrica. Se sabe que se tiene como propósito en la investigación determinar cada uno de los parámetros relacionados con la producción de energía en la celda de combustible microbiana. Para llevar a cabo este propósito, se requerirá de equipos que permitan la medición principalmente de voltaje, partiendo de la existencia de un

circuito abierto (conexión directa de los electrodos al medidor de voltaje) o cerrado (conexión de los electrodos a una resistencia) que una los electrodos y permita la medición de dicha variable. Para la selección del circuito se realizará una revisión de artículos relacionados con la utilización de los dos tipos de circuito.

Teniendo en cuenta la selección del circuito a utilizar, se determinará si se requiere del conjunto de equipos externos que constituyen una celda de combustible tales como:

- **Multímetro:** Se seleccionará teniendo en cuenta el cumplimiento de las características de medición de voltajes mínimos.
- **Resistencia:** En caso de optar por circuito cerrado se requerirá de una resistencia, para la selección de esta se analizará mediante un cuadro el promedio de las resistencias usadas en diferentes investigaciones realizadas sobre MFC.
- **Cable conductor:** Se seleccionará teniendo en cuenta las propiedades del material del cual se encuentre hecho, pues debe poseer alta conductividad para permitir un adecuado flujo de los electrones.

2.2.2 Diseño de experimentos según las variables seleccionadas. Según los parámetros establecidos como variables durante la experimentación en el apartado 2.1, se planteará un diseño de experimentos, el cual consistirá en ciertas mediciones teniendo en cuenta la modificación de una o más variables.

2.2.3 Realización del montaje de las dos MFC. Se ensamblarán dos celdas de combustible microbianas a escala laboratorio, con las especificaciones establecidas en los resultados de los apartados 2.1, 2.2.1, 2.2.1.1, 2.2.1.2, 2.2.1.3, 2.2.1.4 y 2.2.1.5 (Anexo J).

2.2.4 Pruebas según el diseño de experimentos establecido. Se llevará a cabo según las especificaciones del diseño de experimentos, además de tener en cuenta parámetros para el ensamblaje de las celdas de combustible y los parámetros que serán susceptibles de modificaciones.

2.2.5 Estimación de parámetros para la evaluación de la energía producida. La cantidad de energía eléctrica de cada celda de combustible microbiana, será evaluada a partir de los siguientes parámetros.

- **Corriente eléctrica:** Siendo la corriente eléctrica el flujo de carga eléctrica por unidad de tiempo que recorre un conductor.

Ecuación 4. Intensidad de corriente eléctrica.

$$I = \frac{V}{R.\text{externa}}$$

I = Intensidad de corriente eléctrica en Amperios (A)

V = Voltaje en voltios (V)

R ext. = Resistencia externa en ohm (Ω)

- Potencia: Indica la cantidad de energía entregada o generada por la MFC en un tiempo específico.

Ecuación 5. Potencia.

$$P = V.I$$

P = Potencia en watts (W)

- Densidad de corriente: Cantidad de carga o corriente eléctrica que pasa a través del electrodo.

Ecuación 6. Densidad de corriente.

$$j = \frac{I}{a}$$

j = Densidad de corriente en Amperios/m² (A/m²)

a = Área del electrodo en metros cuadrados (m²)

- Densidad de potencia: Cantidad de energía generada por unidad de área del electrodo.

Ecuación 7. Densidad de potencia.

$$P^* = \frac{P}{a}$$

P* = Densidad de potencia en watts/m² (W/m²)

- Potencia volumétrica: Factor que indica la producción de energía respecto al volumen total de la celda de combustible microbiana.

Ecuación 8. Potencia volumétrica.

$$P_v = \frac{P}{v}$$

v = Volumen total de las celdas en metros cúbicos (m³)

2.2.6 Selección de la configuración de celda más eficiente energéticamente.

Se seleccionará la mejor combinación según el diseño de experimentos planteado, y cada una de las condiciones y variables que este requiera. Teniendo como parámetros de selección, la prueba con la mayor producción de energía eléctrica, medida en voltios, y los parámetros establecidos en el apartado 2.2.5, en especial el parámetro de potencia medida en watts.

2.2.6.1 Análisis de resultados mediante un modelo estadístico (ANOVA).

Partiendo del diseño de experimentos planteado se implementará un análisis estadístico con el fin de determinar las dos mejores combinaciones y el efecto de cada uno de los factores en la variación de los resultados. Dicho análisis se llevará a cabo mediante el uso del software Statgraphics, una herramienta de análisis de datos.

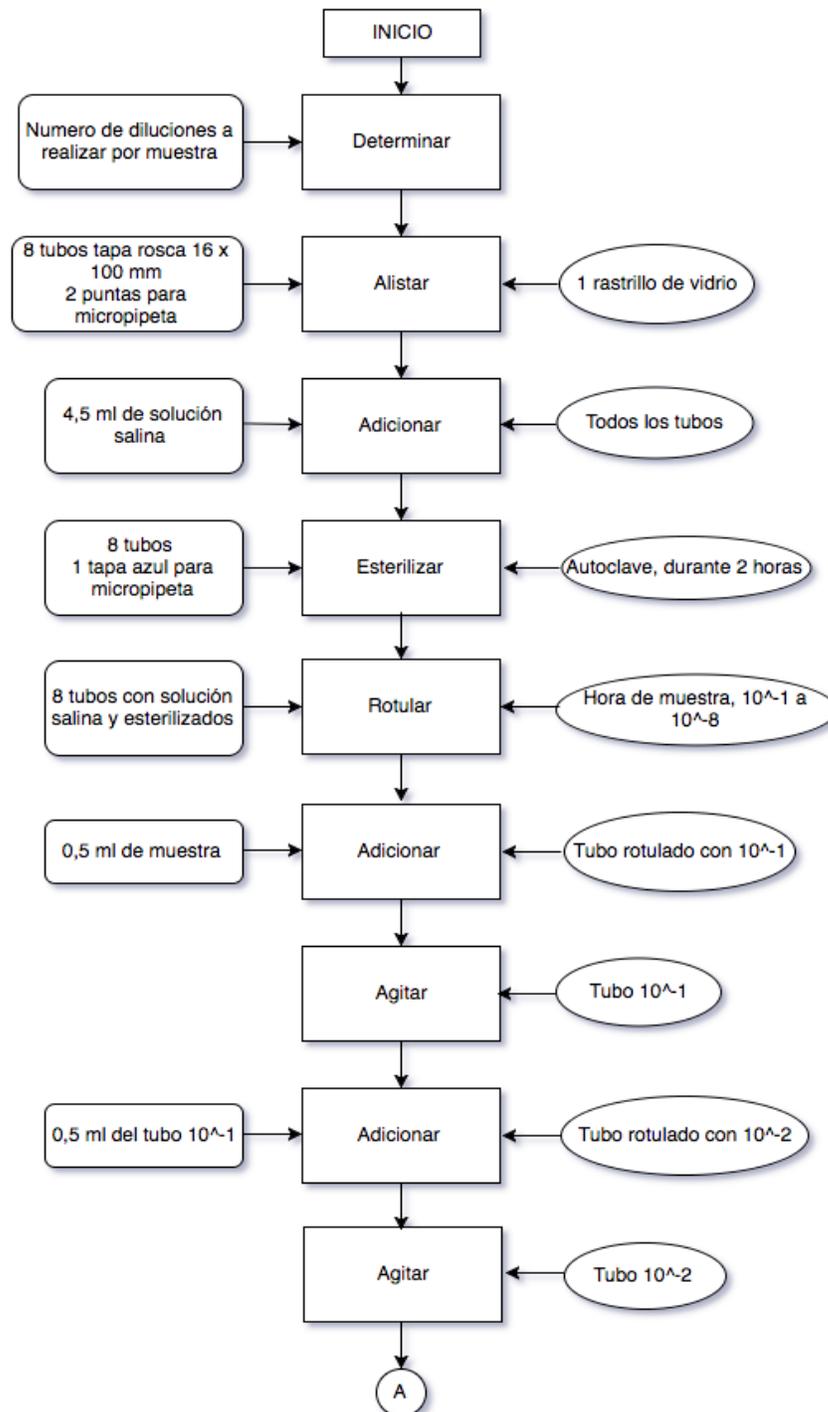
2.3 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA DE LAS CEPAS BAJO LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS

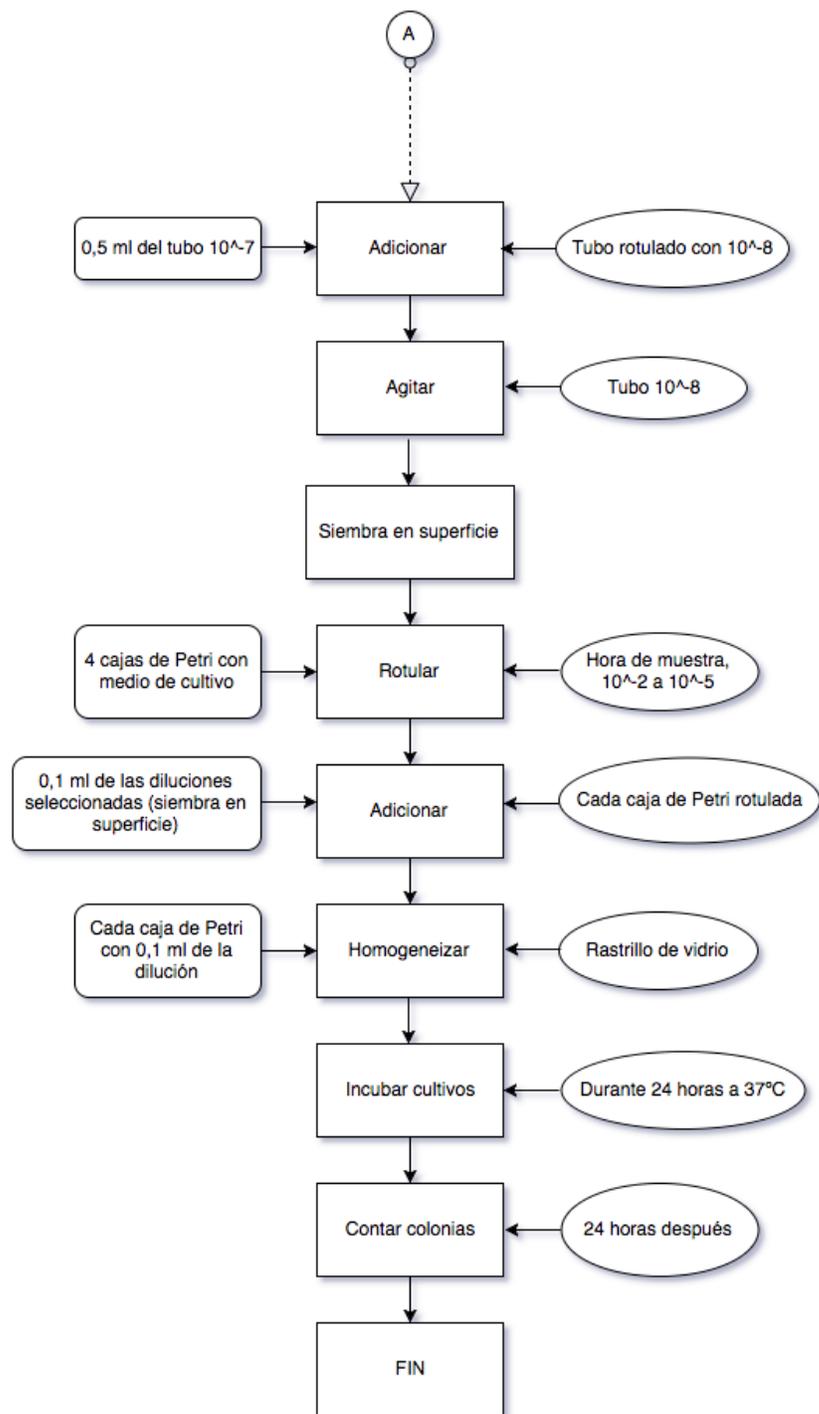
2.3.1 Replicas para las combinaciones seleccionadas. Se llevarán a cabo las pruebas a las mismas condiciones reportadas en el apartado 2.2.4, para las dos combinaciones seleccionadas según la mayor producción de energía eléctrica, medida en voltios y potencia medida en watts.

2.3.2 Evaluación de la cuantificación de crecimiento. Con el fin de efectuar la cinética de crecimiento y basados en las dos combinaciones seleccionadas, se evaluará el crecimiento microbiano junto con la producción de energía eléctrica para determinar el efecto de las diferentes etapas de crecimiento de las bacterias en la producción de dicha energía. Para llevar a cabo la evaluación ya mencionada y teniendo en cuenta el número de datos y la desviación estándar con respecto al tiempo aproximado del crecimiento de la bacteria, se tomará una muestra del medio presente en la cámara anódica cada 2 horas, durante 24 horas.

2.3.2.1 Procedimiento para realizar la curva de crecimiento microbiano. Para llevar a cabo el conteo de manera representativa en UFC/mL, es necesario realizar una serie de diluciones. El procedimiento para efectuar dichas diluciones junto con el conteo final se ilustrará en el diagrama 1.

Diagrama 1. Metodología para la determinación de diluciones y conteo en placa.





2.3.2.2 Evaluación de parámetros de crecimiento. Con el fin de evaluar el crecimiento de cada una de las bacterias es necesario tener en cuenta dos parámetros importantes, el tiempo de generación y la velocidad de crecimiento.

- Velocidad de crecimiento: se evalúa mediante la acción de la velocidad específica de crecimiento.
- ✓ Velocidad específica de crecimiento: es el incremento en la concentración celular por unidad de tiempo por cada célula. Esta puede medirse como la inclinación o pendiente de la curva de crecimiento cuando el logaritmo se traza con el tiempo.¹²²

Ecuación 9. Velocidad específica de crecimiento.

$$\mu = \frac{(\ln N_f - \ln N_0)}{(t_f - t_0)}$$

- Tiempo de duplicación: las velocidades de crecimiento celular se expresan generalmente en términos de tiempo de duplicación t_d . Tiempo en el cual las células tardan en duplicarse.¹²³

Ecuación 10. Tiempo de duplicación.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

- Afinidad por sustrato: se determinará mediante una comparación entre artículos donde se obtuvo la velocidad de crecimiento de las bacterias seleccionadas en otro medio diferente al elegido, y que permita realizar la comparación entre ambos sustratos, basados en sus velocidades de crecimiento.

2.3.3 Determinación de parámetros de calidad del agua. Con el fin de efectuar la evaluación de la depuración del agua residual mediante el efecto de las bacterias en las celdas de combustibles microbianas se realizará la prueba de la demanda química de oxígeno (DQO), la cual determinará la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica presente en el agua residual.

2.3.3.1 Análisis de DQO. Se determinará la demanda química de oxígeno para tres muestras, muestra del sustrato en blanco (sin bacterias) y las muestras resultantes de la cámara anódica de las dos combinaciones seleccionadas. El

¹²² DORAN, Pauline. Principios de ingeniería de los bioprocesos. España: Acribia, S.A. 1995. 291p.

¹²³ *Ibíd.*, p. 291

análisis correspondiente se desarrollará mediante el método SM 5220 D para un parámetro de análisis de A-DQO Rango medio (Colorimétrico).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo con la metodología planteada a continuación se describen los resultados obtenidos y el análisis de los mismos.

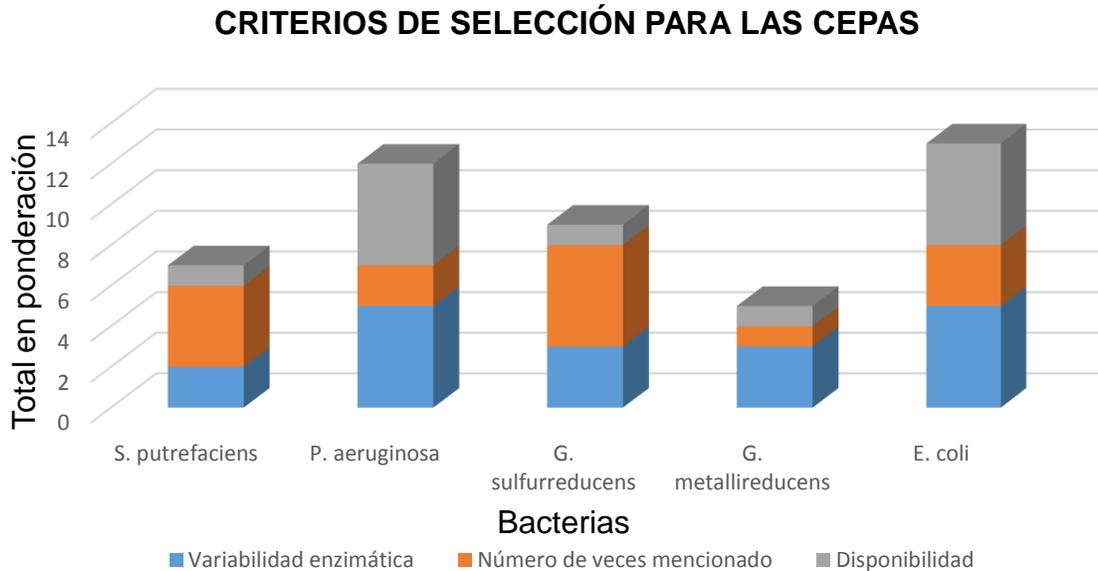
3.1 CEPAS SELECCIONADAS

3.1.1 Disponibilidad y selección. En el cuadro 1, se presenta la ponderación que permitirá la selección de las dos cepas a evaluar gracias a las calificaciones dadas (Anexo A, B, C y D).

Cuadro 1. Cuadro de ponderación para la selección de las cepas.

Bacteria	Variabilidad enzimática	Número de veces mencionado	Disponibilidad	Total
<i>Shewanella putrefaciens</i>	2	4 (655)	1	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2 (195)	5	12
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	3	5 (1148)	1	9
<i>Geobacter metallireducens</i>	3	1 (114)	1	5
<i>Escherichia coli</i>	5	3 (449)	5	13

Grafico 1. Selección de las cepas.



Como se pudo observar en el gráfico 1, se seleccionaron dos cepas que además de tener la capacidad de generar energía, resultan útiles para la degradación de contaminantes presentes en aguas. Las bacterias seleccionadas son *Escherichia coli* (microorganismos Gram negativos y anaerobios facultativos) y *Pseudomonas aeruginosa* (microorganismos Gram negativos, aerobios, pero pueden llegar a crecer en ambientes anaerobios en presencia de nitratos o arginina), de acuerdo con la ponderación realizada, obtuvieron un total de 13 y 12 puntos respectivamente y se deduce la alta disponibilidad de estas, además de ser bacterias con baja exigencia nutricional, es decir, tienen la capacidad de degradar diversidad de sustratos para el desarrollo de su metabolismo, entre estos agua residual, lo que proporciona el cumplimiento de los objetivos para el montaje y pruebas en las celdas de combustible microbianas.

Para llevar a cabo la experimentación se hizo uso del patrón de turbidez número 2 de Mac Farland para estandarizar la concentración de bacterias aproximada tanto *Escherichia coli* como *Pseudomonas aeruginosa* en una suspensión comparando la turbidez de la misma con la turbidez estándar. La metodología utilizada para la estandarización del inóculo se describe en el Anexo E.

3.1.2 Condiciones de crecimiento de las dos cepas.

3.1.2.1 Temperatura. Según características fisiológicas y metabólicas de cada microorganismo, a partir de las cuales se selecciona la temperatura óptima de operación de las MFC.

- *Escherichia coli*: Las condiciones de crecimiento óptimas consisten en temperaturas entre los 35 y 40 °C, es decir, son organismos mesófilos, es por ello que la celda de combustible microbiana se operara a una temperatura constante de 37°C durante todas las fases de crecimiento de la cepa.¹²⁴
- *Pseudomonas aeruginosa*: Para el crecimiento óptimo la temperatura se encuentra en un rango entre 4 y 42 °C, es decir, son organismos mesófilos, y es por ello que al igual que con la *Escherichia coli*, la celda de combustible microbiana se operara a una temperatura constante de 37°C durante todas las fases de crecimiento de dicha cepa.¹²⁵

Debido a que la temperatura óptima de crecimiento de ambos microorganismos es 37°C se determinó que esta sería la temperatura de operación de la celda, además será constante durante el proceso porque se requiere que el crecimiento sea favorable para que la generación de electrones sea mayor debido a que se produce un aumento en la cantidad de ATP y por ende la producción de energía incrementa.

3.1.2.2 pH. Teniendo en cuenta las características de cada cepa seleccionada se establecieron las variaciones de pH para cada una las cepas, como se muestra a continuación.

- *Escherichia coli*: Su pH óptimo de crecimiento se encuentra en un rango muy limitado entre 6,4 y 7,2 lo que las clasifica como microorganismos neutrófilos.¹²⁶ Se realizaron pruebas con dos valores de pH dentro del rango.
- *Pseudomonas aeruginosa*: Su pH óptimo de crecimiento se encuentra en un rango entre 4 y 8 lo que las clasifica como cepas neutrófilas, aun así, su pH óptimo de crecimiento entre el rango especificado es de 7, se realizaron pruebas con tres valores para pH según el rango.^{127,128}

¹²⁴ TALAAT, E. Shehata; ALLEN, G. Marr. Effect of Temperature on the size of *Escherichia coli* Cells. En: Journal of Bacteriology. Julio, 1975, vol. 124 no. 2, p. 857

¹²⁵ ANNETTE, E. La Bauve; MATTHEW, J. Wargo. Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas Aeruginosa*. En: Curr Protoc Microbiol. Mayo, 2012, p. 2

¹²⁶ MANDERSON, Daniel; DEMPSTER, Robert; CHISTI, Yusuf. A recombinant vaccine against hydatidosis: production of the antigen in *Escherichia coli*. Septiembre, 2005, vol. 33, p. 173

¹²⁷ RUIZ MARTINEZ, Lidia. *Pseudomonas Aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antibióticos. Barcelona, 2007, p. 6. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de medicina. Departamento de patología.

