

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA EN UNA PILA  
DE COMBUSTIBLE MICROBIANA A PARTIR AGUAS RESIDUALES DE LA  
INDUSTRIA DE CERVEZA ARTESANAL A ESCALA DE LABORATORIO,  
EMPLEANDO *E. COLI* Y *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

ANDRÉS CAMILO GUTIERREZ CARVAJAL  
CAMILO ANDRÉS SANTANA OTALORA

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.  
2018.

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA EN UNA PILA  
DE COMBUSTIBLE MICROBIANA A PARTIR AGUAS RESIDUALES DE LA  
INDUSTRIA DE CERVEZA ARTESANAL A ESCALA DE LABORATORIO,  
EMPLEANDO *E. COLI* Y *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

ANDRÉS CAMILO GUTIERREZ CARVAJAL  
CAMILO ANDRÉS SANTANA OTALORA

Trabajo de investigación para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO

Director  
ANDREA LACHE MUÑOZ  
Ingeniera Química

Codirector  
ADRIANA PÁEZ  
Microbióloga

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.  
2018.

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

Bogotá D.C.

## 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**

Decano general Facultad de Ingenierías

**Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi**

Director de Investigaciones

**Ing. Armando Fernández**

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**

En primer lugar, quiero agradecer a mi mamá que sin su confianza en mí y los sacrificios que ha realizado para que me desarrolle como persona, no sería la persona que soy hoy en día. Igualmente agradezco su paciencia y todos aquellos consejos que me dio a lo largo de mi vida. También he de dedicar este primer gran paso en mi vida a mi tía, ya que siempre me ha acompañado en todo proceso educativo y personal además ha sido un ejemplo a seguir por su honestidad y conocimientos, de antemano sé que este logro la alegrará más que a nadie, así como lo ha hecho hasta el momento. A mis tíos, a mi abuelo, y a cada uno de mis familiares porque sin ellos esto no sería posible, les quiero dedicar este primer triunfo, del cual estoy seguro estarán orgullosos.

A mis amigos y profesores que de cierta forma me ayudaron a cumplir con este primer gran paso, ya que con ellos compartí durante 5 años mi vida, y puede aprender algo de ellos de igual forma de que ellos aprendieron algo de mí, de igual forma me ayudaron durante todos estos años en especial Camilo, Alejandra y Catherine, a desempeñarme académicamente y lo más importante a como a ser una mejor persona que es lo que en realidad importa en la vida, que es estar acompañado de sus seres queridos.

Finalmente, y en especial a mi abuela que fue y seguirá siendo la persona más importante en mi vida, y de seguro se sentiría orgullosa de que su nieto haya conseguido superar esta etapa de su vida.

**Andrés Camilo Gutiérrez Carvajal**

## **DEDICATORIA**

En primer lugar, a Dios por haberme dado la oportunidad de estudiar y sacar adelante uno de los principales objetivos que me he trazado en mi vida, el de ser profesional de una carrera tan importante como lo es esta.

En segundo lugar, a mi papá que sin su paciencia y sacrificio no estaría donde estoy hoy en día, que me ha acompañado, apoyado y aconsejado en los momentos de duda, y así mismo se ha alegrado en cada momento de felicidad y júbilo. También he de dedicar este primer gran paso en mi vida a mi abuelo, quién fue mi más grande apoyo y ejemplo para convertirme en la persona que soy hoy en día, sé que se alegrará más que nadie de este logro que estoy alcanzando y que me acompañará en toda mi vida profesional, así como lo ha hecho hasta el momento. A mi mamá, a mi tía, a mis tíos, a mis abuelos, y a cada uno de mis familiares porque sin ellos esto no sería posible, les quiero dedicar este primer triunfo, del cual estoy seguro estarán orgullosos.

A mis amigos, con los que tuve la fortuna de compartir a lo largo de estos 5 años de vida universitaria, los cuales fueron más fáciles de llevar gracias a ellos, porque a pesar de la distancia con mi familia ellos me hicieron sentir como en casa en una ciudad que era ajena para mí, y al mismo tiempo, me ayudaron a crecer como persona y como profesional. De forma especial a Felipe y a Andrés, dos grandes amigos que me dejó la universidad, por su apoyo y gran compromiso en etapas importantes de la vida universitaria.

Finalmente, a todos mis compañeros y profesores que de alguna manera me ayudaron con sus consejos y enseñanzas contribuyeron a que finalmente pueda decir que soy ingeniero.

**Camilo Andrés Santana Otálora.**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, a nuestras familias y a nuestros padres por brindarnos la oportunidad de cursar y aprobar esta opción profesional, la cual fue una etapa académica llena de aprendizaje, experiencia y diversión. Gracias por hacer tantos sacrificios para darnos la oportunidad de estudiar lo que nosotros escogimos, algo que no mucha gente tiene la oportunidad.

En segunda medida también a nuestras acompañantes en este largo y fructífero camino: a la microbióloga Adriana Páez por su interés, ayuda y apoyo en todo momento para que el desarrollo de este proyecto se realizara de la mejor manera; a la ingeniera Andrea Lache, por sus consejos y acompañamiento en la selección del tema, en la documentación y con todo lo relacionado con la redacción y elaboración de este documento.

<b>CONTENIDO</b>		<b>pág</b>
<b>GLOSARIO</b>		<b>19</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>		<b>22</b>
<b>OBJETIVOS</b>		<b>24</b>
<b>1. GENERALIDADES TEÓRICAS</b>		<b>25</b>
<b>1.1 ENERGÍA</b>		<b>25</b>
1.1.1	Energía mecánica.	25
1.1.2	Energía térmica.	25
1.1.3	Energía nuclear.	25
1.1.4	Energía radiante.	25
1.1.5	Energía química.	26
1.1.6	Energía eléctrica.	26
<b>1.2 PILAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (PCM)</b>		<b>26</b>
1.2.1	Arquitectura y funcionamiento de una PCM.	27
1.2.2	Materiales comúnmente utilizados en los electrodos.	28
1.2.3	Microorganismos utilizados en las PCM.	28
<b>1.3 LA CÉLULA.</b>		<b>30</b>
1.3.1	Célula procariota.	30
1.3.2	Microorganismos electrogénicos.	31
<b>1.4 ENERGÍA EN MICROORGANISMOS</b>		<b>31</b>
1.4.1	Óxido – Reducción.	32
1.4.2	Potenciales de reducción.	33
1.4.3	Transportadores de electrones.	35
<b>1.5 CRECIMIENTO MICROBIANO</b>		<b>36</b>
1.5.1	Condiciones de crecimiento.	36
1.5.1.1	Factores físicos.	36
1.5.1.2	Factores químicos.	37
<b>1.6 TRATAMIENTO DE AGUAS</b>		<b>38</b>
1.6.1	Tipos de sistemas de tratamiento para aguas residuales.	38
1.6.1.1	Tipo de proceso.	38
1.6.1.2	Grado de tratamiento.	39
<b>2. METODOLOGÍA</b>		<b>41</b>
<b>2.1 DIAGNÓSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS Y RECUENTO EN PLACA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AGUA RESIDUAL</b>		<b>41</b>
2.1.1	Diagnóstico de las propiedades características fisicoquímicas.	41
2.1.1.1	pH.	41