3.1.2.3 Oxígeno. Según las características de ambas bacterias, éstas pueden desarrollar su crecimiento a través de un medio anaerobio, por ello, se llevó a cabo el montaje de las dos celdas, donde el ánodo estuvo en condiciones anaerobias, con el único fin de permitir la producción de energía, evitando la reducción del oxígeno en esta.

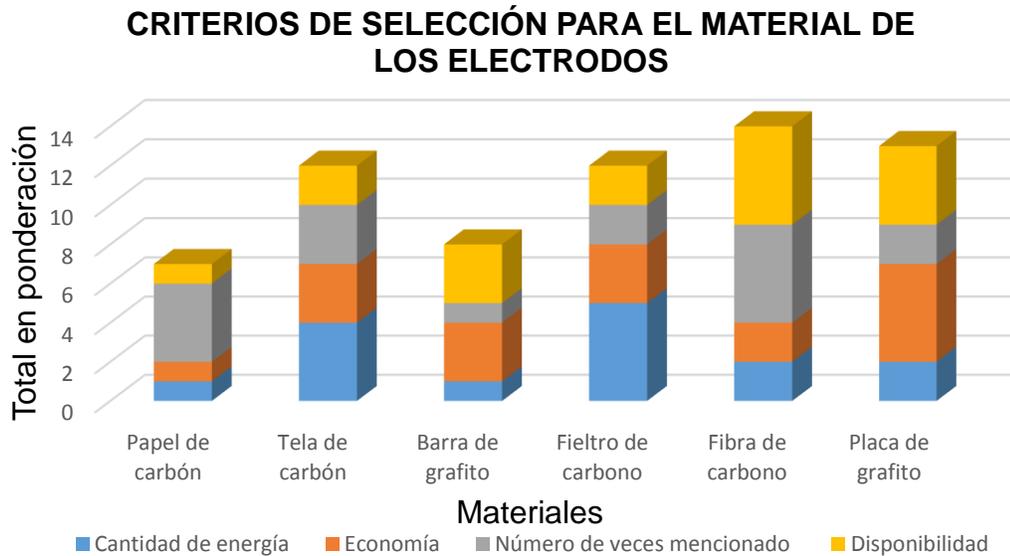
3.1.3 Material de los electrodos seleccionados. A continuación, se presenta en el cuadro 2, la ponderación que permitió la selección de los dos materiales a evaluar mediante las condiciones establecidas en el apartado 2.1.3 (Anexo F).

Cuadro 2. Cuadro de ponderación para la selección del material de los electrodos.

Material	Cantidad de energía	Costo	Número de veces mencionado	Disponibilidad	Total
Papel de carbón	1	1	4 (776)	1	7
Tela de carbón	4	3	3 (642)	2	12
Barra de grafito	1	3	1 (48)	3	8
Filtro de carbono	5	3	2 (373)	2	12
Fibra de carbono	2	2	5 (914)	5	13
Placa de grafito	2	5	2 (231)	4	13

¹²⁸ KATHIRAVAN, T; MARYKALA, J; SUNDARAMANICKAM, A; KUMARESAN, S; BALASUBRAMANIAN T. Studies on nutritional requirements of *Pseudomonas Aeruginosa* for lipase production. En: Pelagia Research Library. 2012, vol. 1, p. 593

Grafico 2. Selección del material de los electrodos.



Se realizó la selección de dos materiales que cumplan con las condiciones establecidas en el cuadro de ponderación anterior, los materiales con mayor total en puntos fueron fibra de carbono y placa de grafito como se ilustra en el grafico 2.

3.1.4 Mediadores seleccionados. A continuación, se muestran los diferentes mediadores que han sido propuestos y usados para la *Escherichia coli*, así como los que produce las *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabla 2. Principales mediadores usados.

Bacteria	Mediadores	Concentración (mol/L)	Concentración (g/L)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Produce metabolitos pigmentados de la familia de las fenazinas a través de su metabolismo secundario:	--	

Tabla 2. (Continuación).

Bacteria	Mediadores	Concentración (mol/L)	Concentración (g/L)
	Piocianina de color azul	---	
	Ácido fenazina-1-carboxílico de color amarillo. ^{129,130}		
<i>Escherichia coli</i>	Azul de metileno ^{131,132,133,134}	0,01 - 0,05 ¹³⁵	3,19 – 15,9
		0,00469 ¹³⁶	1,5
		0,01 - 0,05 ¹³⁷	3,19 – 15,9
		0,01 ¹³⁸	3,19
		0,0003 ¹³⁹	0,0959

¹²⁹ ASAFF, Ali; GRACIDA, Jorge. Uso de aceites vegetales como fuente de carbono para la síntesis de fenazinas con *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 13388, p. 1 [01 de junio de 2016].

¹³⁰ SCHRÖDER, Uwe. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. En: Physical chemistry chemical physics. [base de datos en línea]. Mayo, 2007, vol. 9. no 21, p. 2624-2626

¹³¹ KIM, Hyung Joo; PARK, Hyung Soo; HYUN, Moon Sik; CHANGA, In Seop; KIM, Mia; KIM, Byung Hong. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. En: Enzyme and Microbial Technology. Abril-Agosto, 2002, vol. 30 no 2, p. 146-147

¹³² WANG, Chin-Tsan; CHEN, Wei-Jung; HUANG, Ruei-Yao. Influence of growth curve phase on electricity performance of microbial fuel cell by *Escherichia coli*. En: International Journal of Hydrogen Energy. [base de datos en línea]. Marzo, 2010, vol. 35. no 13, p. 7218-7219

¹³³ RAHIMNEJAD, M.; NAJAFPOUR, G. D.; GHOREYSHI, A. A.; SHAKERI, M.; ZARE, H. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. En: International Journal of Hydrogen Energy. Agosto, 2011, vol. 36. no 20, p. 13335-13336

¹³⁴ YADAV, Asheesh Kumar; DASH, Purnanjali; MOHANTY, Ayusman; ABBASSI, Rouzbeh; MISHRA, Barada Kanta. Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. En: Ecological Engineering. Julio, 2012, vol. 47, p. 126-127.

¹³⁵ REZA MIROLIAEI, Mohammad; SAMIMI, Abdolreza; MOHEBBI-KALHORI, Davod; KHORRAM, Mohammad. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp.*, and their combined effect with mediator on MFC performance. En: Journal of industrial and Engineering Chemistry. Octubre, 2014, vol. 25, p. 44

¹³⁶ XI, Ming-yue; SUN, Yan-ping. Preliminary study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst. En: The Chinese Journal of Process Engineering. Diciembre, 2008, vol. 8 no. 6, p. 1180

¹³⁷ REZA MIROLIAEI, Op. cit, p. 99

¹³⁸ MOROZAN, A. y STAMATIN, I. Carbon electrodes for microbial fuel cells. En: Journal of Optoelectronics and Advanced Materials. vol. 9, no. 1, p. 221-224.

¹³⁹ SUBRAMANIAN, K; SUGANDHRAJ, B. Bioelectricity from sugar factory effluent through a microbial fuel cell in presence of mediators. En: Asian Journal of Microbiology. vol. 17, p. 615-621.

Tabla 2. (Continuación).

Bacteria	Mediadores	Concentración (mol/L)	Concentración (g/L)
<i>E. coli</i>	Rojo neutro ^{140,141} Tionina ¹⁴²	0,00005 – 0,0005 ¹⁴³	0,0159 – 0,159
		0,0003 – 0,003 ¹⁴⁴	0,0959 – 0,959
		0,0003 ¹⁴⁵	0,0959
		0,0001 ¹⁴⁶	0,0289
		0,0003 ¹⁴⁷	0,0791

Con base en los mediadores proporcionados en la Tabla 2, se realiza un cuadro de ponderación para la selección del mediador teniendo en cuenta los parámetros mencionados en el apartado 2.1.4. Ver cuadro 3.

¹⁴⁰ HERRERO-HERNANDEZ, E.; SMITH, T. J.; AKID, R. Electricity generation from wastewaters with starch as carbon source using a mediatorless microbial fuel cell. En: Biosensors and Bioelectronics. Julio, 2013, vol. 39. no 1, p. 194.

¹⁴¹ DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnology Advances. Mayo, 2007, vol. 25. no 5, p. 467-469

¹⁴² Ibid., p. 467

¹⁴³ RAHIMNEJAD, Mostafa, et al. Investigation of different mediators in microbial fuel cell with cyclic voltammeter. En: Pakistan Journal of Biotechnology. vol. 10, no. 2, p. 37-51

¹⁴⁴ OLIVEIRA, Helinando P; DA COSTA, Mateus. Development of low cost microbial fuel cell based on Escherichia coli. OLIVEIRA, Helinando P; DA COSTA, Mateus. Development of low cost microbial fuel cell based on Escherichia coli. {En línea}. Disponible en: (https://www.researchgate.net/publication/292090493_Development_of_low_cost_microbial_fuel_cell_based_on_Escherichia_coli).

¹⁴⁵ SZOLLOSI, A; REZESSY, JM; HOSCHKE A. Novel method for screening microbes for application in Microbial fuel cell. En: Bioresour Technol. p. 179

¹⁴⁶ PARK, Doo Hyun; ZEIKUS, Gregory. Electricity generation in Microbial Fuel Cells using Neutral Red as an Electronophore. En: Applied Environmental Microbiology. Abril, 2000, vol. 66 no. 4, p. 1293

¹⁴⁷ Ibid., p. 1293.

Cuadro 3. Cuadro de ponderación para la selección del mediador.

Mediador	Número de veces mencionado	Disponibilidad	Reciente	Costo	Total
Azul de metileno	5 (18)	5	5	5 ^{148,149}	20
Rojo neutro	3 (10)	5	2	1 ^{150,151}	11
Tionina	1 (3)	5	2	3 ^{152,153}	11

El gráfico 3 ilustra los resultados obtenidos en la ponderación establecida para la selección del mediador que se usara entre la bacteria y el ánodo.

¹⁴⁸ SIGMA-ALDRICH CO. Methylene blue price. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=methylene+blue&interface=All&N=0&mode=partimax&lang=en®ion=CO&focus=product>

¹⁴⁹ AMAZON. Methylene blue stain. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: https://www.amazon.com/gp/offer-listing/B00CGCBHHA/ref=dp_olp_new_mbc?ie=UTF8&condition=new

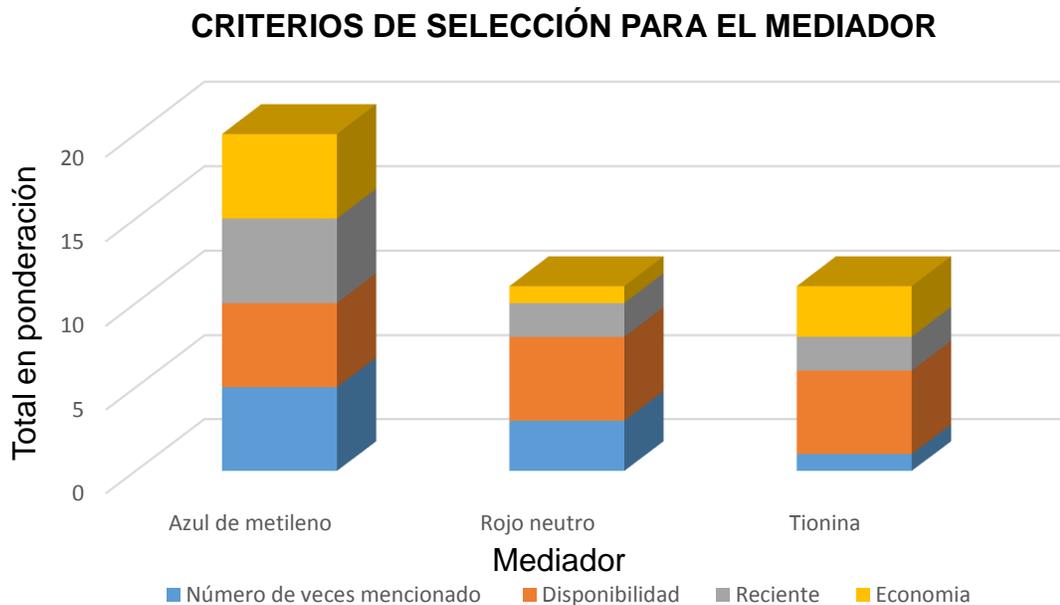
¹⁵⁰ SIGMA-ALDRICH CO. Neutral red price. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/n4638?lang=en®ion=CO>

¹⁵¹ AMRESCO. NEUTRAL RED >90%. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: <http://www.amresco-inc.com/NEUTRAL-RED-90-E470.cmsx>

¹⁵² SIGMA-ALDRICH CO. Thionin acetate price. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/88930?lang=en®ion=CO>

¹⁵³ J&K SCIENTIFIC LTD. Thionine acetate, 90%, high purity biological stain. [en línea]. [02/06/2016]. Disponible en: <https://www.jk-scientific.com/Product/ProductDetails/44237>

Grafico 3. Selección del mediador.



Se seleccionó el azul de metileno ya que cumple con las características propuestas y tiene la mayor ponderación con respecto al rojo neutro y a la Tionina; cumple con el número de artículos más recientes donde ha sido mencionado y resulta fácil de adquirir.

La cantidad de mediador seleccionado para la experimentación fue la cual en la tabla 2, sobresale por ser la más usada, cumpliendo los parámetros necesarios correspondientes a la toxicidad de las bacterias y los mencionados en el apartado 2.1.4, se selecciona la cantidad de 0,0003 mol/L que equivale a 0,0959 g/L, según el valor presentado para el volumen de sustrato se someterá este valor a las modificaciones correspondientes.

3.1.5 Agua residual seleccionada. Con base en los apartados 1.6.1 y 1.6.2 se puede identificar al agua residual doméstica como un sustrato complejo de caracterizar y con composición inestable en el tiempo pero que puede llegar a ser de fácil adquisición y económica, lo contrario ocurre con el agua residual sintética, puesto que al tener una composición definida permite que sea un agua sencilla de caracterizar, sin embargo en ocasiones puede llegar a ser de alto costo debido a la necesidad de uso de compuestos con baja disponibilidad, una ventaja adicional del agua residual sintética consiste en la posibilidad de adaptación nutricional de esta a la necesidad del microorganismo, a diferencia del agua residual doméstica.

Según las características mencionadas anteriormente se seleccionó como sustrato el agua residual sintética pues debido a su estabilidad en su composición permite una comparación entre los diferentes resultados obtenidos mediante el diseño de experimentos, posibilitando obtener conclusiones eficaces, y generando una aproximación al uso de celdas de combustible microbianas en composiciones de agua residual real. A continuación, en la tabla 3, se muestra las composiciones de dos aguas residuales sintéticas diferentes, según el microorganismo usado en la MFC.

Tabla 3. Aguas residuales sintéticas.

Agua	Bacteria	Componentes	Concentración (g/L)	Número de veces citado
1	<i>Shewanella sp.</i> <i>Escherichia coli</i>	Glucosa	5	1
		Extracto de levadura	5	
		NaHCO ₃	2,5	
		NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	2	
		Peptona	15	
		KCl ¹⁵⁴	2	
2	<i>Escherichia coli</i>	Glucosa	10	5
		Peptona	10	
		Levadura	5	
		NaCl	10	
		NaHCO ₃	10	
		NaH ₂ PO ₄ ¹⁵⁵	8,5	
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucosa	10	86
		Extracto de levadura	5	
		NaHCO	6,8	
		NaH ₂ PO ₄ ¹⁵⁶	8,5	

¹⁵⁴ REZA MIROLIAEI, Mohammad; SAMIMI, Abdolreza; MOHEBBI-KALHORI, Davod; KHORRAM, Mohammad. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp.*, and their combined effect with mediator on MFC performance. En: Journal of industrial and Engineering Chemistry. Octubre, 2014, vol. 25, p. 44 [02 de junio de 2016].

¹⁵⁵ XI, Ming-yue; SUN, Yan-ping. Preliminary study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst. En: The Chinese Journal of Process Engineering. Diciembre, 2008, vol. 8 no. 6, p 1180 [02 de Junio de 2016].

¹⁵⁶ LIU, Jing, et al. Graphene/carbon cloth anode for high-performance mediatorless microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. vol. 114, p. 275-280.

Es por ello que según la ponderación de uno a cinco en el número de veces citado cada artículo evidenciado en la base de datos del buscador Scopus y los requerimientos nutricionales de las cepas seleccionadas, se formulará un agua sintética con las características y concentraciones similares a la especificada por XI, Ming-yue y SUN, Yan-ping. Según la composición del agua residual sintética seleccionada se decidió hacer uso de un medio de cultivo con los mismos requerimientos nutricionales presentes en el agua seleccionada, se seleccionó el caldo Tripticasa de soya, por su similitud en los componentes presentes en el agua y por su costo (Anexo G).

3.2 CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LAS MFC A ESCALA LABORATORIO PARA LAS DOS CEPAS

3.2.1 Celda seleccionada. A continuación, se mostrará el cuadro comparativo entre ambas configuraciones de celdas de combustible microbianas.

Cuadro 4. Cuadro comparativo de tipos de celdas.

Configuraciones de celdas	Características
De dos cámaras	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Bajo costo. ✓ No requiere necesariamente de membrana PEM para el intercambio protónico, lo que la hace menos costosa. ✓ Su escalamiento es complejo, a pesar que pueden funcionar en forma continua o discontinua. ✓ Se previene la difusión de oxígeno a la cámara del ánodo. ✓ Los compartimientos pueden adoptar diversas formas prácticas.
De una cámara	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Es necesario el uso de una membrana PEM. ✓ Alto costo. ✓ El cátodo es expuesto directamente al aire. ✓ Sus diseños son complejos ✓ No requiere de bombeo de aireación.

Con base en el cuadro 4, se selecciona el tipo de celda de doble cámara, pues se puede identificar que la configuración de celda de combustible microbiana con dos cámaras tiene ciertas ventajas frente a la configuración de una sola cámara.

3.2.1.1 Material de las cámaras. Teniendo en cuenta las variables de costo, número de veces mencionado en la base del buscador Scopus y la disponibilidad como fue nombrado en el apartado 2.2.1.1 (Anexo H).

Cuadro 5. Cuadro de ponderación para la selección del material de las cámaras.

Material	Costo	Número de veces mencionado	Disponibilidad	Total
Vidrio¹⁵⁷	3	5 (185)	5	13
Policarbonato¹⁵⁸	4	2 (10)	3	9
Acrílico Plexiglás^{159, 160}	1	1 (5)	3	5
Acrílico¹⁶¹	2	3 (25)	4	9
Poliestireno¹⁶²	3	4 (45)	4	11
Polipropileno¹⁶³	5	3 (17)	5	13

¹⁵⁷ DU, Zhuwei; LI, Haoran y GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances*. vol. 25, no. 5, p. 464-482

¹⁵⁸ *Ibid.*, p. 464-482.

¹⁵⁹ *Ibid.*, p. 464-482.

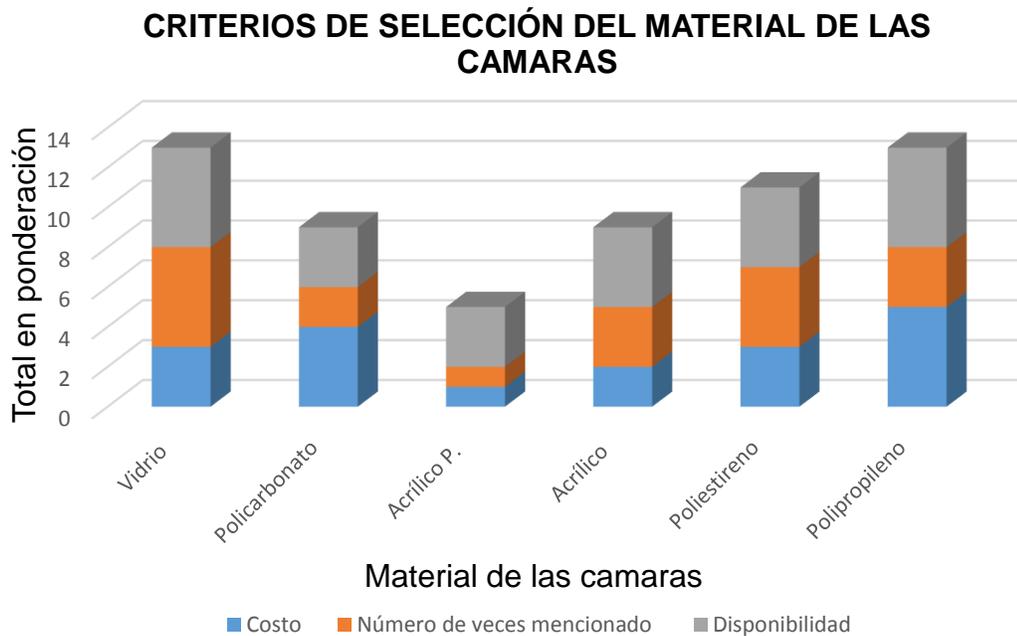
¹⁶⁰ MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella* sp., and their combined effect with mediator on MFC performance. En: *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. vol. 25, p. 42-50

¹⁶¹ HERRERO-HERNANDEZ, E.; SMITH, T. J. y AKID, R. Electricity generation from wastewaters with starch as carbon source using a mediatorless microbial fuel cell. En: *Biosensors and Bioelectronics*. vol. 39, no. 1, p. 194-198

¹⁶² A. S. O, Gomes., C. E, La Rotta H., M, Nitschke., E. R, Gonzalez. Evaluation of Current Output in *Pseudomonas Aeruginosa* Microbial Fuel Cells Using Glycerol as Substrate and Nafion 117 as Proton Exchange Membrane. En: *Advancing solid state and electrochemical science and technology*. vol.; 41. no 1.