2.1.1.2	Demanda química de oxígeno (DQO).	42
2.1.1.3	Sólidos totales.	42
2.1.1.4	Sólidos suspendidos totales.	42
2.1.1.5	Conductividad.	42
2.1.2	Recuento microbiológico.	43
2.1.2.1	Recuento en placa.	43
<b>2.2 ESPECIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN ADECUADAS PARA DETERMINAR EL EXPERIMENTO QUE PRESENTE UNA MAYOR EFICIENCIA EN LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA</b>		<b>43</b>
2.2.1	Selección del diseño de experimentos.	43
2.2.2	Selección del microorganismo de la cámara anódica.	45
2.2.3	Montaje de la PCM.	46
2.2.4	Elaboración del puente salino.	48
2.2.5	Puesta en operación de la PCM, según lo establecido en el diseño experimental.	49
2.2.6	Parámetros a tener en cuenta en la operación de la PCM.	49
2.2.7	Toma de los datos obtenidos de la producción de energía para determinar a qué condiciones se dio la mejor producción.	50
2.2.8	Evaluación de la producción de energía.	50
<b>2.3 MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y DISMINUCIÓN DE DQO DEL EXPERIMENTO QUE MEJOR SE ADAPTE A LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN</b>		<b>52</b>
2.3.1	Selección de un modelo estadístico (ANOVA) para el análisis estadístico.	
2.3.2	Determinación del DQO al final de la experimentación.	52
<b>3. ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>		<b>53</b>
<b>3.1 DIAGNÓSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL AGUA RESIDUAL NECESARIAS</b>		<b>53</b>
3.1.1	pH: acidez o alcalinidad del agua.	54
3.1.2	Demanda química de oxígeno (DQO)	55
3.1.3	Sólidos totales.	55
3.1.4	Sólidos suspendidos totales.	56
3.1.5	Conductividad.	56
3.1.6	Recuento microbiológico	56
<b>3.2 ESPECIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN ADECUADAS PARA DETERMINAR EL EXPERIMENTO QUE PRESENTE UNA MAYOR EFICIENCIA EN LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA</b>		<b>58</b>
3.2.1	Ejecución del diseño de experimentos.	58
3.2.1.1	Corridas experimentales para el sustrato con cepas nativas, <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	59
3.2.2	Selección de las pruebas con mayor eficiencia en generación de energía	66

3.2.2.1	Análisis de diseño Anova.	66
<b>3.3</b>	<b>MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA Y DISMINUCIÓN DE</b>	
	<b>DQO DEL EXPERIMENTO QUE MEJOR SE ADAPTE A LAS CONDICIONES</b>	
	<b>DE OPERACIÓN.</b>	<b>73</b>
3.3.1	Uso de modelo estadístico anova para determinar el si el tipo de cepa afecta la producción de energía.	73
3.3.2	Selección del experimento con mayor producción de energía.	78
3.3.3	Disminución de DQO.	79
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>81</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>82</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>87</b>

## LISTA TABLAS

	pág
<b>Tabla 1.</b> Microorganismos utilizados en PCM's	29
<b>Tabla 2.</b> Resultados del análisis de las propiedades del agua residual.	54
<b>Tabla 3.</b> Datos obtenidos de las pruebas realizadas con cepas nativas del sustrato (Cepas nativas)	60
<b>Tabla 4.</b> Datos obtenidos a partir de las pruebas realizadas con <i>Escherichia coli</i> .	62
<b>Tabla 5.</b> Datos obtenidos a partir de las pruebas realizadas con <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	62
<b>Tabla 6.</b> Análisis Anova para el sustrato sin inóculo externo.	67
<b>Tabla 7.</b> Tabla de datos para análisis Anova (Cepas nativas).	67
<b>Tabla 8.</b> Análisis Anova para el sustrato con <i>Escherichia coli</i> .	68
<b>Tabla 9.</b> Tabla de datos para análisis Anova ( <i>E. coli</i> ).	68
<b>Tabla 10.</b> Tabla de análisis Anova para el sustrato con <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	68
<b>Tabla 11.</b> Tabla de datos para análisis Anova ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	68
<b>Tabla 12.</b> Valores promedio del cálculo de energía para el sustrato sin inóculos externos.	71
<b>Tabla 13.</b> Resultados de las pruebas de repetición.	73
<b>Tabla 14.</b> Tabla de análisis Anova para las repeticiones experimentales.	77
<b>Tabla 15.</b> Tabla de datos para análisis Anova (Repeticiones).	77
<b>Tabla 16.</b> Tabla resultados de la Demanda química de oxígeno (DQO)	79
<b>Tabla 17.</b> Tabla reducción de la Demanda química de oxígeno (DQO) por medio de la acción bacteriana de la <i>Pseudomona aeruginosa</i> .	80

## LISTA GRÁFICOS

	pág
<b>Gráfica 1.</b> Voltaje vs tiempo para el sustrato con presencia de microorganismos nativos.	63
<b>Gráfica 2.</b> Voltaje vs tiempo para el sustrato con inóculo de <i>Escherichia coli</i> .	63
<b>Gráfica 3.</b> Voltaje vs tiempo para el sustrato con inóculo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	64
<b>Gráfica 4.</b> Voltaje vs tiempo para las repeticiones experimentales del sustrato con microorganismos nativos, <i>E. coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	74