¹⁶³ MARTINUCCI, E., et al. Energy balance and microbial fuel cells experimentation at wastewater treatment plant Milano-Nosedo. En: *International Journal of Hydrogen Energy*. vol. 40, no. 42, p. 14683-14689

Grafico 4. Selección del material de las cámaras.



Gracias al cuadro 5 de ponderación, se selecciona como material de las cámaras el polipropileno, en una presentación en frasco con tapa sellable, debido a su bajo costo y disponibilidad, obteniendo en la ponderación un total de 13 como se observa en el gráfico 4, al igual que lo obtenido con el material de vidrio, sin embargo, por costo se seleccionó el polipropileno.

3.2.1.2 Cantidad de sustrato definido. La cantidad de sustrato a utilizar en la experimentación será de 800 mL, debido a que se realizará a escala laboratorio.

3.2.1.3 Tamaño de los electrodos. Se reconoce la relación entre la cantidad de sustrato y el tamaño de los electrodos mediante el siguiente cuadro.

Cuadro 6. Relación entre la cantidad de sustrato y el tamaño de electrodos.

Número de artículo	Cantidad de sustrato (cm ³)	Medida de electrodos (cm)	Volumen electrodos (cm ³)	Relación	Referencia
1	760	4 x 7 x 0,2	5,6	7,36x10 ⁻³	164
2	500	4,6 x 2,7 x 0,6	7,45	14,90x10 ⁻³	165
3	400	5 x 5 x 1	25	62,5x10 ⁻³	166
4	25	4 x 5 x 0,05	1	40x10 ⁻³	167
5	35	1 x 2 x 0,05	0,1	2,85x10 ⁻³	168
6	70	19,6 cm ² x 0,05	0,98	14x10 ⁻³	169

Observando los datos presentados en el cuadro 6, se determinó que no existe una relación estándar entre la cantidad de volumen del sustrato y las medidas de los electrodos, debido a esto, se escogió la relación del volumen del sustrato más próxima a los 800 mL propuestos para la experimentación del proyecto. Por ende, se estableció la relación entre el volumen del sustrato y de los electrodos presentados por el artículo 1 del cuadro 6, y el volumen de sustrato propuesto, para determinar las medidas de los electrodos.

¹⁶⁴ RAHIMNEJAD, M., et al. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. En: International Journal of Hydrogen Energy. vol. 36, no. 20, p. 13335-13341

¹⁶⁵ LAY, Chyi How; KOKKO, Marika E. y PUHAKKA, Jaakko A. Power generation in fed-batch and continuous up-flow microbial fuel cell from synthetic wastewater. En: Energy. vol. 91, p. 235-241

¹⁶⁶ VEER RAGHAVULU, S.; SARMA, P. N. y VENKATA MOHAN, S. Comparative bioelectrochemical analysis of Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli with anaerobic consortia as anodic biocatalyst for biofuel cell application. En: Journal of Applied Microbiology. vol. 110, no. 3, p. 666-674

¹⁶⁷ MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Kinetics Investigation of Diversity Cultures of E. Coli and Shewanella Sp., and their Combined Effect with Mediator on MFC Performance. En: The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry, 2015. p. 42-50

¹⁶⁸ ZHAI, D. -D, et al. Enhanced power production from microbial fuel cells with high cell density culture. En: Water Science and Technology. vol. 73, no. 9, p. 2176-2181

¹⁶⁹ A. S. O, Gomes., C. E, La Rotta H., M, Nitschke., E. R, Gonzalez. Evaluation of Current Output in Pseudomonas Aeruginosa Microbial Fuel Cells Using Glycerol as Substrate and Nafion 117 as Proton Exchange Membrane. En: Advancing solid state and electrochemical science and technology. Vol.; 41. No 1.

Volumen de los electrodos = (800 mL) ($7,36 \times 10^{-3}$)

Volumen de los electrodos = 5,888 cm³

Según el volumen establecido, el espesor se determinó mediante la disponibilidad en los cortes del material, donde, se concluye que el espesor del grafito según su disponibilidad será de 1 cm, y el espesor para la tela será de 0,1 cm, un largo igual a 7 cm y un ancho de 4 cm, obteniendo un volumen de los electrodos de 28 cm³, para el grafito y 2,8 cm³ para la tela, por ende, el área total de cada electrodo es igual a 78 cm² y 58,2 cm² respectivamente.

3.2.1.4 Puente que permite el paso de protones. Con base en los criterios definidos en el apartado 2.2.1.4, se estableció el cuadro de ponderación para su selección (Anexo I).

Cuadro 7. Cuadro de ponderación para la selección del puente de intercambio protónico.

Puente	Costo	Disponibilidad	Permeabilidad al paso de protones	Total
Membrana de Nafion	1	2	5	8
Membrana Ultrex	1	1	5	7
Puente de sal con agar	5	5	3	13
170, 171, 172				

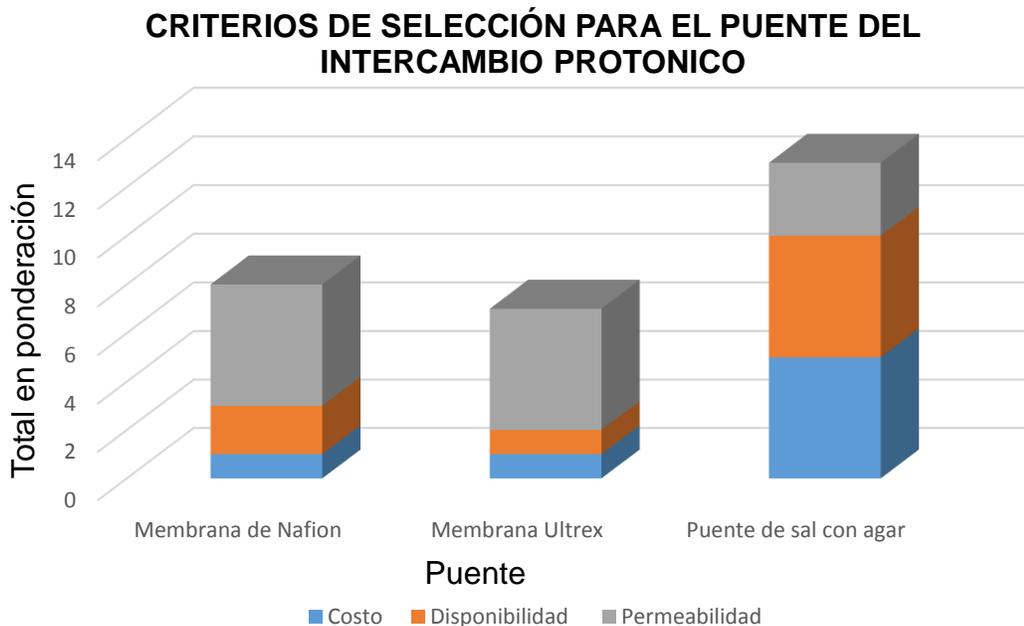
El grafico 5, permite identificar de manera concisa los resultados obtenidos durante la ponderación en el cuadro 7.

¹⁷⁰ LOGAN, Bruce E., et al. Microbial fuel cells: Methodology and technology. En: Environmental Science and Technology. vol. 40, no. 17, p. 5181-5192

¹⁷¹ DU, Zhuwei; LI, Haoran y GU, Tingyue. A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy. 2007. p. 464-4820734-9750

¹⁷² RAHIMNEJAD, M., et al. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. En: International Journal of Hydrogen Energy. vol. 36, no. 20, p. 13335-13341

Grafico 5. Selección del puente de intercambio protónico.



Según el cuadro 7 de ponderación, el puente de intercambio protónico seleccionado es el puente de sal con agar pues tuvo un total de 13 puntos, debido a su bajo costo y alta disponibilidad en el mercado, lo contrario ocurre con las membranas mencionadas, sin embargo, la permeabilidad al paso de protones es baja en comparación con estas.

3.2.1.5 Equipos para la medición de energía eléctrica. Se seleccionó el circuito abierto, ya que el uso de una resistencia en dicha medición no es necesario, pues se puede realizar directamente conectando cada electrodo sujeto a un alambre conductor con la lectura del multímetro lo que permite el cierre del circuito.

Basados en la selección de circuito abierto se determinará los equipos externos con las características mencionadas en el apartado 2.2.1.5.

- Multímetro: Se hará uso del multímetro digital UNIT UT33C con cinco funciones de medición para DCV, ACV, DCA, OHM y temperatura.
- Cable conductor: Se hará uso de un cable de cobre debido a sus altas propiedades de conducción eléctrica, su alta disponibilidad y bajo costo.

3.2.2 Diseño de experimentos. El diseño de experimentos a implementar fue un diseño factorial el cual se encuentra especificado en:

- Niveles: 2; al ser 2 bacterias, 2 pH, 2 condiciones del mediador (con y sin mediador) y 2 materiales seleccionados.

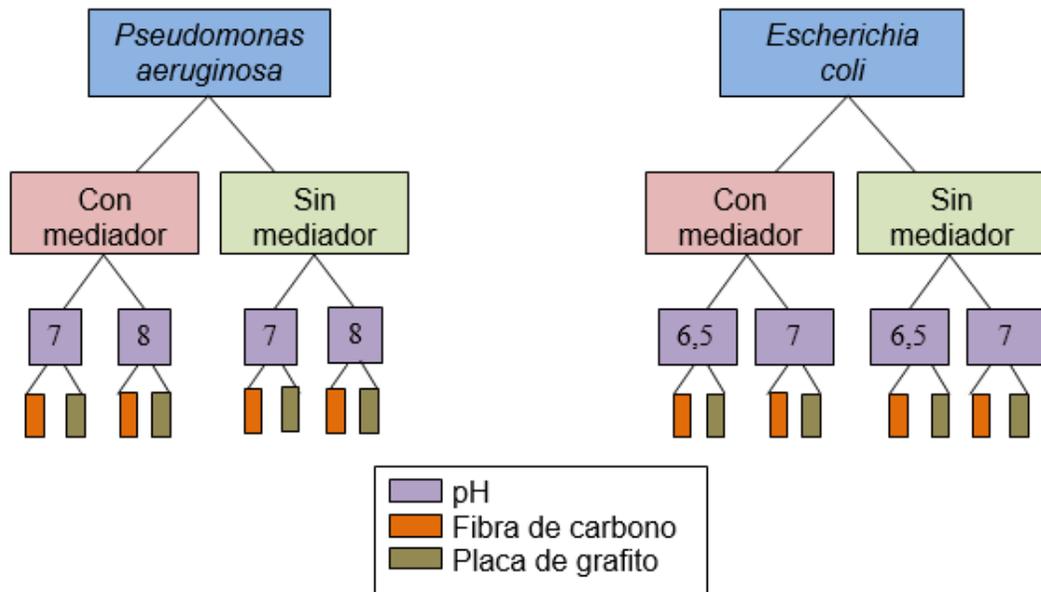
- Variables independientes: 4; bacterias, pH, mediador y material.
- Replicas: 1; se seleccionará las dos mejores corridas de cada una de las bacterias con el fin de realizar una réplica y la posterior cinética de crecimiento de cada una.

Por consiguiente, el número de pruebas será el siguiente:

$$(\text{Niveles})^{\text{Variables independientes}} \times \text{Replicas} \\ (2)^4 \cdot (1) = 16$$

En la figura 9, se ilustra el diseño de experimentos y cada una de las mediciones a determinar.

Figura 9. Diseño de experimentos.



Con base en las especificaciones establecidas de cada variable dependiente del crecimiento de las bacterias seleccionadas, *P. aeruginosa* y *E. coli*, discutidas en el apartado 2.1, se planteó un diseño de experimentos que consiste en una serie de combinaciones las cuales parten del uso o no de mediador con cada una de las bacterias, seguido de una variación de pH según el rango establecido en el apartado 3.1.2.2, además, se involucra el cambio en el material de los electrodos seleccionados, fibra de carbono y placa de grafito. Al finalizar, se seleccionará la combinación que produzca mayor energía eléctrica, medida en voltios, para cada una de las bacterias, es decir, se obtendrán las dos mejores combinaciones con respecto a la producción de energía. A ambas combinaciones se le realizará la cinética de crecimiento correspondiente a cada bacteria, donde se obtendrá

finalmente, un análisis que dependerá de la cinética de crecimiento y la cantidad de energía eléctrica producida. Para finalizar se realizará el análisis de DQO para el agua contenida en la celda de combustible con la mayor producción de energía eléctrica.

3.2.3 Montaje de las MFC. El montaje de las celdas de combustible microbianas está especificado paso a paso en el Anexo J. A continuación, se ilustran algunas imágenes pertinentes del montaje.

Imagen 1. Cámara anódica.



Imagen 3. Cámara catódica.



Imagen 2. Celda de combustible microbiana.



3.2.4 Pruebas de las MFC. Consta de las pruebas de 16 combinaciones ilustradas en el diseño de experimentos, donde, a partir del voltaje obtenido y la determinación de los parámetros de producción de energía, se determinará las dos mejores combinaciones, una de cada bacteria con el fin de realizar nuevamente las pruebas, incluyendo su correspondiente cinética de crecimiento. Durante cada experimentación con duración de aproximadamente 24 horas, se realizaron mediciones cada 2 horas de pH, voltaje e intensidad de corriente, con el fin de acoplar la información y realizar un análisis correspondiente al

comportamiento de cada una de dichas variables. Los resultados experimentales promedio de las corridas se encuentran expuestos en el cuadro 8. En el Anexo K se ilustran los datos experimentales de cada muestra y su correspondiente toma de datos.

Cuadro 8. Resultados experimentales.

Corrida	Combinación	Voltaje promedio (mV)	Intensidad de corriente promedio (μ A)
1	<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Grafito	341	46
2	<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	204	107
3	<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	284	4
4	<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	464	67
5	<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	134	7
6	<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	187	6
7	<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Grafito	112	57
8	<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	95	2
9	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	271	7
10	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	414	12
11	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	45	6
12	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	0,89	104
13	<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	268	12
14	<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	256	16
15	<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 – Tela	120	28
16	<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 – Grafito	113	91
17	Blanco (pH 7 - Tela)	0	0

3.2.5 Parámetros para la evaluación de la energía producida. Según el apartado 2.2.5, se realizó la determinación de parámetros que proporcionan la cantidad de energía producida por la celda de combustible microbiana, medida en potencia, la densidad de corriente o corriente eléctrica que pasa a través del electrodo, al igual, que la cantidad de energía generada por unidad de área del electrodo y la potencia volumétrica, indicando la producción de energía respecto al volumen total de la celda. A continuación, en el cuadro 9 se muestran los resultados obtenidos y se ilustra el modelo de cálculo para la corrida número 1.

Cuadro 9. Resultados de parámetros para la evaluación de la energía producida.

Corrida	Voltaje promedio (V)	Intensidad de corriente promedio (A)	Potencia (W)	Densidad de corriente (A/m ²)	Densidad de potencia (W/m ²)	Potencia volumétrica (W/m ³)
1	0,340	4,56E-05	1,56E-05	5,85E-03	1,99E-03	1,26E-02
2	0,204	1,07E-04	2,19E-05	1,84E-02	3,77E-03	1,78E-02
3	0,284	3,92E-06	1,11E-06	6,74E-04	1,91E-04	9,03E-04
4	0,464	6,70E-05	3,11E-05	8,59E-03	3,98E-03	2,52E-02
5	0,134	7,21E-06	9,69E-07	1,24E-03	1,66E-04	7,85E-04
6	0,187	6,07E-06	1,13E-06	7,78E-04	1,45E-04	9,20E-04
7	0,112	5,76E-05	6,46E-06	7,38E-03	8,28E-04	5,23E-03
8	0,095	2,21E-06	2,11E-07	3,80E-04	3,63E-05	1,71E-04
9	0,271	7,57E-06	2,05E-06	1,30E-03	3,52E-04	1,66E-03
10	0,414	1,23E-05	5,09E-06	1,58E-03	6,53E-04	4,13E-03
11	0,045	6,23E-06	2,82E-07	7,99E-04	3,61E-05	2,28E-04
12	0,000	1,04E-04	9,31E-08	1,79E-02	1,60E-05	7,55E-05
13	0,268	1,18E-05	3,18E-06	2,04E-03	5,46E-04	2,57E-03
14	0,256	1,57E-05	4,01E-06	2,01E-03	5,14E-04	3,25E-03
15	0,120	2,76E-05	3,31E-06	4,75E-03	5,68E-04	2,68E-03
16	0,113	9,09E-05	1,03E-05	1,17E-02	1,32E-03	8,32E-03

Muestra de cálculo prueba 1: Basado en el apartado 2.2.5.

- Potencia:

$$P = VI$$

$$P = (0,340 \text{ V}) (0,0000456 \text{ A}) = 0,0000156 \text{ W}$$

- Densidad de corriente: Según el apartado 3.2.1.3, el área de la tela y el grafito son 0,0058 m² y 0,0078 m² respectivamente.

$$j = \frac{I}{a}$$

$$j = \frac{0,0000456 \text{ A}}{0,0078 \text{ m}^2} = 0,00585 \text{ A/m}^2$$

- Densidad de potencia:

$$P^* = \frac{P}{a}$$

$$P^* = \frac{0,0000156 \text{ W}}{0,0078 \text{ m}^2} = 0,00199 \text{ W/m}^2$$

- Potencia volumétrica: Según en el apartado 3.2.1.3, el volumen de los electrodos es de 28 cm³, para el grafito y 2,8 cm³ para la tela.

$$P_v = \frac{P}{v}$$

$$P_v = \frac{0,0000156 \text{ W}}{28 \text{ cm}^3} = 0,0126 \text{ W/cm}^3$$

3.2.6 Resultado favorable en las 16 pruebas realizadas. Basados en el cuadro 8 y los resultados obtenidos al realizar un promedio del voltaje y la intensidad de corriente, se observó que, según el voltaje, para la *Escherichia coli* a condiciones iguales de uso o no de mediador y del valor de pH, obtendrá mayor voltaje la configuración con material grafito. Sin embargo, las configuraciones en las cuales se usó mediador obtuvieron mejores resultados, en comparación con las que no se usó. Además, el pH, tuvo también gran importancia pues la mejor combinación para la *Escherichia coli* fue aquella en la que las condiciones iniciales eran más ácidas (pH = 6,5), en consecuencia, a eso, la combinación seleccionada fue *E. coli* – Con Mediador – pH 6,5 – Grafito. Al determinar los parámetros para la evaluación de la energía eléctrica se obtuvo una potencia de 0,0000311 W, la cantidad de energía generada por unidad de área del electrodo fue de 0,00398 W/m² y la energía producida por el volumen de la celda (800 mL) fue igual a 0,0252 W/m³, siendo la combinación con la mayor producción de energía eléctrica.

El comportamiento de la *Pseudomonas aeruginosa* resulta diferente al de la *Escherichia coli* pues, la acción del mediador (con o sin) combinado con los dos diferentes materiales del electrodo en dicha bacteria si es relevante, puesto que se concluyó que, con el uso de mediador a valores iguales de pH, el material del electrodo que reporta mayores voltios es el grafito, sin embargo, cuando no se hace uso de mediador, es la tela quien reporta los mayores voltios. Aun así, siendo la *Pseudomonas aeruginosa* una bacteria que no requiere del uso de mediador para su producción de energía, como se ha indicado en el apartado 3.1.4. Además, mostro mayor producción de voltios en condiciones alcalinas (pH = 8), por ende, la combinación seleccionada para la *P. aeruginosa* fue Con Mediador – pH 8 – Grafito. Sin embargo, se tuvo en cuenta los parámetros de evaluación de

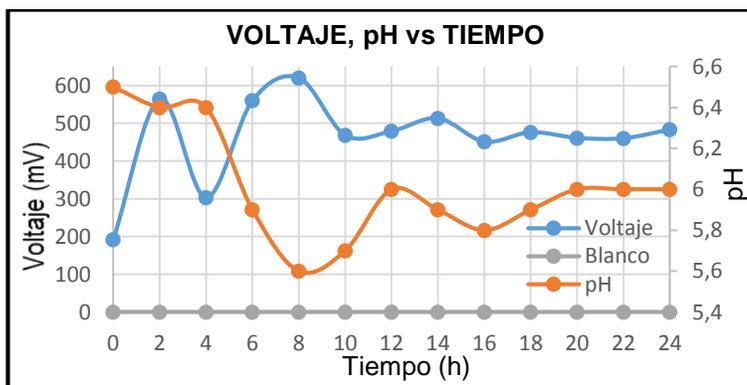
energía eléctrica, donde esta combinación no es la mayor producción de potencia para la *Pseudomonas aeruginosa*, con una potencia igual a 0,00000509 W y una producción de energía por unidad de área de 0,000653 W/m² y por unidad de volumen de la MFC igual a 0,00413 W/m³.

Según lo anterior, se realiza las gráficas correspondientes a las combinaciones seleccionadas según el tiempo (24 horas) de cada experimentación presentada en los cuadros 9 y 10 (Anexo K).

Cuadro 10. Datos experimentales *Escherichia coli*.

Hora (h)	pH	Voltaje (mV)	Intensidad de corriente (µA)
0	6,5	192	742
2	6,4	564	3
4	6,4	303	2
6	5,9	560	18
8	5,6	620	5
10	5,7	468	8
12	6	479	7
14	5,9	513	21
16	5,8	451	6
18	5,9	476	29
20	6	461	11
22	6	460	17
24	6	483	2

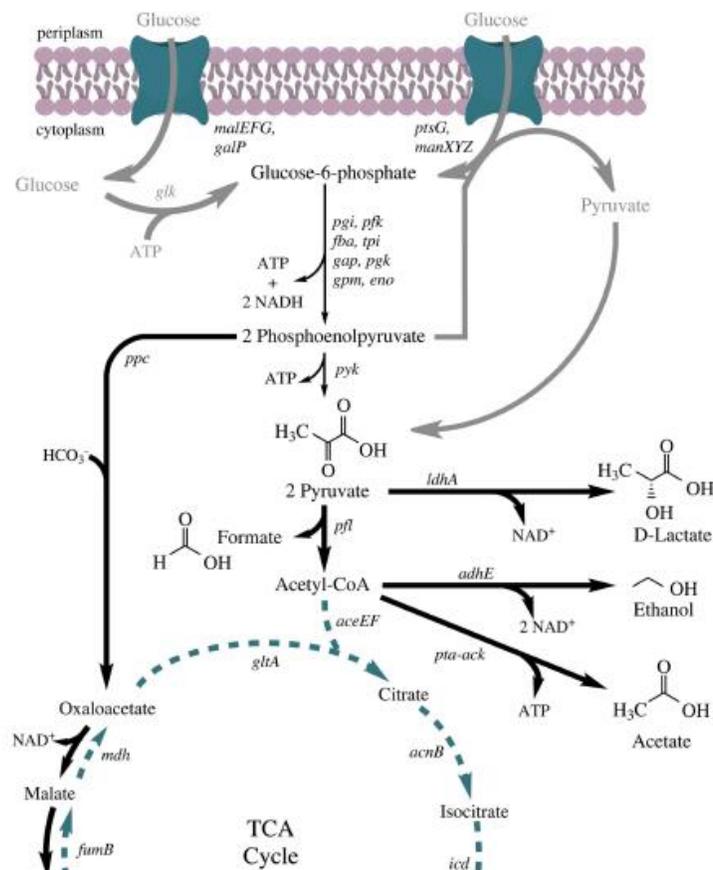
Grafico 6. Voltaje, pH vs Tiempo; *Escherichia coli*.



De acuerdo con el grafico 6 la relación de pH y voltaje es inversa en el tiempo, este comportamiento tiene lugar gracias a procesos a nivel celular, uno de ellos es

el transporte de electrones donde al bombear iones hidrogeno a la parte externa de la membrana produce el aumento de la acidez en el medio, lo que provoca la disminución del pH. Otro proceso involucrado, es la ruta metabólica de la fermentación anaerobia en la *E. coli*, como se muestra en la imagen 4, pues este proceso además de llevarse a cabo para producir la energía necesaria, transformada en ATP, produce ácidos mixtos que pueden causar la disminución significativa del pH, pues de esta fermentación se produce ácido acético, ácido láctico, ácido butírico, ácido fórmico y ácido propiónico, además del ácido pirúvico que se forma en el proceso de glicolisis, conjunto de reacciones de óxido-reducción, acción enzimática.¹⁷³

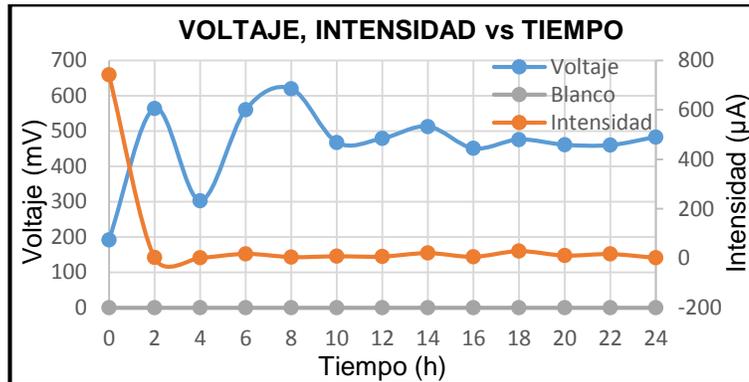
Imagen 4. Metabolismo fermentativo anaerobio en *E. coli*.



Fuente: FORSTER. Andreas; GESCHER. Johannes. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of mixed-acid fermentation end products. En: *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. Vol.; 2. 2014; p 3.

¹⁷³ FORSTER. Andreas; GESCHER. Johannes. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of mixed-acid fermentation end products. En: *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. Vol.; 2. 2014; p 3.

Grafico 7. Voltaje, Intensidad de corriente (μA) vs Tiempo; *Escherichia coli*.



En el grafico 7 se observa una intensidad consistente en el transcurso del tiempo, sin embargo, en las primeras dos horas surge una disminución radical, este fenómeno puede ser explicado mediante la morfología de la *E. coli*, siendo esta, una bacteria que posee variedad de antígenos, entre los cuales se encuentra el capsular, unión compacta de glicocalix y lipopolisacaridos, que puede permitir la protección de la bacteria y puede llegar a causar la disminución en la cantidad de electrones que atraviesan su membrana celular.¹⁷⁴

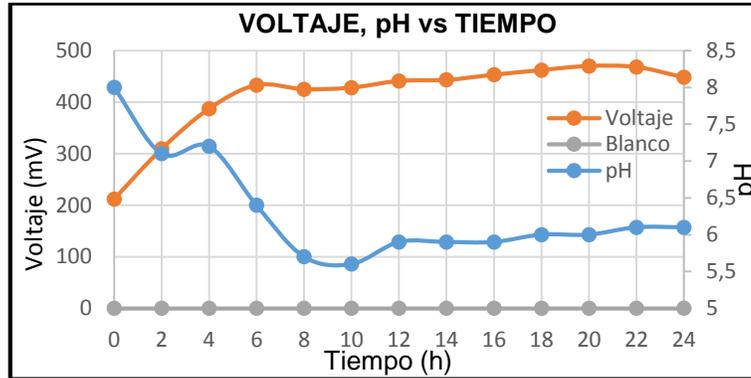
Cuadro 11. Datos experimentales *Pseudomonas aeruginosa*.

Hora (h)	pH	Voltaje (mV)	Intensidad de corriente (μA)
0	8	212	24
2	7,1	309	5
4	7,2	387	11
6	6,4	433	12
8	5,7	425	9
10	5,6	428	8
12	5,9	441	10
14	5,9	443	18
16	5,9	453	6
18	6	462	15
20	6	470	5
22	6,1	468	7
24	6,1	448	30

¹⁷⁴ DONNENBERG, Michael. *Escherichia coli: Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen*. Academic Press, 2002. 417 p.

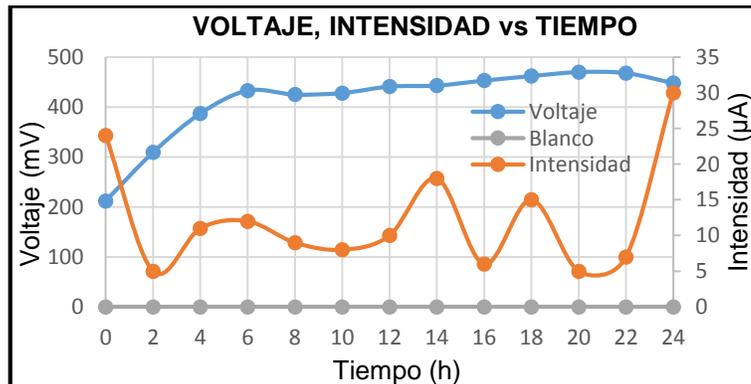
En el cuadro 11 se presentan los resultados obtenidos con la *Pseudomonas aeruginosa*.

Grafico 8. Voltaje, pH vs Tiempo; *Pseudomonas aeruginosa*.



Según el grafico 8 y teniendo en cuenta que el sustrato usado es el mismo que en la *E. coli*, y el nutriente sencillo es la glucosa, la *Pseudomonas aeruginosa* realizo la ruta metabólica para degradar la glucosa, glucolisis, al igual que en la *E. coli*. Se vio evidenciado la disminución drástica del valor de pH, a medida que el voltaje incremento, efecto que ocurre por la producción de ácidos mixtos durante la degradación de la glucosa a piruvato (Glucolisis).

Grafico 9. Voltaje, Intensidad de corriente vs Tiempo; *Pseudomonas aeruginosa*.



Según el grafico 9 se observa que la intensidad sufre cambios relevantes a causa de productos celulares que disminuyen la posibilidad de paso de los electrones a través de la membrana, entre los cuales se encuentran la producción de fimbrias que se extienden desde la superficie de la célula y que promueven la adhesión

sobre las células, lo que produce una capa de mucus extracelular constituida por alginato, ácido L-glucurónico y ácido manurónico, denominado glicocalix.^{175, 176}

3.2.6.1 Modelo estadístico (ANOVA). Como se mencionó en el apartado 2.2.6.1, mediante Statgraphics se realizó el análisis de datos de las 16 pruebas que corresponden al diseño factorial 2⁴ establecido anteriormente. Para la realización de cada uno de los análisis fue necesario designar cada nivel de los factores con un nivel alto (1) y uno bajo (-1) como se muestra en el cuadro 12.

Cuadro 12. Designación para los niveles de cada factor.

Factor	Nivel	Designación
Bacteria	<i>Escherichia coli</i>	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-1
Mediador	Con mediador	1
	Sin mediador	-1
Material electrodo	Grafito	1
	Tela	-1
pH (<i>Escherichia coli</i>)	7	1
	6,5	-1
pH (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	7	1
	8	-1

Luego de la designación, se realiza la siguiente tabla de datos donde se muestran los resultados de voltaje obtenidos en la primera puesta en marcha, ver figura 10.

¹⁷⁵ MURRIAN, Patrick; ROFHENTAL, Ken; PFALLER, Michael. Microbiología médica. 5ª Ed. España. Elsevier Mosby. 2006.

¹⁷⁶ MELNICK, Jawetz. Microbiología medica de Jawetz. 18ª ed. México. Editorial el Manual Moderno. 2005.

Figura 10. Tabla de datos diseño factorial 2⁴ sin replicas.

Anova 16 pruebas.sfx						
	BLOQUE	Bacteria	Mediador	Material electrodo	pH	Voltaje (mV)
1	1	1	-1	1	1	186,9
2	1	1	-1	-1	-1	95,4
3	1	-1	-1	1	1	112,85
4	1	-1	-1	1	-1	255,69
5	1	1	1	1	-1	463,85
6	1	-1	1	1	-1	413,77
7	1	-1	-1	-1	-1	268,23
8	1	1	1	-1	1	204,36
9	1	-1	1	-1	1	0,8923
10	1	1	-1	-1	1	134,26
11	1	-1	1	1	1	45,23
12	1	1	-1	1	-1	112,2
13	1	-1	1	-1	-1	270,86
14	1	1	1	1	1	340,92
15	1	1	1	-1	-1	284,07
16	1	-1	-1	-1	1	119,6
17						

Posteriormente del software se obtuvieron tablas y graficas que permitieron analizar los resultados teniendo en cuenta los siguientes aspectos.

- Efecto de los factores principales y de interacción en la variación de la variable de respuesta (voltaje).
- Grafica de interacciones principales y binarias.

Los resultados obtenidos según los aspectos mencionados se muestran en la figura 11.

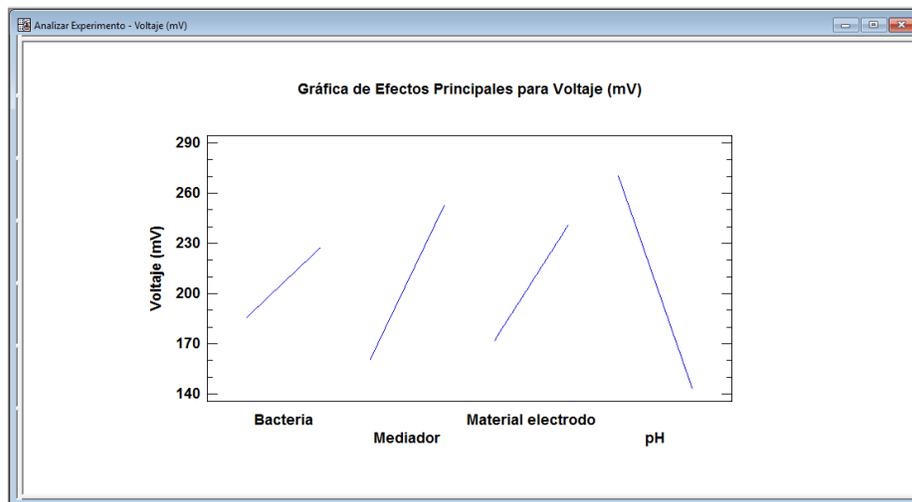
Figura 11. Análisis de varianza.

Analizar Experimento - Voltaje (mV)					
Análisis de Varianza para Voltaje (mV)					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Bacteria	7007,78	1	7007,78	12,70	0,0162
B:Mediador	34113,2	1	34113,2	61,81	0,0005
C:Material electrodo	19163,6	1	19163,6	34,72	0,0020
D:pH	64901,4	1	64901,4	117,59	0,0001
AB	39013,2	1	39013,2	70,69	0,0004
AC	2965,07	1	2965,07	5,37	0,0682
AD	44193,5	1	44193,5	80,07	0,0003
BC	12849,9	1	12849,9	23,28	0,0048
BD	27490,5	1	27490,5	49,81	0,0009
CD	626,876	1	626,876	1,14	0,3353
Error total	2759,58	5	551,916		
Total (corr.)	255084,	15			

Del análisis anterior se concluyó que aquellas fuentes con valores de p menores a 0,05 (valor de significancia) influyen de manera significativa en la variación del voltaje, siendo importante mencionar que además de que todas las interacciones principales influyeron, algunas binarias también, como lo son: Bacteria – mediador, bacteria – pH, mediador – material electrodo, mediador – pH.

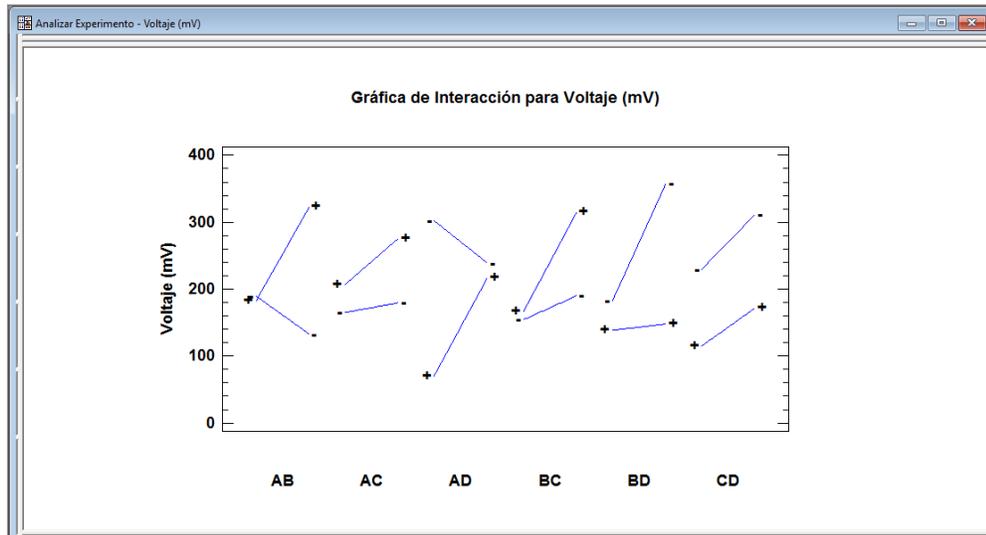
Además, se puede observar que el factor con la mayor suma de cuadrados es el que mayor influencia en la variable de respuesta presenta, mostrando la mayor suma para el factor pH, demostrando que es el factor que influyó de manera significativa en el voltaje, seguido del mediador, material del electrodo y bacteria.

Figura 12. Efectos principales para voltaje.



En la figura 12 se muestran los efectos principales sobre la variable de respuesta, pudiéndose observar que para el factor bacteria el nivel alto es el que favoreció el voltaje, siendo esta la *Escherichia coli*. De la misma manera se pudo concluir en cuanto a la favorabilidad del mediador en el proceso, obteniéndose la mayor media de voltaje con mediador (nivel alto). En cuanto al material del electrodo se obtuvo el mismo comportamiento que para los factores anteriores, es decir, la mayor media de voltaje se presentó en el nivel alto, que corresponde a grafito. Finalmente, para pH se observó un comportamiento contrario al presentado anteriormente, el nivel bajo fue el más favorable, siendo 6,5 para *Escherichia coli* y 8 para *Pseudomonas aeruginosa*.

Figura 13. Interacción binaria para voltaje.



La figura 13 es útil para corroborar la influencia de las interacciones binarias en la variación de la variable de respuesta. Para el análisis se tiene en cuenta las diferencias en las pendientes de cada interacción, es decir, si hay una diferencia en la pendiente la interacción afecta significativamente el voltaje, pero si las pendientes son similares no hay una influencia significativa en el voltaje. Según lo anterior, las interacciones que influyeron son: AB (bacteria – mediador), AD (bacteria - pH), BC (mediador – material electrodo), BD (mediador – pH) y aquellas que no influyeron son: AC (bacteria – material electrodo) y CD (material electrodo – pH).

3.3 CINÉTICA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA DE LAS CEPAS BAJO LAS CONDICIONES ESTABLECIDAS

3.3.1 Pruebas para las combinaciones seleccionadas. Durante cada experimentación con duración de 24 horas, se tomaron mediciones cada 2 horas de voltaje e intensidad de corriente, además de la toma de una muestra de 2 mL, para llevar acabo la cinética de crecimiento correspondiente para las dos bacterias y condiciones seleccionadas. Los resultados experimentales promedio de las corridas se encuentran expuestos en el cuadro 13 y los resultados generales en el Anexo L.

Cuadro 13. Resultados experimentales de la segunda puesta en marcha.

Corrida	Combinación	Voltaje promedio (mV)	Intensidad de corriente promedio (μ A)
1	<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	386	520
2	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	334	336

Según las primeras pruebas, para la *E. coli* se obtuvo un voltaje promedio de 464 comparado con el obtenido en su réplica, 386, se observó una disminución de aproximadamente 16,8 %. Para la *P. aeruginosa* con un voltaje promedio para la primera corrida de 414 comparado con la segunda corrida igual a 334, se encontró una disminución del 19,3%, para ambas bacterias la disminución no es representativa y pudo verse reflejada por el control de temperatura, la estabilidad de la temperatura optima establecida como 37°C. Según en la primera corrida entre la *E. coli* y la *P. aeruginosa* se obtuvo una diferencia en voltaje igual a 50,08 V, y en la segunda corrida obtuvo una diferencia de 52,11 V, lo que permite identificar una consistencia en los resultados.

3.3.2 Cuantificación de crecimiento. Con base en el apartado 2.3.2 se realizaron una serie de diluciones consecutivas base 10, para cada una de las muestras extraídas durante el proceso para ambas bacterias y posterior a ello se llevó a cabo la siembra en superficie, con el fin de realizar el conteo en placa. En los cuadros 14 y 15 se ilustran los resultados obtenidos.

Cuadro 14. Recuento en placa de *Escherichia coli*.

Hora	Dilución seleccionada	UFC	UFC/mL	Corrección en superficie	Log ₁₀
0	1,00E-04	56	5,60E+05	5,60E+06	6,75
2	1,00E-03	266	2,66E+05	2,66E+06	6,42
4	1,00E-04	103	1,03E+06	1,03E+07	7,01
6	1,00E-06	188	1,88E+08	1,88E+09	9,27
8	1,00E-06	814	8,14E+08	8,14E+09	9,91
10	1,00E-07	121	1,21E+09	1,21E+10	10,08
12	1,00E-07	356	3,56E+09	3,56E+10	10,55
14	1,00E-07	343	3,43E+09	3,43E+10	10,53
16	1,00E-07	249	2,49E+09	2,49E+10	10,40
18	1,00E-07	266	2,66E+09	2,66E+10	10,42
20	1,00E-07	382	3,82E+09	3,82E+10	10,58
22	1,00E-07	151	1,51E+09	1,51E+10	10,18
24	1,00E-08	53	5,30E+09	5,30E+10	10,72

A continuación, las imágenes 5, 6 y 7 están relacionadas con cada una de las muestras y su respectiva siembra.

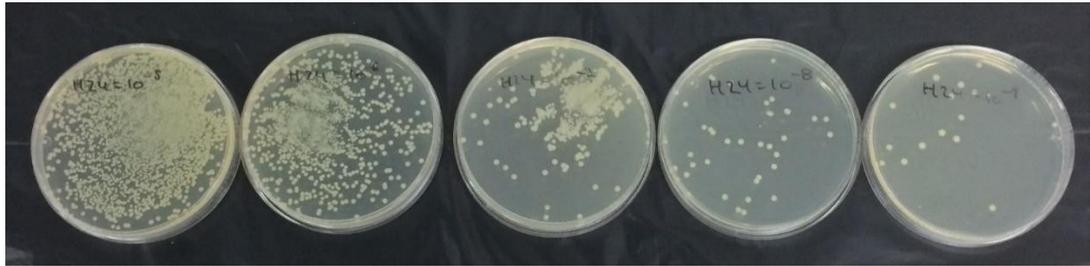
Imagen 5. Siembra en superficie hora 0.



Imagen 6. Siembra en superficie hora 12.



Imagen 7. Siembra en superficie hora 24.



Cuadro 15. Recuento en placa de *Pseudomonas aeruginosa*.