## LISTA DE FIGURAS

	pág
<b>Figura 1.</b> Representación gráfica de la oxidación biológica.	33
<b>Figura 2.</b> Escala Redox: la escala representa el rango de potenciales de reducción posibles para los diversos pares de óxido-reducción en la naturaleza	34
<b>Figura 3.</b> Esquema de una reacción de óxido-reducción que implica las formas oxidadas y reducidas de la coenzima nicotinamida adenin dinucleótido, $\text{NAD}^+$ y $\text{NADH}$	35
<b>Figura 4.</b> Diseño de experimentos	45
<b>Figura 5.</b> Esquema de encapsulación de la <i>Escherichia coli</i> .	76
<b>Figura 6.</b> Zonas de rechazo y aceptación para hipótesis planteadas.	78

## LISTA DE IMÁGENES

	pág
<b>Imagen 1.</b> Pila de combustible microbiana a usar en la experimentación.	47
<b>Imagen 2.</b> Siembra en superficie para las cepas nativas del sustrato con las diluciones realizadas	57
<b>Imagen 3.</b> Siembra en superficie para las cepas nativas	58
<b>Imagen 4.</b> Montaje de la pila de combustible microbiana al inicio de las pruebas.	59
<b>Imagen 5.</b> Montaje del dispositivo antes de la experimentación.	60

## LISTA DE ECUACIONES

	pág
<b>Ecuación 1.</b> Voltaje o tensión eléctrica.	50
<b>Ecuación 2.</b> Resistencia eléctrica.	50
<b>Ecuación 3.</b> Intensidad eléctrica o corriente eléctrica.	51
<b>Ecuación 4.</b> Potencia generada	51
<b>Ecuación 5.</b> Densidad de potencia	51
<b>Ecuación 6.</b> Cálculo de la resistencia.	61
<b>Ecuación 7.</b> Densidad de corriente.	71

## LISTA ANEXOS

	pág
<b>ANEXO A.</b> Resultados de las pruebas experimentales para el sustrato con microorganismos nativos y azul de metileno	88
<b>ANEXO B.</b> Resultados de las pruebas experimentales para la <i>Escherichia coli</i> y azul de metileno.	91
<b>ANEXO C.</b> Resultados de las pruebas experimentales para las <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y azul de metileno.	94
<b>ANEXO D.</b> Resultados de las réplicas experimentales para el sustrato con microorganismos nativos sin mediador, <i>Escherichia coli</i> con azul de metileno 0,0003M y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> con azul de metileno 0,0001M	97
<b>ANEXO E.</b> Diagrama de montaje de PCM y preparación de inóculo	100
<b>ANEXO F.</b> Técnica de diluciones seriadas y recuento en placa	101
<b>ANEXO G.</b> Resultados del análisis de propiedades fisicoquímicas	102
<b>ANEXO H.</b> Resultado de análisis de DQO.	103

## LISTA SÍMBOLOS

A: intensidad, la cual es medida en amperios.

g: masa, medida en gramos.

M: indicador de concentración, expresado en molaridad.

mL: volumen, expresado en mililitros.

NAD: nicotinamida adenina dinucleótido.

NADH: nicotinamida adenina dinucleótido de hidrógeno.

NADP: nicotinamida adenina dinucleótido de hidrógeno.

PCM: pilas de combustible microbianas.

UFC: unidades formadoras de colonia.

V: Voltaje, medido en voltios.

## GLOSARIO

**AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL:** las aguas residuales industriales son las que proceden de cualquier actividad industrial en cuyo proceso de producción, transformación o manipulación se utilice el agua, incluyéndose los líquidos residuales, aguas de proceso y aguas de drenaje.

**ATP:** adenosín trifosfato o trifosfato de adenosina, un nucleótido que resulta imprescindible para que las células obtengan energía.

**BACTERIA:** se trata de un microorganismo unicelular procarionte que puede provocar enfermedades, fermentaciones o putrefacción en los seres vivos o materias orgánicas.