Hora	Dilución seleccionada	UFC	UFC/mL	Corrección en superficie	Log ₁₀
0	1,00E-03	670	6,70E+05	6,70E+06	6,83
2	1,00E-03	222	2,22E+05	2,22E+06	6,35
4	1,00E-03	164	1,64E+05	1,64E+06	6,21
6	1,00E-03	292	2,92E+05	2,92E+06	6,47
8	1,00E-03	305	3,05E+05	3,05E+06	6,48
10	1,00E-04	424	4,24E+06	4,24E+07	7,63
12	1,00E-06	316	3,16E+08	3,16E+09	9,50
14	1,00E-07	174	1,74E+09	1,74E+10	10,24
16	1,00E-08	229	2,29E+10	2,29E+11	11,36
18	1,00E-09	203	2,03E+11	2,03E+12	12,31
20	1,00E-09	637	6,37E+11	6,37E+12	12,80

Algunas de las respectivas siembras se ilustran en las imágenes 8, 9 y 10.

Imagen 8. Siembra en superficie hora 0.

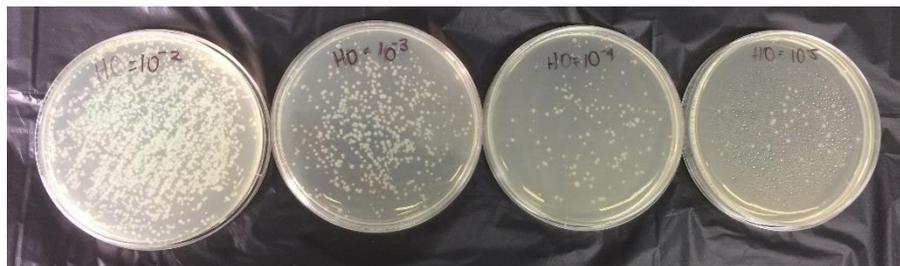


Imagen 9. Siembra en superficie hora 12.

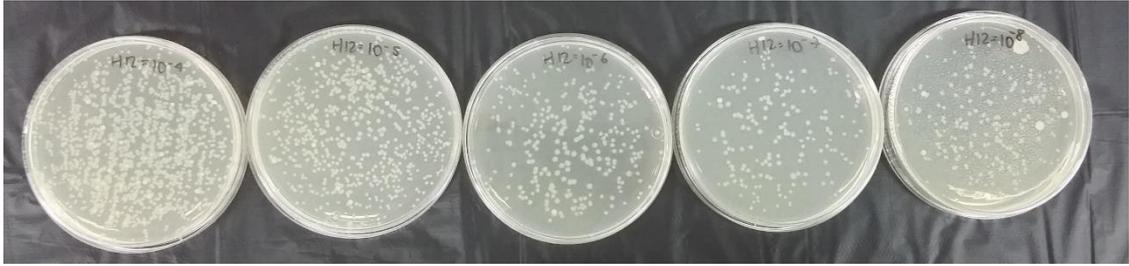
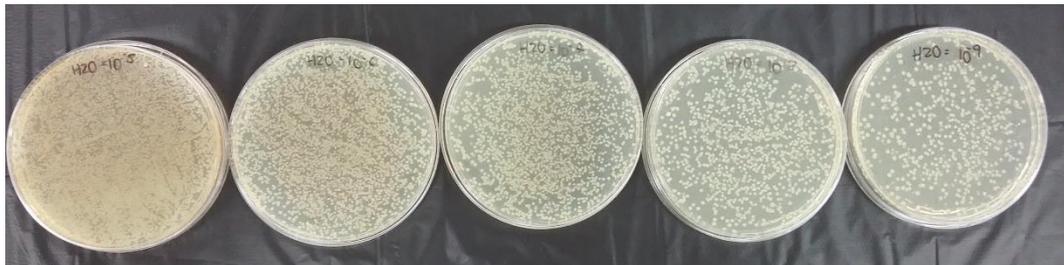


Imagen 10. Siembra en superficie hora 20.



3.3.2.1 Curva de crecimiento microbiano. Con base en los cuadros 13 y 15 se realiza la curva de crecimiento para ambas bacterias durante las 24 horas del proceso.

Grafico 10. Curva de crecimiento de *Escherichia coli*.

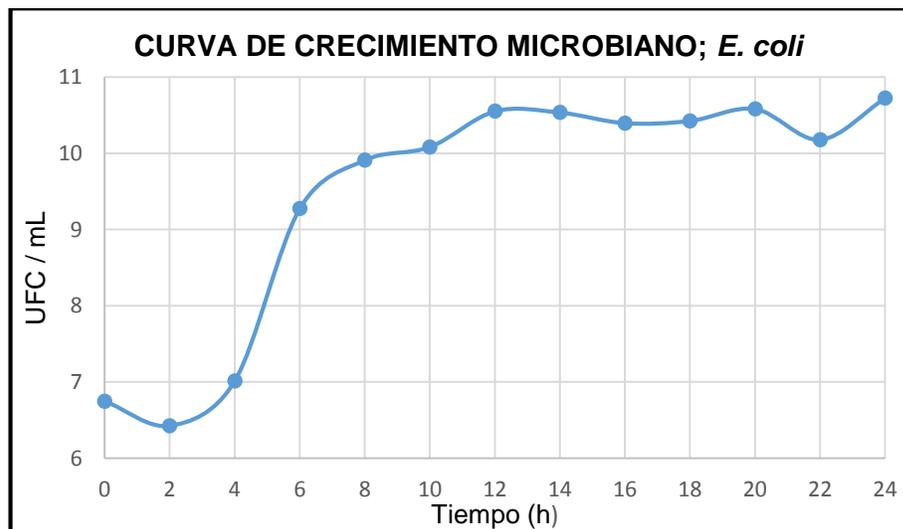
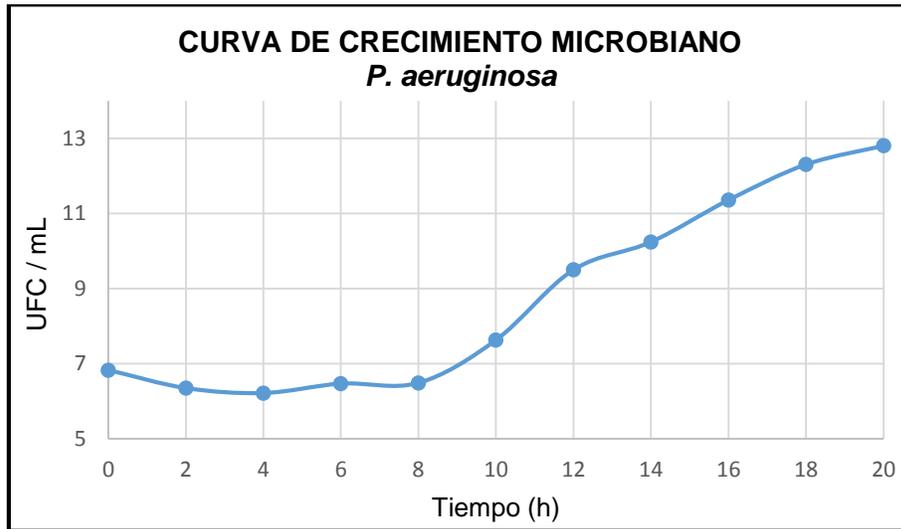


Grafico 11. Curva de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*.



Según los gráficos 10 y 11, en la curva de crecimiento para la *E. coli* se observó un tiempo de adaptación al medio menor comparado con el comportamiento para la *P. aeruginosa*, esto implicó que el tiempo de activación de genes para producir las enzimas necesarias que permitieran la degradación de los nutrientes presentes en el agua residual resultó mayor para *P. aeruginosa*, lo que implica que la afinidad de esta por el sustrato es menor comparada con la afinidad por sustrato por parte de la *E. coli*. En el crecimiento de ambas cepas se pudo evidenciar que la *E. coli* tomó menor tiempo, aproximadamente 4 horas para llevar a cabo su proceso de fisión binaria, lo contrario ocurrió con la *P. aeruginosa*, pues tomó casi 12 horas para crecer, la cual puede clasificarse como un metabolito primario. De la hora 20 a la 24 existió para la *E. coli* una fase denominada críptica, donde se evidencia que las bacterias que crecieron de la hora 22 a la 24, se alimentaron de las bacterias que murieron durante las horas 20 y 22, además durante las horas 10 y 12 para la *E. coli* se observó una fase diauxia, donde la bacteria consumió los nutrientes sencillos (glucosa) y empieza a consumir los nutrientes complejos (proteínas) lo que permite el crecimiento nuevamente de la bacteria.

Se realizó una comparación entre la producción de energía eléctrica, el pH y el crecimiento de ambas bacterias presentada en los gráficos 12, 13, 14 y 15.

Grafico 12. Curva de crecimiento microbiano, voltaje vs Tiempo; *E. coli*.

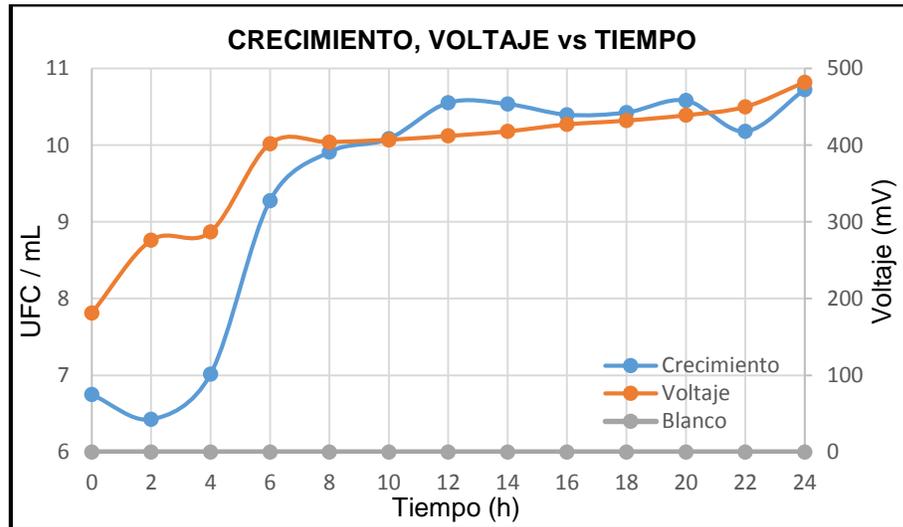
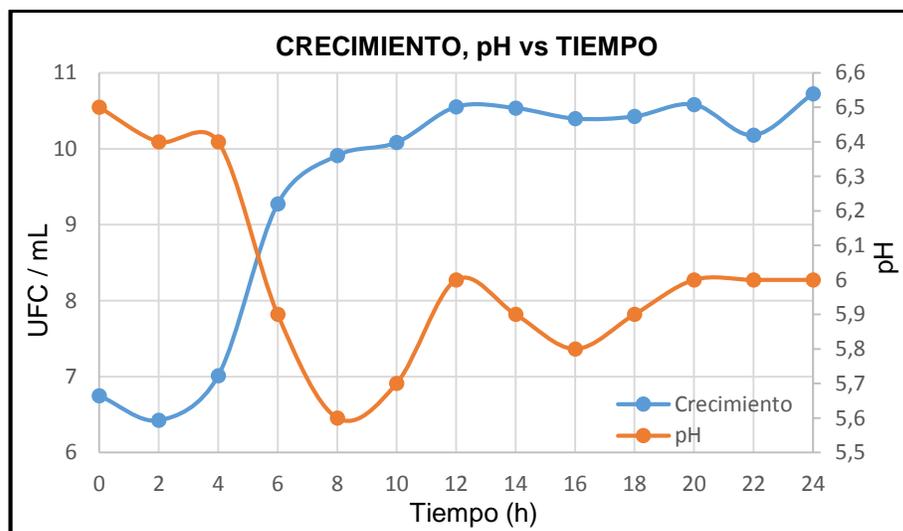


Grafico 13. Curva de crecimiento microbiano, pH vs Tiempo; *E. coli*.



En el grafico 12, se evidencia el comportamiento del voltaje basados en la curva de crecimiento para la *E. coli*, según el comportamiento se pudo concluir que el voltaje es consistente con el crecimiento de la bacteria, es decir, a medida que este crece, el voltaje aumenta y se mantiene constante durante la fase estacionaria, donde la energía producida por la bacteria depende de las reservas en los cuerpos de inclusión. El voltaje aumenta de forma radical durante las horas 4 y 6, que son en las cuales se evidencia la fase exponencial. El comportamiento es diferente con lo que respecta al crecimiento y el pH, pues basados en el grafico 13, se observa que el comportamiento de este disminuye radicalmente durante la fase exponencial de la bacteria, esto se explica porque al llevar a cabo el

metabolismo necesario para su crecimiento y producir el ATP (degradación de glucosa por la vía glucolisis), la bacteria produce así mismo según la ruta metabólica descrita en el apartado 3.2.6 los ácidos mixtos que causan la disminución del valor de pH. Sin embargo, al finalizar el consumo de los nutrientes sencillos (glucosa), inicia el consumo de los más complejos (proteínas), donde debe hacer la ruptura del enlace peptídico para llevar a cabo la degradación de las proteínas mediante una descarboxilación, en este proceso se liberan grupos aminos lo que causa un pH alcalino, lo que puede justificar a su vez el aumento en el pH durante las horas 10 y 12, donde se da nuevamente un incremento en el crecimiento de las bacterias por acción de la degradación de las proteínas.

Grafico 14. Curva de crecimiento microbiano, voltaje vs Tiempo; *P. aeruginosa*.

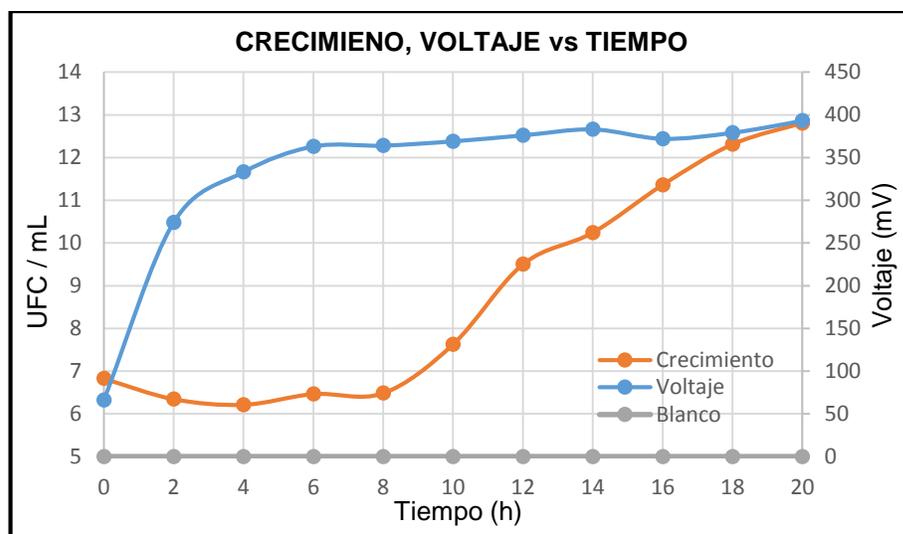
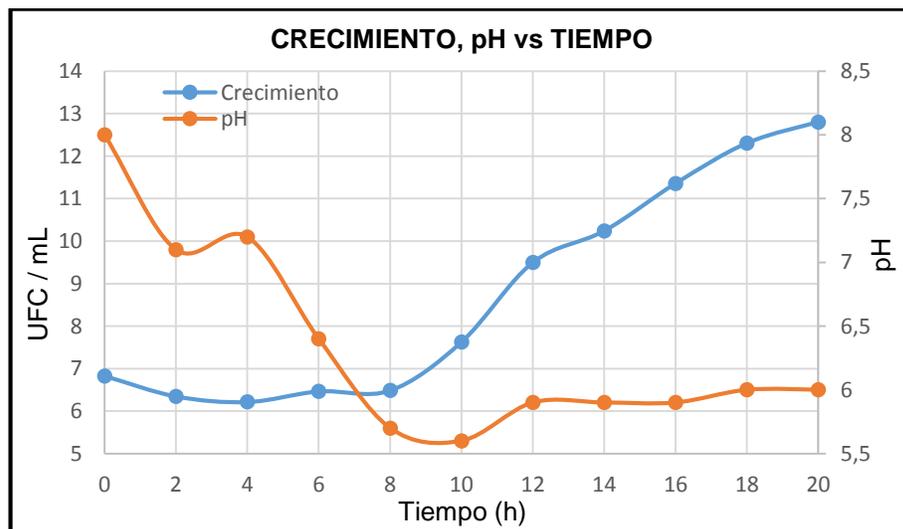


Grafico 15. Curva de crecimiento microbiano, pH vs Tiempo; *P. aeruginosa*.



En los grafico 14 y 15, se observa la comparación entre voltaje - crecimiento y pH - crecimiento de la *P. aeruginosa*, donde existió un comportamiento inusual, pues durante la fase de adaptación de esta, se observó un incremento representativo del valor de voltaje, y en su fase exponencial se observó constante, contrario a la *E. coli*, donde en su fase de adaptación el valor de voltaje es bajo, y en su fase exponencial se genera el incremento, comportamiento que se explica por el proceso de duplicación de la cepa. Así mismo, ocurre con los valores de pH, durante la fase de adaptación de la *P. aeruginosa* el pH decrece considerablemente y en su fase de crecimiento este sigue un comportamiento constante.

3.3.2.2 Parámetros involucrados en el crecimiento. A partir del apartado 2.3.2.2 se determinan los parámetros involucrados para cada una de las dos cepas.

- Velocidad de crecimiento:

$$\mu = \frac{(\ln N_f - \ln N_0)}{(t_f - t_0)}$$

Siendo la velocidad de crecimiento considerada también como la inclinación o pendiente en la curva de crecimiento que representa la fase exponencial, se determinó mediante el cálculo de la pendiente de la línea recta que incluyen ciertos puntos de la curva de crecimiento de ambas cepas.

- ✓ Velocidad de crecimiento *E. coli*: se tomaron los puntos de las horas 4 y 6.

$$\mu = \frac{(9,91 - 7,01)}{(8 - 4)} = 0,725 \text{ h}^{-1}$$

- ✓ Velocidad de crecimiento *P. aeruginosa*: se tomaron los puntos de las horas 10 y 20.

$$\mu = \frac{(12,80 - 7,63)}{(20 - 10)} = 0,517 \text{ h}^{-1}$$

Un punto importante a destacar es la diferencia que existe entre el crecimiento de la *Escherichia coli* con respecto al crecimiento evidenciado por la *Pseudomonas aeruginosa*, la velocidad de crecimiento de la *E. coli* es aproximadamente un 29% mayor que la velocidad de crecimiento de la *P. aeruginosa*, de lo cual se puede deducir que la bacteria más eficiente con lo que respecta a crecimiento es la *E. coli*, pues la duración en la fase exponencial resulta mucho más corta, que la implementada por la *P. aeruginosa*, es probable que el proceso con la *E. coli* pueda acortarse según el grafico 10 a la hora 24, y la energía eléctrica producida sería aprovechada, lo

contrario ocurriría con la *P. aeruginosa*, pues tardaría más tiempo en producir la energía eléctrica requerida.

- Tiempo de duplicación:

$$t_d = \frac{\text{Ln } 2}{\mu}$$

Se determinó el tiempo de duplicación para ambas bacterias.

- ✓ Tiempo de duplicación *E. coli*:

$$t_d = \frac{\text{Ln } 2}{0,725 \text{ h}^{-1}} = 0,956 \text{ h}$$

- ✓ Tiempo de duplicación *P. aeruginosa*:

$$t_d = \frac{\text{Ln } 2}{0,517 \text{ h}^{-1}} = 1,34 \text{ h}$$

Basados en la velocidad de crecimiento de ambas cepas, se determina el tiempo que tardan dichas bacterias en llevar a cabo su proceso de duplicación, donde se evidencia que la *P. aeruginosa* tarda más tiempo que la *E. coli*, lo cual puede explicarse, por la afinidad de cada bacteria por el sustrato, en este caso el agua residual sintética utilizada, y las enzimas que cada una de ellas puede producir para degradar los nutrientes encontrados en el agua.

- Afinidad por sustrato: A partir del cuadro 16 se lleva a cabo el análisis para determinar este parámetro.

Cuadro 16. Velocidad de crecimiento según el sustrato utilizado.

Bacteria	Sustrato	$\mu_{\text{máx.}} (\text{h}^{-1})$	Ref.
<i>E. coli</i>	Glucosa, extracto de levadura, bicarbonato de sodio, bifosfato de sodio, peptona y cloruro de potasio	0,42	177

¹⁷⁷ MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Kinetics Investigation of Diversity Cultures of *E. Coli* and *Shewanella Sp.*, and their Combined Effect with Mediator on MFC Performance. [Print(0)]: The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry, 2015. p. 42-50.

Cuadro 16. (Continuación).

Bacteria	Sustrato	$\mu_{\text{máx.}} (\text{h}^{-1})$	Ref.
<i>E. coli</i>	Triptosa, extracto de levadura y	1,15	178
<i>E. coli</i>	Acido de caseína hidrolizado, extracto de levadura, cloruro de sodio, glicerol y glucosa	0,5	179
<i>E. coli</i>	Galactosa	0,75	180
<i>P. aeruginosa</i>	Glucosa, fosfato dipotasico, sulfato de magnesio, sulfato de amonio y sulfato de zinc	0,269	181
<i>P. aeruginosa</i>	Glucosa	0,29	182

Según las velocidades de crecimiento para la *E. coli* ($0,725 \text{ h}^{-1}$) y la *P. aeruginosa* ($0,517 \text{ h}^{-1}$), se realizó una comparación con las velocidades proporcionadas por diferentes investigaciones dependiendo del sustrato utilizado, y se puede concluir que para la *E. coli* la velocidad obtenida con el caldo Tripticasa de soya es buena comparada con las demás, lo que implica que tiene afinidad por el sustrato. Para la *P. aeruginosa*, ocurre lo mismo según los artículos reportados y la velocidad

¹⁷⁸ HRON, P; JOST, D; BASTIAN, P; GALLERT, C; WINTER, J; IPPISCH, O. Numerical simulation of growth of Escherichia coli in unsaturated porous media. University of Heidelberg, Interdisciplinary Center for Scientific Computing. {En línea}. {22 septiembre de 2016} disponible en: (<https://arxiv.org/pdf/1407.3743.pdf>).

¹⁷⁹ POCCIA, M; BECCARIA, A; DONDO, R. Modeling the microbial growth of two Escherichia coli strains in a multi-substrate environment. Brazilian Journal of Chemistry Engineering. Vol. 31.

¹⁸⁰ LENDENMANN, Urs; SNOZZI, Mario; EGLI, Thomas. Growth kinetics of Escherichia coli with galactose and several other sugars in carbon-limited chemostat culture. En: Can. J. Microbiol. Vol.; 46; p. 72-80.

¹⁸¹ FALLAHZADEH, V; AHMADZADEH, M; SHARIFI, R. Growth and pyoverdine production kinetics of Pseudomonas aeruginosa 7NSK2 in an experimental fermentor. En: Journal of Agricultural Technology. Vol.; 6; p. 107-115.

¹⁸² CHEN, Suet. Growth Kinetics of Pseudomonas aeruginosa. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Chemical Engineering. Montana State University.

obtenida, a pesar de que tarda más en la zona de adaptación lo que implica que la afinidad de la *E. coli* por el sustrato es mayor que la *P. aeruginosa*.

3.3.3 Parámetros de calidad del agua. Como se ha mencionado las celdas de combustible microbianas permiten producir energía eléctrica y disminuir la contaminación en aguas residuales de forma simultánea, por ello, se ha determinado realizar el análisis que corresponde a la demanda química de oxígeno necesaria para degradar la materia orgánica presente en el agua residual sintética, caldo Tripticasa de soya.

3.3.3.1 DQO. Se realizaron las pruebas de DQO para el agua resultante de la segunda puesta en marcha, es decir, el agua resultante del proceso con la *E. coli*, con mediador, pH 6,5 y grafito, y el agua resultante de la *P. aeruginosa*, con mediador, pH 8 y grafito, además de una muestra en blanco, muestra de 200 mL de caldo Tripticasa de soya tomada como muestra inicial para determinar la contaminación inicial del agua y la reducción en materia orgánica producida por la acción bacteriana. Los tres análisis se realizaron bajo el método mencionado en el apartado 2.3.3.1. Los resultados obtenidos (Anexo M) fueron los siguientes:

Cuadro 17. Resultados del análisis de DQO.

Muestra	Combinación	DQO (mg/L O ₂)
1	<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	20568,00
2	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	22488,00
3	Muestra en blanco (caldo Tripticasa de soya)	23248,00

Para llevar a cabo el análisis de la cantidad de materia orgánica, expresada como DQO, presente al comienzo y al final de las pruebas realizadas, se tuvo en cuenta dos aspectos; el porcentaje de reducción de materia orgánica expresada como DQO y el tiempo en el que fue posible obtener esa reducción, ya que como muestran algunos autores en sus investigaciones, el porcentaje de reducción varía con respecto al tiempo.

Teniendo en cuenta los resultados mostrados en el cuadro 17, la demanda química de oxígeno inicial tanto para la prueba con *Escherichia coli* como con *Pseudomonas aeruginosa* fue de 23248 mg/L O₂; los resultados finales fueron de 20568 y 22488 respectivamente. Partiendo de lo mencionado anteriormente se calculó el porcentaje de reducción de DQO para cada muestra, los resultados se muestran en el cuadro 18.

Cuadro 18. Porcentaje de reducción de DQO para las dos muestras.

Muestra	Combinación	Reducción (mg/L O₂)	% Reducción DQO	Tiempo (h)
1	<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	2680	11,53	24
2	<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	760	3,27	20

En el cuadro 19, se muestran algunas investigaciones junto con sus resultados de DQO obtenidos en determinado tiempo.

Cuadro 19. Resultados de DQO obtenidos en algunas investigaciones de MFC.

Título	Autores	% Reducción DQO	Tiempo (días)
Effect of salt concentration and mediators in salt bridge microbial fuel cell for electricity generation from synthetic wastewater.	Surajbhan Sevda, T. R. Sreekrishnan	88,41	25
Production of electricity from the treatment of urban waste water using a microbial fuel cell.	M.A. Rodrigo, P. Canizares, J. Lobato, R. Paz, C. Saez, J.J. Linares	50	13
Production of Electricity during Wastewater Treatment Using Fluidized-Bed Microbial Fuel Cells	Xuyun Wang, Xuehai Yue, Qingjie Guo	91	5

Del cuadro 18 se pudo observar que la cepa que mayor porcentaje de reducción de DQO obtuvo fue la *E. coli*, con la cual fue posible reducir 2680 mg/L O₂ con un porcentaje de 11,53% que se puede comparar con los estudios mostrados en el cuadro 19, pudiendo deducir que a pesar de tener un tiempo corto de proceso la remoción fue eficiente, ya que, si se mantiene este porcentaje cada día, es posible tener una alta remoción en aproximadamente 9 días, siendo un tiempo favorable

teniendo en cuenta las demás investigaciones (cuadro 19) para las cuales se lograron altos porcentajes en 25, 13 y 5 días respectivamente.

Por otro lado, la *P. aeruginosa* fue menos eficiente, pues se obtuvo una reducción de 760 mg/L O₂ con un porcentaje reducción de 3,27%. Realizando la misma comparación hecha anteriormente, se necesitaría de 30 días aproximadamente para lograr una remoción eficiente de materia orgánica, siendo un tiempo mucho más extenso que el necesario mediante el uso de *E. coli*.

En cuanto a los objetivos planteados, fue posible mostrar que se presenta una reducción de materia orgánica en el proceso de manera simultánea con la producción de energía eléctrica.

4. CONCLUSIONES

- De acuerdo a las consideraciones de variabilidad enzimática, capacidad de producción de energía y disponibilidad, se determinó que las bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron las seleccionadas para llevar a cabo la experimentación.
- La realización de las pruebas se llevó a cabo mediante una celda de combustible microbiana de doble cámara, placa y tela de grafito como electrodos, puente salino como puente de intercambio protónico, azul de metileno como mediador, agua residual sintética, con una composición basada en el caldo Trypticase de soya y valores de pH para la *Escherichia coli* de 6,5 y 7, y para la *Pseudomonas aeruginosa* de 7 y 8, condiciones que se seleccionaron a partir de factores como, disponibilidad, costo, condiciones de crecimiento y producción de energía eléctrica.
- Luego de realizadas las pruebas experimentales se pudo observar que la cepa con mayor producción de energía evaluada durante 24 horas fue la *Escherichia coli*, a condiciones óptimas de crecimiento (temperatura igual a 37°C), un pH igual a 6,5 y con uso de azul de metileno como mediador entre la bacteria y el electrodo de grafito.
- Teniendo en cuenta las primeras pruebas y las réplicas realizadas, se estableció que la combinación con los mayores valores de voltaje (*E. coli*, pH igual a 6,5, mediador y grafito como electrodo), mantuvo los mayores resultados tanto en el primer ensayo (464 mV) como en su réplica (386 mV) en comparación con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*.
- Según el análisis estadístico ANOVA, el efecto de los factores individuales y los efectos binarios entre los mismos (bacteria-mediador, bacteria-pH, mediador- material del electrodo y mediador-pH) influyen significativamente en la variable de respuesta, voltaje.
- Basados en la cuantificación y cinética de crecimiento, la bacteria con mayor velocidad de crecimiento fue la *Escherichia coli* con un valor de $0,725 \text{ h}^{-1}$, en comparación con la *Pseudomonas aeruginosa* con una velocidad de $0,517 \text{ h}^{-1}$, lo que identifica que la afinidad por el sustrato seleccionado es menor para la *Pseudomonas aeruginosa*.
- Del análisis de los parámetros de calidad del agua se obtuvo que el valor inicial de la demanda química de oxígeno del sustrato fue de 23248 mg/L O₂, al finalizar las pruebas con *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo una reducción de DQO a 20568 mg/L O₂ y 22488 mg/L O₂ respectivamente. Lo

que demuestra la capacidad de la *Escherichia coli* para degradar los nutrientes presentes en el medio.

5. RECOMENDACIONES

Con el fin de complementar la investigación realizada se recomienda llevar a cabo estudios teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

- Realizar varias réplicas para identificar de manera más certera el efecto que tiene cada uno de los factores en la variación del voltaje y por ende en los demás parámetros de medición de la energía eléctrica.
- Llevar a cabo cada una de las pruebas durante un mayor tiempo, para de esta manera, identificar en qué lapso el voltaje desciende hasta ser cero, además, para poder tomar diferentes muestras de DQO durante varios días y así determinar el tiempo óptimo de reducción de este parámetro.
- Proponer diferentes concentraciones de sal para la elaboración del puente de intercambio de protones, evaluando de esta manera si tiene influencia en la variación del voltaje y poder obtener una mayor producción de energía eléctrica.
- Evaluar la producción de energía eléctrica al realizar un montaje con varias celdas conectadas entre sí.
- Realizar las pruebas con agua residual doméstica, manteniendo constantes las variables estudiadas, para evaluar la producción de energía eléctrica en un proceso real.
- Aplicar al proceso diferentes concentraciones de mediador para evaluar el efecto sobre la producción de energía para cada una de las cepas.

BIBLIOGRAFÍA

A. S. O, Gomes., C. E, La Rotta H., M, Nitschke., E. R, Gonzalez. Evaluation of Current Output in *Pseudomonas Aeruginosa* Microbial Fuel Cells Using Glycerol as Substrate and Nafion 117 as Proton Exchange Membrane. En: Advancing solid state and electrochemical science and technology. vol. 41 no 1, p. 2011-2017

ANNETTE, E. La Bauve; MATTHEW, J. Wargo. Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas Aeruginosa*. En: Curr Protoc Microbiol. Mayo, 2012; p. 1-17

ASAFF, Ali; GRACIDA, Jorge. Uso de aceites vegetales como fuente de carbono para la síntesis de fenazinas con *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 13388. En: Departamento de biotecnología UAM-I, p. 1

BOND, D. R; LOVLEY, D. R. Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* Attached to Electrodes. En: Applied and environmental microbiology. Marzo, 2003, vol. 69 no 3, p. 1548-1555

CHEN, Suet. Growth Kinetics of *Pseudomonas aeruginosa*. Bozeman, Montana. 2011, 113p. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Chemical Engineering. Montana State University.

DANIEL, D.K; DAS MANKIDY, B; AMBARISH K; MANOGARI, R. Construction and operation of a microbial fuel cell for electricity generation from wastewater. En: International Journal of Hydrogen Energy. Agosto, 2009, vol. 34 no 17, p. 7555-7560

DONNENBERG, Michael. *Escherichia coli*: Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen. Academic Press, 2002. 417 p.

DORAN, Pauline. Principios de ingeniería de los bioprocesos. España: Acribia, S.A. 1995. 291p.

DU, Z; LI, H; GU, T. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnol Adv. Septiembre, 2007, vol. 25 no 5, p. 464 - 482

EL TEMARIO. Producción y transformación de las distintas formas de energía {en línea}. Diciembre 21, 2015. {3 de marzo de 2016} disponible en: (<https://oposinet.cvexpres.com/temario-de-tecnologia/temario-1-tecnologia/tema-1b-produccion-y-transformacion-de-las-distintas-formas-de-energia/>).

FALLAHZADEH, V; AHMADZADEH, M; SHARIFI, R. Growth and pyoverdine production kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 in an experimental fermentor. En: Journal of Agricultural Technology. vol. 6, p. 107-115

FORSTER, Andreas; GESCHER, Johannes. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of mixed-acid fermentation end products. En: *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2014, vol. 2, p. 2 - 11

HAN, Thi Hiep; KHAN, Mohammad Mansoob; KALATHIL, Shafeer; LEE, Jintae; CHO, Moo Hwan. Simultaneous enhancement of methylene blue degradation and power generation in a microbial fuel cell by gold nanoparticles. En: *Industrial and Engineering Chemistry Research*. Mayo, 2013, vol. 52. no 24, p. 8174–8181

HERRERO-HERNANDEZ, E.; SMITH, T. J. y AKID, R. Electricity generation from wastewaters with starch as carbon source using a mediatorless microbial fuel cell. En: *Biosensors and Bioelectronics*. vol. 39 no 1, p. 194-198

HRON, P; JOST, D; BASTIAN, P; GALLERT, C; WINTER, J; IPPISCH, O. Numerical simulation of growth of *Escherichia coli* in unsaturated porous media. University of Heidelberg, Interdisciplinary Center for Scientific Computing. {En línea}. {22 septiembre de 2016} disponible en: (<https://arxiv.org/pdf/1407.3743.pdf>).

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Sexta actualización. Bogotá: El Instituto, 1998.

_____. Referencias bibliográficas, contenido, forma y estructura. NTC 5613. Bogotá: El Instituto, 2008.

_____. Referencias documentales para fuentes de información electrónica. NTC 4490. Bogotá: El Instituto, 1998.

KATHIRAVAN, T; MARYKALA, J; SUNDARAMANICKAM, A; KUMARESAN, S; BALASUBRAMANIAN T. Studies on nutritional requirements of *Pseudomonas Aeruginosa* for lipase production. En: *Pelagia Research Library*. 2012, vol. 1. p. 593

KATO, Marcus A; TORRES, CI; RITTMANN, BE. Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell. En: *Biotechnol Bioeng*. Diciembre, 2007, vol. 98 no 6.

KIM, Hyung Joo; PARK, Hyung Soo; HYUN, Moon Sik; CHANGA, In Seop; KIM, Mia; KIM, Byung Hong. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. En: *Enzyme and Microbial Technology*. Abril-Agosto, 2002, vol. 30 no 2, p. 146-147

LARSEN, Inga; LITTLE, Brenda; NEALSON, Kenneth; RAY, Rinchard; STONE Alan; TIAN, Juihan. Manganite reduction by *Shewanella putrefaciens*. En: *American Mineralogist*. 1998, vol. 83, p. 1564 - 1572

LAY, Chyi How; KOKKO, Marika E. y PUHAKKA, Jaakko A. Power generation in fed-batch and continuous up-flow microbial fuel cell from synthetic wastewater. En: *Energy*. Noviembre, 2015, vol. 91, p. 235-241

LENDENMANN, Urs; SNOZZI, Mario; EGLI, Thomas. Growth kinetics of *Escherichia coli* with galactose and several other sugars in carbon-limited chemostat culture. En: Can. J. Microbiol. Enero, 2000, vol. 46, p. 72-80

LIU, Jing, et al. Graphene/carbon cloth anode for high-performance mediatorless microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. Enero, 2012, vol. 114, p. 275-280

LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells {en linea}. {3 de marzo de 2016}. New Jersey: Wiley, 2008. disponible en: (https://books.google.com.co/books?id=cXnc2wmrE9gC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false). 216p

LOGAN, Bruce E.; HAMELERS, Bert; Rozendal, René; SCHRÖDER, Uwe; KELLER, Jürg; FREGUIA, Stefano; AELTERMAN, Peter; VERSTRAETE, Willy; RABAEY, Korneel. Microbial fuel cells: Methodology and technology. En: Environmental Science and Technology. Julio, 2006, vol. 40 no. 17, p. 5181-5192

MADIGAN, Michael T; FERNANDEZ GACTO, Mariano; GARCIA ACHA, Isabel; MARTINKO, John M; VILLANUEVA, Julio. Brock biología de los microorganismos. España: Prentice Hall, 1998. 986 p.

MANDERSON, Daniel; DEMPSTER, Robert; CHISTI, Yusuf. A recombinant vaccine against hydatidosis: production of the antigen in *Escherichia coli*. Marzo, 2006, vol. 33, p. 173 - 182

MARTINUCCI, E., et al. Energy balance and microbial fuel cells experimentation at wastewater treatment plant Milano-Nosedo. En: International Journal of Hydrogen Energy. Diciembre, 2014, vol. 40, no 42, p. 14683 -14689

MELNICK, Jawetz. Microbiología medica de Jawetz. 18ª ed. México. Editorial el Manual Moderno. 2005.

METCALF, Eddy. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización. Ed. Mc Graw Hill. México. 1997.

MIN, Booki; CHENG, Shaoan; LOGAN, Bruce E. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. En: Water Research. Marzo, 2005, vol. 39. no. 9, p. 1675-1676

MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp.*, and their combined effect with mediator on MFC performance. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. Mayo 25, 2015, vol. 25, p. 42-50

MOOK, W.T; AROUA, M.K.T; CHAKRABARTI, M.H; NOOR, I.M; IRFAN, M.F; LOW, C.T.J. A review on the effect of bio-electrodes on denitrification and organic matter removal processes in bio-electrochemical systems. En: Journal of Industrial and Engineering Chemistry. Enero, 2013, vol. 19, no. 1, p. 1 - 13

MOROZAN, A. y STAMATIN, I. Carbon electrodes for microbial fuel cells. En: Journal of Optoelectronics and Advanced Materials. Febrero, 2007, vol. 9, no. 1, p. 221-224

MURRIAN, Patrick; ROFHENTAL, Ken; PFALLER, Michael. Microbiología médica. 5ª Ed. España. Elsevier Mosby. 2006.

OLIVEIRA, Helinando P; DA COSTA, Mateus. Development of low cost microbial fuel cell based on *Escherichia coli*. {En línea}. {10 septiembre de 2016} disponible en:(https://www.researchgate.net/publication/292090493_Development_of_low_cost_microbial_fuel_cell_based_on_Escherichia_coli).

ORIHUELA, María del Socorro Salazar. Generación de energía eléctrica a partir del tratamiento de aguas residuales por medio de bioceldas {en línea}. {2 de marzo de 2016} Disponible en: (<http://repositorio.imta.mx:8080/cenca-repositorio/bitstream/123456789/1377/1/TC-1314.1.pdf>)

PARK, Doo Hyun; ZEIKUS, Gregory. Electricity generation in Microbial Fuel Cells using Neutral Red as an Electronophore. En: Applied Environmental Microbiology. Abril, 2000, vol. 66, no 4, p. 1292 - 1297

POCCIA, M; BECCARIA, A; DONDO, R. Modeling the microbial growth of two *Escherichia coli* strains in a multi-substrate environment. En: Brazilian Journal of Chemistry Engineering. Abril – Junio, 2014, vol. 31, no. 2, p. 347 - 354

POPOV, Arseniy L.; KIM, Jung Rae; DINSDALE, Richard M.; ESTEVES, Sandra R.; GUWY, Alan J.; PREMIER, Giuliano C. The effect of physico-chemically immobilized methylene blue and neutral red on the anode of microbial fuel cell. En: Biotechnology and Bioprocess Engineering. [base de datos en línea]. Diciembre, 2011, vol. 17. no 2, p. 361-363

RABAEY, Korneel; VERSTRAETE, Willy. Microbial fuel cells: Novel biotechnology for energy generation. En: Trends in Biotechnology. [base de datos en línea] Junio, 2005, vol. 23, no. 6, p. 291 - 298

RAHIMNEJAD, Mostafa, et al. Investigation of different mediators in microbial fuel cell with cyclic voltammeter. En: Pakistan Journal of Biotechnology. 2013, vol. 10, no 2, p. 37-51

RAHIMNEJAD, M., et al. Methylene blue as electron promoters in microbial fuel cell. En: International Journal of Hydrogen Energy. Octubre, 2011, vol. 36, no 20, p. 13335-13341

REVELO, HURTADO, & RUIZ. Celdas de combustible microbianas (ccms): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica {en línea}. {4 de marzo de 2016} disponible en: (http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642013000600004&script=sci_arttext).

REZA MIROLIAEI, Mohammad; SAMIMI, Abdolreza; MOHEBBI-KALHORI, Davod; KHORRAM, Mohammad. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp.*, and their combined effect with mediator on MFC performance. En: Journal of industrial and Engineering Chemistry. Octubre 2014, vol. 25, p. 42 - 50

RIVAS MIJARES, G: Tratamiento de aguas residuales. segunda ed. Ediciones Vega. Caracas. 1978.

ROMERO, Alba; VASQUEZ, Jorge; GONZALEZ, Armando. Bacterias, fuente de energía para el futuro. En: Tecnura. Abril – Junio, 2012, vol. 16, no 32, p. 120-121

RUIZ MARTINEZ, Lidia. *Pseudomonas Aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antibióticos. Barcelona, 2007, p. 3. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Facultad de medicina. Departamento de patología.

SCHLEGEL, Hans G. Microbiología general. Barcelona: Omega S.A, 1997.

SCHRÖDER, Uwe. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. En: Physical chemistry chemical physics. [base de datos en línea]. Mayo, 2007, vol. 9. no 21, p. 2624 - 2626

SOBERÓN CHÁVEZ, Gloria. *Pseudomonas aeruginosa*: una bacteria fascinante y temible. En: III Encuentro participación de la mujer en la ciencia. 2010: Ciudad de México. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México: 2010. p. 1-5.