**BIORREMEDIACIÓN:** se define como el empleo de organismos vivos para eliminar o neutralizar contaminantes del suelo o del agua.

**BIOTECNOLOGÍA:** se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos.

**DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO):** es un parámetro que mide la cantidad de sustancias susceptibles de ser oxidadas por medios químicos que hay disueltas o en suspensión en una muestra líquida. Se utiliza para medir el grado de contaminación y se expresa en miligramos de oxígeno diatómico por litro (mg O<sub>2</sub>/l).

**ENERGÍA ELÉCTRICA:** es una fuente de energía renovable que se obtiene mediante el movimiento de cargas eléctricas (electrones) que se produce en el interior de materiales conductores (por ejemplo, cables metálicos como el cobre).

**ENERGÍA QUÍMICA:** es el potencial de una sustancia química para experimentar una transformación a través de una reacción química o, de transformarse en otras sustancias químicas.

**ENERGÍA RENOVABLE:** energía que utiliza los recursos inagotables de la naturaleza, como la biomasa, las radiaciones solares o el viento.

**FACTOR DE MCFARLAND:** es un indicador de la concentración de microorganismos, el cual se aprecia por la comparación del medio analizado con un medio patrón con concentración de microorganismos conocida.

**MEDIADOR:** son sustancias con propiedades de óxido reducción que actúan como intermediarios entre la membrana celular y el ánodo.

**MICROORGANISMOS:** es la forma de vida más básica, que debido a su tamaño únicamente pueden ser apreciados a través de un microscopio. En este extenso grupo podemos incluir a los virus, las bacterias, levaduras y mohos que pululan por el planeta tierra.

**PILA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA (PCM):** es un dispositivo electroquímico en el cual se convierte energía química en energía eléctrica por la acción biocatalítica de microorganismos que oxidan sustratos tales como glucosa, acetatos o materia orgánica (aguas residuales).

**REACCIÓN DE ÓXIDO REDUCCIÓN:** son aquellas reacciones de tipo químico que llevan a la transferencia de electrones entre reactivos, alterando el estado de oxidación. De este modo, un elemento libera electrones que otro elemento acepta.

**SUSTRATO:** especie química que se considera como objeto de la acción de uno o más reactivos.

## RESUMEN

El presente proyecto de investigación se centra en la evaluación de la producción de energía eléctrica con un agua residual proveniente de la industria colombiana, que va a ser utilizada como sustrato en una pila de combustible microbiana, debido a que por las características propias del proceso presenta las condiciones adecuadas para que microorganismos, que poseen la capacidad de generar corriente eléctrica mediante la degradación de la materia orgánica por medio de sus rutas metabólicas, produzcan energía eléctrica en el interior de una PCM y al mismo tiempo exista una reducción de la carga contaminante presente en las aguas residuales utilizadas como sustrato. En primer lugar, de acuerdo a la metodología trazada para la investigación, se establecieron las propiedades fisicoquímicas más relevantes a evaluar en el agua residual para que esta presentara condiciones favorables para el crecimiento de los microorganismos, las cuales son: pH, demanda química de oxígeno, sólidos totales, sólidos suspendidos totales y la conductividad del agua, de igual manera, establecer si había la presencia de microorganismos nativos.

Siguiendo la línea de investigación del grupo en energías alternativas, se hará uso de las bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, así como los microorganismos nativos que provengan en el agua residual de la industria de cerveza artesanal. Así mismo, se evaluó la reducción de la carga contaminante en el sustrato por parte de los microorganismos, haciendo uso de sustancias facilitadoras en la transferencia de electrones, conocidos como mediadores con concentraciones probadas de azul de metileno en concentraciones de 0,0001M y 0,0003M. Con base en la experimentación que fue llevada a cabo para el desarrollo de este proyecto, se evidenció que los tres tipos de microorganismos produjeron energía eléctrica, obteniendo valores de voltaje promedio para las pruebas de repetición de 442,504 mV para el sustrato con presencia de cepas nativas, 511,704 mV para el sustrato con inóculo de *Escherichia coli* y finalmente, 659,992 mV para el sustrato con inóculo de *Pseudomonas aeruginosa*, lo anterior se debe a que ciertos microorganismos presentaron mayor afinidad hacia la composición del sustrato o por otros factores que pudieron haber influido en el comportamiento de las cepas durante la experimentación. De igual manera, a la corrida experimental que se obtuvo mayor generación de energía promedio, se le realizó la prueba de determinación de DQO, la cual determinó que existió una reducción del 8,36% con respecto a la carga orgánica original en el sustrato.