SUBRAMANIAN, K; SUGANDHRAJ, B. Bioelectricity from sugar factory effluent through a microbial fuel cell in presence of mediators. En: Asian Journal of Microbiology. vol. 17, p. 615 - 621

SUND, C. J; MCMASTERS, S. R; CRITTENDEN, L. E; HARREL, L. E; SUMNER, J.J. Effect of electron mediators on current generation and fermentation in a microbial fuel cell. En: Appl Microbiol Biotechnol. Septiembre, 2007, vol. 76, no 3, p. 561 - 568

SZOLLOSI, A; REZESSY, JM; HOSCHKE A. Novel method for screening microbes for application in Microbial fuel cell. En: Bioresour Technol. Marzo, 2015, vol. 179, p. 123 - 127

TALAAT, E. Shehata; ALLEN, G. Marr. Effect of Temperature on the size of *Escherichia coli* Cells. En: Journal of Bacteriology. Noviembre, 1975, vol. 124, no 2, p. 857 - 862

TEACH ENGINEERING. Lección: ¿Qué es la energía? {en línea}. {3 de marzo de 2016} disponible en: (https://www.teachengineering.org/lessons/view/cub_energy2_lesson01).

TORRES LOZADA, Patricia; FORESTI, Eugenio; VAZOLLER, Rosana F.; Composición y uso de agua residual doméstica en reactores a escala de laboratorio. Cali; p. 1 - 9

TORTORA, Gerard J; CASE, Christine L; CWI, Silvia; FUNKE, Berdell R; MIKKELSEN, Karen; PATRONE, Ubaldo. Introducción a la microbiología. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A, 2007.

TREMBLAY, Pier-Luc; AKLUJKAR, Muktak; LEANG, Ching; NEVIN, Kelly P; LOVLEY, Derek. A genetic system for *Geobacter metallireducens*: role of the flagellin and pilin in the reduction of Fe(III) oxide. En: Environmental Microbiology Reports. Noviembre, 2012, vol. 4, no 1, p. 82 - 88

VEER RAGHAVULU, S.; SARMA, P. N. y VENKATA MOHAN, S. Comparative bioelectrochemical analysis of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* with anaerobic consortia as anodic biocatalyst for biofuel cell application. En: Journal of Applied Microbiology. Marzo, 2011, vol. 110, no 3, p. 666 - 674

WANG, Chin-Tsan; CHEN, Wei-Jung; HUANG, Rwei-Yao. Influence of growth curve phase on electricity performance of microbial fuel cell by *Escherichia coli*. En: International Journal of Hydrogen Energy. [base de datos en línea]. Marzo, 2010, vol. 35, no 13, p. 7218 - 7219

WEI, Jincheng; LIANG, Peng; HUANG, Xia. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. En: Bioresource Technology. [base de datos en línea]. Mayo-julio, 2011, vol. 102 no. 20, p. 9335 - 9344

XI, Ming-yue; SUN, Yan-ping. Preliminary study on *E. coli* Microbial Fuel Cell and On-electrode Taming of the Biocatalyst. En: The Chinese Journal of Process Engineering. Diciembre, 2008, vol. 8, no 6, p 1180 - 1184

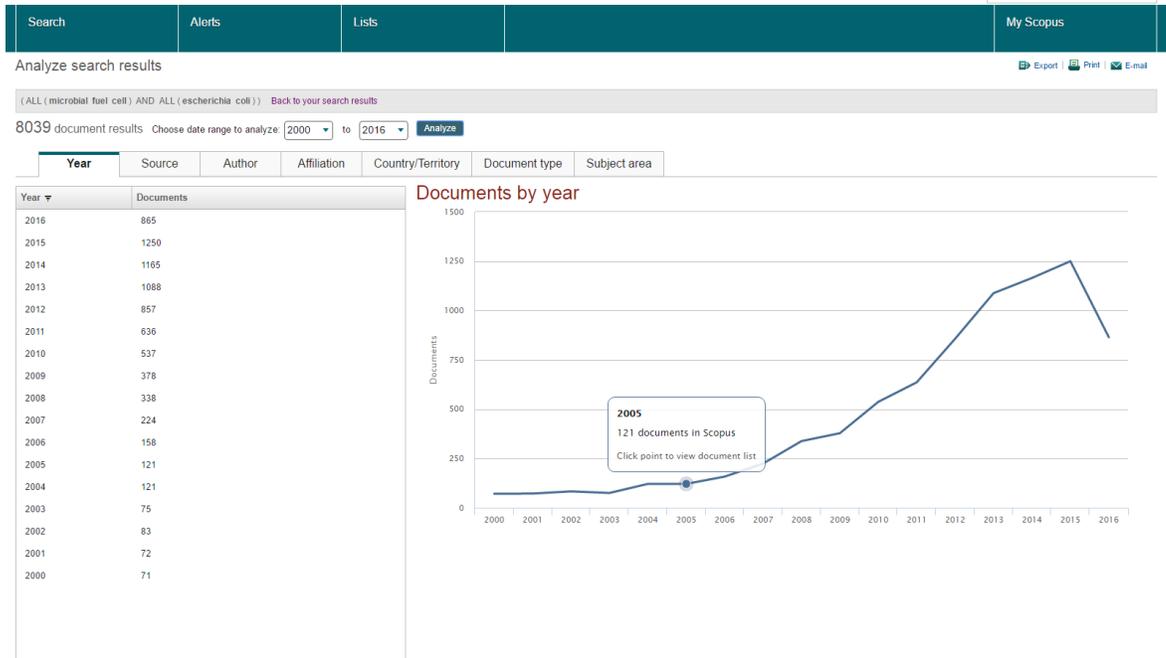
YADAV, Asheesh Kumar; DASH, Purnanjali; MOHANTY, Ayusman; ABBASSI, Rouzbeh; MISHRA, Barada Kanta. Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. En: Ecological Engineering. [base de datos en línea]. Octubre, 2012, vol. 47, p. 126 -131

ZHAI, D. -D, et al. Enhanced power production from microbial fuel cells with high cell density culture. En: Water Science and Technology. 2016, vol. 73 no 9, p. 2176 - 2181

ANEXOS

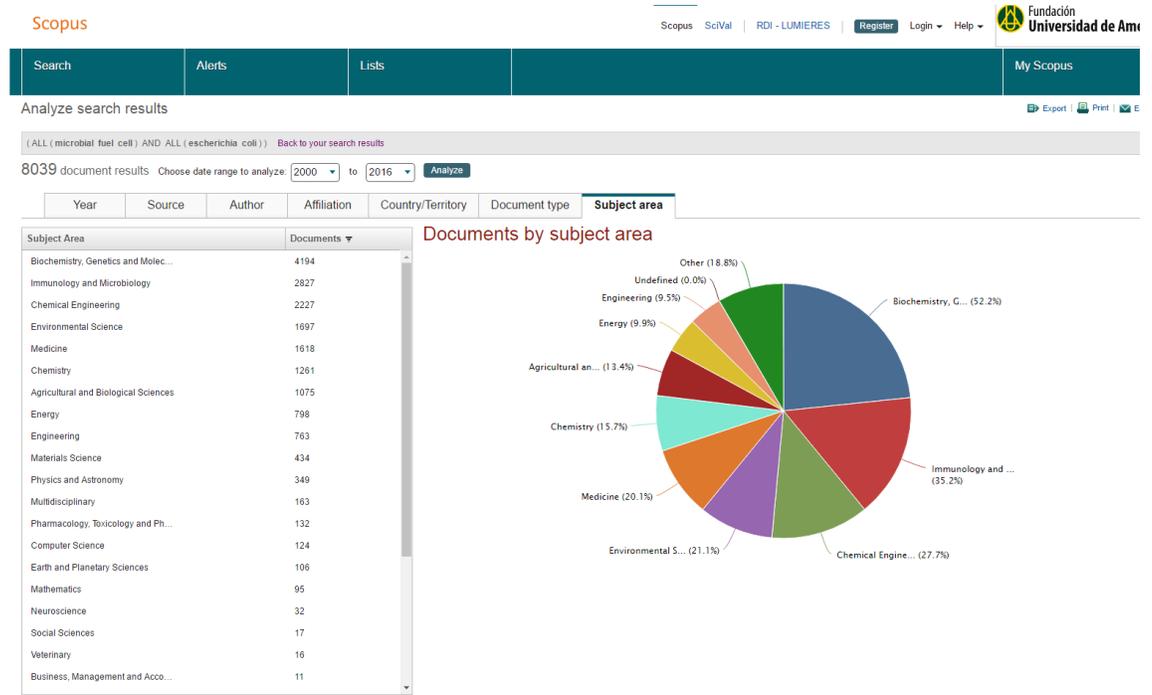
ANEXO A

INVESTIGACIONES HECHAS CON *Escherichia coli* ENTRE 2000-2016, TOMADO DE LA BASE DE DATOS SCOPUS.



ANEXO B

DOCUMENTOS POR ÁREA PARA *Escherichia coli*, TOMADO DE LA BASE DE DATOS SCOPUS.



ANEXO C

INVESTIGACIONES HECHAS CON *Pseudomonas aeruginosa* ENTRE 2000-2016, TOMADO DE LA BASE DE DATOS SCOPUS.

Scopus

Scopus SciVal Register Login Help



Search | Alerts | Lists | My Scopus

Analyze search results

Export Print E-mail

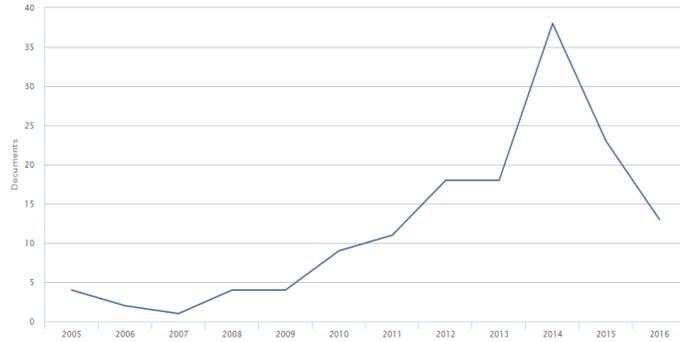
(ALL (microbial fuel cells) AND ALL (pseudomonas aeruginosa) AND ALL (mfc) AND ALL (wastewater)) [Back to your search results](#)

145 document results Choose date range to analyze: 2005 to 2016 [Analyze](#)

Year | Source | Author | Affiliation | Country/Territory | Document type | Subject area

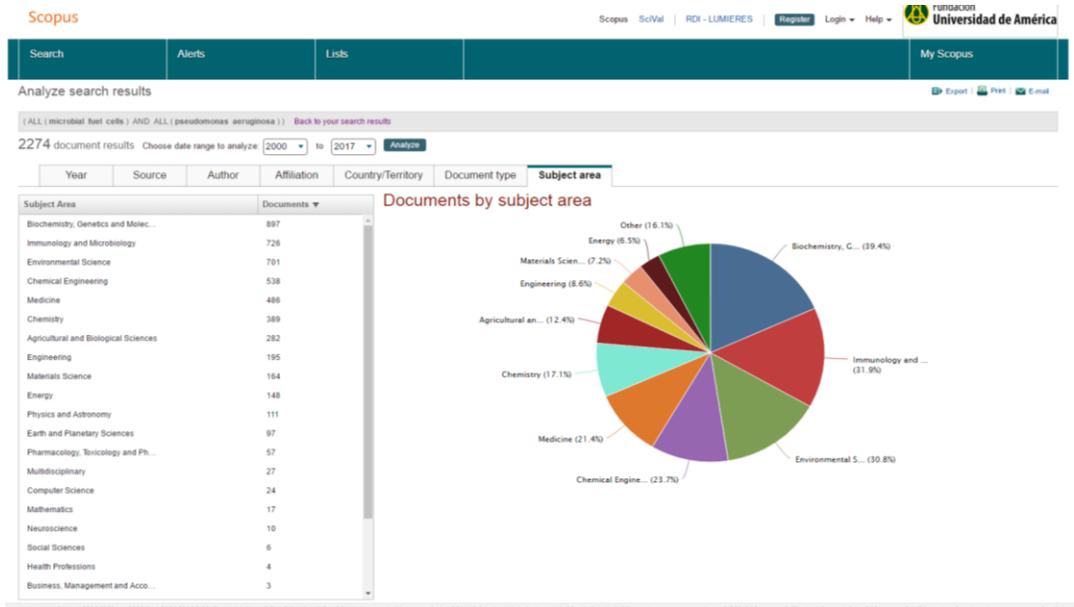
Year	Documents
2016	13
2015	23
2014	38
2013	18
2012	18
2011	11
2010	9
2009	4
2008	4
2007	1
2006	2
2005	4

Documents by year

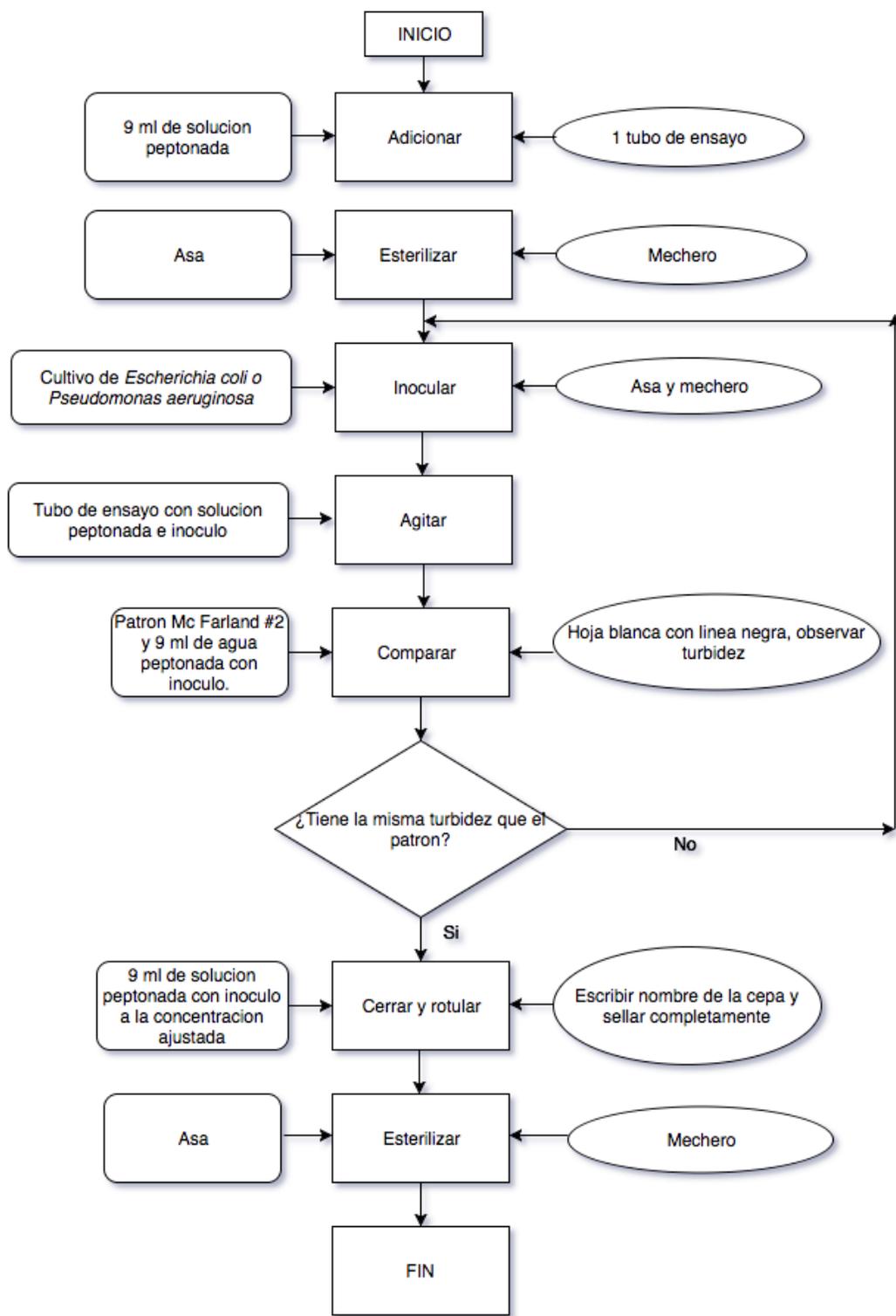


ANEXO D

DOCUMENTOS POR ÁREA PARA *Pseudomonas aeruginosa*, TOMADO DE LA BASE DE DATOS SCOPUS.



ANEXO E PREPARACIÓN DEL INOCULO.



ANEXO F
COSTO DE LOS MATERIALES DE LOS ELECTRODOS.

Material	Precio (USD)
Papel de carbón (0,3 mg/cm ² 40% Pt) 7,1 cm x 7,1 cm	46,00
Papel de carbón (0,3 mg/cm ² 40% Pt) 20 cm x 20 cm	215,00
Tela de carbón (0,25 mg/cm ² Pt 20%) 10 cm x 10 cm	24,50
Tela de carbón (0,1 mg/cm ² Pt 20%) 172 cm ²	40,00
Tela de carbón 30 cm x 30 cm	30,00
Tela de carbón 15 cm x 15 cm	18,00
Barra de grafito (diámetro 1-1/2 pulgada)	78,37
Barra de grafito (diámetro 1/2 pulgada)	20,80
Barra de grafito (diámetro 1/4 pulgada)	19,99
Barra de grafito (diámetro 2 pulgadas)	93,72
Filtro de carbono (1 m ²)	12,00
Filtro de carbono 20 cm x 20 cm	19,00
Fibra de carbono (1 m ²)	9,98
Fibra de carbono 2 m x 2 m	11,95

placa de grafito 5 cm x 4 cm x 0,3 cm	2,99
Placa de grafito 10 cm x 10 cm x 1 cm	5,89
Placa de grafito 10 cm x 10 cm x 0,5 cm	5,17

ANEXO G
COSTO DEL MEDIO DE CULTIVO USADO COMO AGUA RESIDUAL
SINTÉTICA.

Bogotá, 9 de Agosto de
2016

Señores
UNIVERSIDAD DE
AMERICA
ATN. ING. MARIA JULIETA
ZAPATA
LABORATORIO
CIUDAD

COTIZACION No. AR -0582/16

ITM	DESCRIPCION	MARCA	CANT	V/UNITARIO	V/TOTAL	IVA	ENTREGA
1	CALDO NUTRITIVO FCO X 500 GR CM-001	OXOID	1	382.000	382.000	16	10 DIAS
2	CALDO CASO -TRIPTONA SOYA X 500 GR 105459	MERCK	1	175.000	175.000	16	10 DIAS
				SUB TOTAL	557.000		
				IVA	89.120		
CONDICIONES COMERCIALES				TOTAL	646.120		

IVA : 16% NO INCLUIDO EN EL VALOR UNITARIO
PAGO : CONTRA
ENTREGA

VIGENCIA : 30 DIAS
ENTREGA : ESPECIFICADA EN CADA ITEM DESPUES DE RECIBIDA LA ORDEN
SALVO VENTA PREVIA

***LAS ENTREGAS ESTAN SUJETAS A LA DISPONIBILIDAD DE LOS FABRICANTES ***

*** GUSTOSOS DE PODER
SERVIRLES ***

Atentamente,



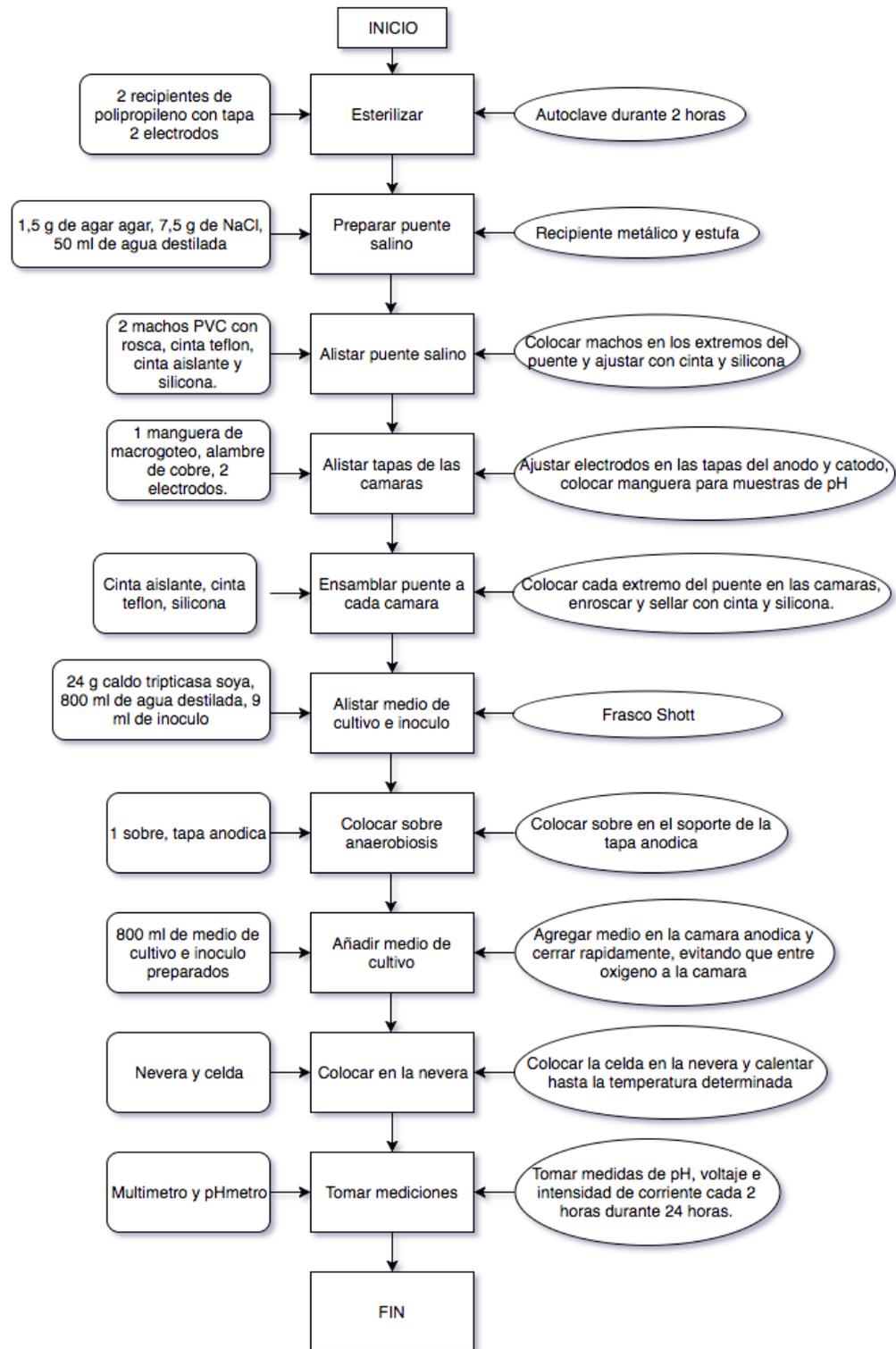
ANEXO H
COSTO DEL MATERIAL DE LAS CÁMARAS DE LA CELDA.

Material	Costo (COP)
Vidrio (1 m ² , 4 mm espesor)	16.900
Vidrio (1 m ² , 5 mm espesor)	22.900
Vidrio (1 m ² , 4 mm espesor)	42.150
Vidrio (1 m ² , 6 mm espesor)	52.380
Policarbonato (lamina 1,20 m x 1,80 m, 4mm espesor)	58.600
Policarbonato (lamina 0,61 m x 1,22 m, 4mm espesor)	20.300
Acrílico plexiglás 1,83 x 2,46 m (3mm espesor)	183.477
Lamina de acrílico	55.00
Lamina de poli estireno	59.000
Recipientes polipropileno x14	32.900

ANEXO I
COSTO DE LA MEMBRANA DE INTERCAMBIO PROTÓNICO.

Tipo de membrana	Costo (USD)
Nafion 117 10 cm x 10 cm	32,00
Nafion 115 10 cm x 10 cm	27,00
Nafion 211 10 cm x 10 cm	21,00
Ultrex 1,2 m x 0,5 m	125,00
Ultrex 1,2 cm x 1 m	250,00

ANEXO J ENSAMBLAJE MFC.



ANEXO K
RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LAS 16 PRUEBAS.

EXPERIMENTO	pH 0	Voltaje 0 (mV)	Intensidad 0 (µA)	pH 1	Voltaje 1 (mV)	Intensidad 1 (µA)	pH 2	Voltaje 2 (mV)	Intensidad 2 (µA)
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 - Grafito	7	1,9	3	6,8	277	2	6,8	333	4
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	7	1,7	2	6,9	298	2	6,3	227	3
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	6,5	56	20	6,4	186	1	6,4	227	1
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	6,5	192	742	6,4	564	3	6,4	303	2
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	7	11,1	2	6,9	262	9	5,9	436	15
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	7	5,6	3	6,9	283	8	5,9	290	16
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 - Grafito	6,5	36,8	685	6,8	71	5	6,4	56	18
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	6,5	27,6	2	6,8	66	1	6,4	46	3
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	8	305	2	7,3	424	4	6,5	289	3
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	8	212	24	7,1	309	5	7,2	387	11
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	7	74	3	6,9	20	3	7,1	36	4
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	7	0,6	5	6,9	0,9	8	6	0,9	13
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	8	222	7	7,5	294	2	6,4	308	15
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	8	357	33	7,4	400	89	6,6	343	13
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Tela	7	0,7	19	6,9	112	24	5,8	96	20
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Grafito	7	2,7	783	6,9	1,4	13	6,2	156,8	6

EXPERIMENTO	pH 3	Voltaje 3 (mV)	Intensidad 3 (µA)	pH 4	Voltaje 4 (mV)	Intensidad 4 (µA)	pH 5	Voltaje 5 (mV)	Intensidad 5 (µA)
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 - Grafito	6,8	342	5	6,8	346	18	6,7	351	2
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	5,5	251	6	5,3	254	677	5,5	269	3
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	5,9	303	4	5,5	299	3	5,6	301	2
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	5,9	560	18	5,6	620	5	5,7	468	8
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	5,5	268	3	5,3	113	10	5,5	106	12
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	5,4	305	14	5,3	287	8	5,5	256	11
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 - Grafito	5,8	88	4	5,5	82	4	5,4	79	6
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	5,8	52	1	5,5	50	2	5,5	73	3
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	5,8	261	8	5,7	248	14	5,9	241	12
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	6,4	433	12	5,7	425	9	5,6	428	8
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	5,8	12	8	5,9	19	4	6	33	7
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	5,5	0,4	264	5,6	0,3	205	5,7	0,3	2
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	5,7	287	17	5,7	241	25	5,9	277	3
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	5,7	282	10	5,6	233	6	5,9	210	2
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Tela	6,1	94,2	9	5,9	94,3	2	5,9	105	23
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Grafito	5,7	43	3	5,9	41,5	8	6	18,8	8

EXPERIMENTO	pH 6	Voltaje 6 (mV)	Intensidad 6 (µA)	pH 7	Voltaje 7 (mV)	Intensidad 7 (µA)	pH 8	Voltaje 8 (mV)	Intensidad 8 (µA)
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 - Grafito	6,7	334	110	6,7	334	25	6,3	377	432
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	5,6	232	117	5,5	210	30	5,6	207	532
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	5,7	312	4	5,9	323	4	5,8	331	3
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	6	479	7	5,9	513	21	5,8	451	6
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	5,5	266	5	5,6	107	12	5,6	139	2
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	5,5	278	8	5,6	222	3	5,6	256	4
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 - Grafito	5,5	93	26	5,5	129	9	5,6	121	19
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	5,4	86	5	5,5	104	2	5,6	112	4
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	5,8	206	5	5,9	255	3	5,9	253	8
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	5,9	441	10	5,9	443	18	5,9	453	6
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	5,9	25	2	6	20	5	6	36	4
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	5,8	0,4	758	5,7	4,9	9	5,9	0,2	32
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	5,9	276	8	5,9	281	2	6	277	14
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	5,9	217	9	6,1	218	2	6,1	215	6
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Tela	6,0	124,2	27	6,1	128	29	6,1	136	31
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Grafito	6	27	2	5,9	14,9	151	6	225	3

EXPERIMENTO	pH 9	Voltaje 9 (mV)	Intensidad 9 (µA)	pH 10	Voltaje 10 (mV)	Intensidad 10 (µA)	pH 11	Voltaje 11 (mV)	Intensidad 11 (µA)
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 - Grafito	5,7	357	8	5,8	304	1	5,8	324	5
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	5,6	209	7	5,7	208	3	5,7	154	7
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	5,9	327	1	6	334	2	5,9	344	5
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	5,9	476	29	6	461	11	6	460	17
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	5,7	52	1	5,9	32	3	5,8	28,8	1
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	5,7	120	2	5,9	94	4	5,8	91	2
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 - Grafito	5,4	174	7	5,6	158	6	5,5	153	10
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	5,5	122	3	5,5	137	1	5,6	145	2
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	6	256	3	6,1	255	30	6,1	246	3
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	6	462	15	6	470	5	6,1	468	7
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	6,1	50	6	6,1	92	3	6,1	85	9
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	5,9	0,8	1	6,1	0,5	9	6,1	0,7	47
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	6	272	37	6,1	260	7	6,1	252	9
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	6	213	16	6	212	4	6,2	212	9
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Tela	6,2	141	32	6,2	158	38	6,1	186	48
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Grafito	6,1	234	174	6,2	234	25	6,1	241	4

EXPERIMENTO	pH 12	Voltaje 12 (mV)	Intensidad 12 (µA)	pH 13	Voltaje 13 (mV)	Intensidad 13 (µA)
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 - Grafito	5,8	552	10	5,8	540	14
<i>E. coli</i> - CM - pH 7 – Tela	5,8	136	6	-	-	-
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Tela	5,9	350	1	-	-	-
<i>E. coli</i> - CM - pH 6,5 – Grafito	6	483	2	-	-	-
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Tela	5,6	42	11	5,6	16,8	15
<i>E. coli</i> - SM - pH 7 – Grafito	5,6	72	1	5,6	57	1
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 - Grafito	5,4	172	5	5,4	158	2
<i>E. coli</i> - SM - pH 6,5 – Tela	5,4	157	1	5,5	158	1
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Tela	6	280	4	6	273	7
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	6,1	448	30	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Grafito	6,3	86	23	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 7 – Tela	6	0,7	4	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Tela	6,1	240	8	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 8 – Grafito	6,2	212	5	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Tela	6,1	162	52	6,1	137	33
<i>P. aeruginosa</i> - SM - pH 7 - Grafito	6,2	227	2	-	-	-

ANEXO L
RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LAS DOS REPLICAS.

<i>E. coli</i> – CM – pH 6,5 – Grafito		<i>P. aeruginosa</i> - CM - pH 8 – Grafito	
Voltaje 0 (mV)	Intensidad 0 (μA)	Voltaje 0 (mV)	Intensidad 0 (μA)
181	13	66	6
Voltaje 1 (mV)	Intensidad 1 (μA)	Voltaje 1 (mV)	Intensidad 1 (μA)
276	182	274	140
Voltaje 2 (mV)	Intensidad 2 (μA)	Voltaje 2 (mV)	Intensidad 2 (μA)
287	364	333	212
Voltaje 3 (mV)	Intensidad 3 (μA)	Voltaje 3 (mV)	Intensidad 3 (μA)
402	542	363	321
Voltaje 4 (mV)	Intensidad 4 (μA)	Voltaje 4 (mV)	Intensidad 4 (μA)
404	415	364	331
Voltaje 5 (mV)	Intensidad 5 (μA)	Voltaje 5 (mV)	Intensidad 5 (μA)
407	526	369	391
Voltaje 6 (mV)	Intensidad 6 (μA)	Voltaje 6 (mV)	Intensidad 6 (μA)
412	723	376	436
Voltaje 7 (mV)	Intensidad 7 (μA)	Voltaje 7 (mV)	Intensidad 7 (μA)
418	657	383	461
Voltaje 8 (mV)	Intensidad 8 (μA)	Voltaje 8 (mV)	Intensidad 8 (μA)
427	571	372	422
Voltaje 9 (mV)	Intensidad 9 (μA)	Voltaje 9 (mV)	Intensidad 9 (μA)
432	669	379	484

Voltaje 10 (mV)	Intensidad 10 (μA)	Voltaje 10 (mV)	Intensidad 10 (μA)
439	668	393	497

Voltaje 11 (mV)	Intensidad 11 (μA)	Voltaje 11 (mV)	Intensidad 11 (μA)
450	753	--	--

Voltaje 12 (mV)	Intensidad 12 (μA)	Voltaje 12 (mV)	Intensidad 12 (μA)
482	677	--	--

ANEXO M
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE DQO.

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Bogotá D.C. , 16/10/2016	N.I.T. 101,845,737-1
Solicitante : María Julieta Zapata	
Telefonos: 3214515266	FAX :
Dirección:	



RESOL. No. 3567/2014



NIT. 800,070,853 - 7

INFORME DE RESULTADOS DE LABORATORIO MUESTRA 152146

Fecha Recepción: 06/10/2016

DATOS DE RECEPCION DE LA MUESTRA

Página 1 de 3

NO DETERMINADO

Cadena de Custodia <input checked="" type="checkbox"/>	Fecha toma: 06/10/2016	Departamento: BOGOTA	Municipio: BOGOTA D.C.
Datos de Campo <input type="checkbox"/>	Hora toma: 6.30	Coordenadas:	
Preservación <input type="checkbox"/>	Monitoreo: Cliente	Sitio PRUEBA AGUA RESIDUAL SINTETICA No.1	
Plan Muestral <input type="checkbox"/>	No Asignado	Monitoreo	
	Nombre plan:		

OBSERVACIONES :

Muestra tomada por el cliente. - Compuesta así:
(Caldo tripticasa de Soya, Azul de metileno, E. Coli)

Parámetro de Análisis	Reproceso	Método	LC	Incertidumbre Combinada	Resultado	Unidades
A-DQO Rango Medio (Colorimétrico) ®		SM 5220 D	4.37	0.0227	20568.00	mg/L O2

Nota: El resultado de este análisis es único y solo valido con el sello seco del Laboratorio. Queda totalmente prohibida la reproducción del mismo y solamente son validas las copias autorizadas con el sello seco del laboratorio. Este reporte aplica unicamente a la muestra analizada. Los valores de incertidumbre reportados corresponden a incertidumbre combinada (uc). Para expandir aplique: $k \cdot uc \cdot \text{Concentración}$. El factor de cobertura es $k=2$ con un nivel de confianza del 95%.

*: Identifica en donde se generó reproceso dentro del reporte de resultados por causa de PQR, PQR: Preguntas, quejas o reclamos. La información asociada a estas muestras (Cadenas de custodia) reposaran en los archivos de Prodycon S.A por un año.

Observaciones :

Firma Autorizada:

Director Técnico
Carlos F. Ordoñez P.
T.P. 674-93

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Parámetros Acreditados ISO IEC 17025 por IDEAM Resolucion 3567/2014 Identificados con ® al frente. Plan de Muestreo; Cadena de Custodia y Datos de Campo, en Formatos anexos, identificados con el número de muestra y disponibles cuando el cliente los solicite.

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Bogotá D.C., 23/10/2016 N.I.T. 101,845,737-1
Solicitante : María Julieta Zapata
Telefonos: 3214515266 **FAX :**
Dirección:



RESOL. No. 3567/2014



Prodycon
Laboratorio Ambiental

NIT. 800,070,853 - 7

INFORME DE RESULTADOS DE LABORATORIO MUESTRA 152355

Fecha Recepción: 13/10/2016

DATOS DE RECEPCION DE LA MUESTRA

Página 2 de 3

NO DETERMINADO

Cadena de Custodia **Fecha toma** 13/10/2016 **Departamento:** BOGOTA **Municipio:** BOGOTA D.C.
Datos de Campo **Hora toma:** 6.30 **Coordenadas:**
Preservación **Monitoreo:** Cliente **Sitio** AGUA RESIDUAL SINTETICA No.2
Plan Muestral **No Asignado** **Monitoreo**
Nombre plan:

OBSERVACIONES :

Muestra tomada por el cliente. Caldo Tripticasa de soya - Azul de Metileno - Pseudomona Aeruginosa

Parámetro de Análisis	Reproceso	Método	LC	Incertidumbre Combinada	Resultado	Unidades
A-DQO Rango Medio (Colorimétrico) ®		SM 5220 D	4.37	0.0227	22488.00	mg/L O2

Nota: El resultado de este análisis es único y solo valido con el sello seco del Laboratorio. Queda totalmente prohibida la reproducción del mismo y solamente son validas las copias autorizadas con el sello seco del laboratorio. Este reporte aplica unicamente a la muestra analizada. Los valores de incertidumbre reportados corresponden a incertidumbre combinada (uc). Para expandir aplique: $k \cdot uc \cdot \text{Concentración}$. El factor de cobertura es $k=2$ con un nivel de confianza del 95%.

*: Identifica en donde se generó reproceso dentro del reporte de resultados por causa de PQR, PQR: Preguntas, quejas o reclamos. La información asociada a estas muestras (Cadenas de custodia) reposaran en los archivos de Prodycon S.A por un año.

Observaciones :

Firma Autorizada:

Director Técnico
 Carlos F. Ordoñez P.
 T.P. 674-93

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Parámetros Acreditados ISO IEC 17025 por IDEAM Resolucion 3567/2014 Identificados con ® al frente. Plan de Muestreo; Cadena de Custodia y Datos de Campo, en Formatos anexos, identificados con el número de muestra y disponibles cuando el cliente los solicite.

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Bogotá D.C., 23/10/2016 N.I.T. 101,845,737-1
 Solicitante : María Julieta Zapata
 Telefonos: 3214515266 FAX :
 Dirección:



RESOL. No. 3567/2014



NIT. 800,070,853 - 7

INFORME DE RESULTADOS DE LABORATORIO MUESTRA 152356

Fecha Recepción: 13/10/2016

DATOS DE RECEPCION DE LA MUESTRA

Página 3 de 3

NO DETERMINADO

Cadena de Custodia Fecha toma 13/10/2016 Departamento: BOGOTA Municipio: BOGOTA D.C.
 Datos de Campo Hora toma: 6.30 Coordenadas:
 Preservación Monitoreo: Cliente Sitio AGUA RESIDUAL SINTETICA No.3
 No Asignado Monitoreo
 Plan Muestral Nombre plan:

OBSERVACIONES :

Muestra tomada por el cliente. Caldo Tripticasa de soya

Parámetro de Análisis	Reproceso	Método	LC	Incertidumbre Combinada	Resultado	Unidades
A-DQO Rango Medio (Colorimétrico) ®		SM 5220 D	4.37	0.0227	23248.00	mg/L O2

Nota: El resultado de este análisis es único y solo valido con el sello seco del Laboratorio. Queda totalmente prohibida la reproducción del mismo y solamente son validas las copias autorizadas con el sello seco del laboratorio. Este reporte aplica unicamente a la muestra analizada. Los valores de incertidumbre reportados corresponden a incertidumbre combinada (uc). Para expandir aplique: k*uc*Concentración. El factor de cobertura es k=2 con un nivel de confianza del 95%.

*: Identifica en donde se generó reproceso dentro del reporte de resultados por causa de PQR, PQR: Preguntas, quejas o reclamos.

La información asociada a estas muestras (Cadenas de custodia) reposaran en los archivos de Prodycon S.A por un año.

Observaciones :

Firma Autorizada:

Director Técnico
 Carlos F. Ordoñez P.
 T.P. 674-93

LABORATORIOS PRODYCON S.A.

Parámetros Acreditados ISO IEC 17025 por IDEAM Resolucion 3567/2014 Identificados con ® al frente. Plan de Muestreo; Cadena de Custodia y Datos de Campo, en Formatos anexos, identificados con el número de muestra y disponibles cuando el cliente los solicite.

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL LUMIERES

Nosotros **Sergio Andrés Medina Mesa** y **María Julieta Zapata Rojas** en calidad de titulares de la obra **Evaluación de la producción de energía eléctrica y disminución de DQO en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio**, elaborada en el año 2016, autorizamos al **Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América** para que incluya una copia, indexe y divulgue en el **Repositorio Digital Institucional – Lumieres**, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que nos corresponden y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normalidad vigente sobre derechos de autor y derechos conexos (Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, entre otras).

Al respecto como Autores manifestamos conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que el autor puede publicar o difundir su obra en cualquier otro medio, así como llevar a cabo cualquier tipo de acción sobre el documento.
- La autorización tendrá una vigencia de cinco años a partir del momento de la inclusión de la obra en el repositorio, prorrogable indefinidamente por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales del autor y podrá darse por terminada una vez el autor lo manifieste por escrito a la institución, con la salvedad de que la obra es difundida globalmente y cosechada por diferentes buscadores y/o repositorios en Internet, lo que no garantiza que la obra pueda ser retirada de manera inmediata de otros sistemas de información en los que se haya indexado, diferentes al Repositorio Digital Institucional – Lumieres de la Fundación Universidad América.
- La autorización de publicación comprende el formato original de la obra y todos los demás que se requiera, para su publicación en el repositorio. Igualmente, la autorización permite a la institución el cambio de soporte de la obra con fines de preservación (impreso, electrónico, digital, Internet, intranet, o cualquier otro formato conocido o por conocer).
- La autorización es gratuita y se renuncia a recibir cualquier remuneración por los usos de la obra, de acuerdo con la licencia establecida en esta autorización.
- Al firmar esta autorización, se manifiesta que la obra es original y no existe en ella ninguna violación a los derechos de autor de terceros. En caso de que el trabajo haya sido financiado por terceros, el o los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, el o los autores serán los responsables. En ningún caso la responsabilidad será asumida por la Fundación Universidad de América.
- Con la autorización, la Universidad puede difundir la obra en índices, buscadores y otros sistemas de información que favorezcan su visibilidad.

Conforme a las condiciones anteriormente expuestas, como autores establecemos las siguientes condiciones de uso de nuestra obra de acuerdo con la **licencia Creative Commons** que se señala a continuación:

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

	Atribución- no comercial- sin derivar: permite distribuir, sin fines comerciales, sin obras derivadas, con reconocimiento del autor.	<input type="checkbox"/>
	Atribución - no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor.	<input checked="" type="checkbox"/>
	Atribución - no comercial - compartir igual: permite distribuir, modificar, crear obras derivadas, sin fines económicos, siempre y cuando las obras derivadas estén licenciadas de la misma forma.	<input type="checkbox"/>

Licencias completas: http://co.creativecommons.org/?page_id=13

Siempre y cuando se haga alusión de alguna parte o nota del trabajo, se debe tener en cuenta la correspondiente citación bibliográfica para darle crédito al trabajo y a sus autores.

De igual forma como autores autorizamos la consulta de los medios físicos del presente trabajo de grado así:

AUTORIZAMOS	SI	NO
La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca) del CD-ROM y/o Impreso	X	
La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer para efectos de preservación	X	

Información Confidencial: este Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica o secreta o se ha pedido su confidencialidad por parte del tercero, sobre quien se desarrolló la investigación. En caso afirmativo expresamente indicaremos, en carta adjunta, tal situación con el fin de que se respete la restricción de acceso.	SI	NO
		X

Para constancia se firma el presente documento en Bogotá, a los 27 días del mes de enero del año 2017.

LOS AUTORES:

Autor 1

Nombres	Apellidos
Sergio Andrés	Medina Mesa
Documento de identificación No	Firma
1015455149	<i>Sergio Medina</i>

Autor 2

Nombres	Apellidos
María Julieta	Zapata Rojas
Documento de identificación No	Firma
1018457371	<i>Julieta Zapata Rojas</i>