**PALABRAS CLAVE:** agua residual de la industria de cervecería artesanal Celda de combustible microbiana, mediador, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, DQO, mediadores, crecimiento microbiano, transferencia de electrones.

## INTRODUCCIÓN

El planeta enfrenta hoy una grave problemática asociada a la alteración del equilibrio en los ecosistemas ocasionada por las actividades humanas. Prueba de ello es el aumento constante de la temperatura media del sistema climático terrestre (atmósfera y cuerpos oceánicos), que ha ido cambiando exponencialmente desde mediados del siglo XX<sup>1</sup>. Una de las actividades cotidianas y permanentes realizadas por el ser humano tanto individual como colectivamente que más ha contaminado el ambiente, es la descarga de aguas contaminadas y derivadas de procesos, a los cuerpos hídricos (ríos, lagos, lagunas, etc.) sin haber sido sometidas previamente a procesos de purificación, cuya descontaminación no es suficiente para evitar que los efluentes afecten el equilibrio del ecosistema<sup>2</sup>.

Son múltiples los estudios e investigaciones al respecto, especialmente acerca de tecnologías de las técnicas que contribuyan al tratamiento de aguas. Es el caso de la pila de combustible microbiana (PCM) que contribuye al proceso de tratamiento microbiano<sup>3</sup>, favoreciendo la remoción del material orgánico contaminante presente en el agua residual, y a la vez, beneficia adicionalmente la producción de energía eléctrica, aunque sea en pequeñas cantidades.

Las pilas de combustible microbianas son una tecnología reciente, por lo que se han estudiado aspectos como la configuración, material y tamaño para las cámaras, la composición del puente salino, la naturaleza de los microorganismos que poseen la capacidad de producir energía<sup>4</sup>, y el material de los electrodos que van a ser utilizados<sup>5</sup>. Así mismo, dependiendo de los microorganismos se debe realizar un control de la temperatura y determinar si el agua posee la carga nutricional necesaria para su óptimo crecimiento.

Igualmente se ha avanzado en la búsqueda de los mecanismos necesarios para facilitar la producción de energía eléctrica, como es el uso de sustancias químicas conocidas como mediadores para que aquellos microorganismos que no poseen la

---

<sup>1</sup> DUQUE ESCOBAR, Gonzalo. Calentamiento global en Colombia. [0]: Bogotá, Colombia: 2011.

<sup>2</sup> SEGURA TRIANA, Luis Eduardo. Estudio de antecedentes sobre la contaminación hídrica en Colombia. Escuela Superior de Administración Pública, 2007. p. 28-30.

<sup>3</sup> HE, Li, et al. Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. En: RENEWABLE AND SUSTAINABLE ENERGY REVIEWS. May. vol. 71, p. 388-403

<sup>4</sup> ZHUWEI, Du. HAORAN, Li. TINGYUE, Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnology Advances 25. (May 2007); p. 464-482

<sup>5</sup> HUSSEIN, I.; MANSOUR, A. and BAHGAT, M. Metal electrodes and organic enrichment in doubled and single chambered Microbial Fuel Cell (MFC) for electricity generation. En: J BIOCHEM TECH. Jun 25, p. 554-56

facultad de producirlos puedan hacerlo; su función es promover la transferencia de electrones desde el microorganismo al electrodo, mediante el suministro controlado y preciso de los químicos, pues si añade en exceso, actuaran de forma contraria a la deseada, es decir, inhibirán la actividad de los microorganismos, reduciendo la tasa de producción energética en la PCM<sup>6</sup>.

En el país existen hoy, 155 cervecerías artesanales<sup>7</sup> en operación continua, con una producción aproximada de 88.300 hectolitros por año<sup>8</sup>, lo que indica un gran volumen de vertimientos de aguas residuales. Muchas de ellas sin un esquema de tratamiento establecido para estas, aspecto que indica la oportunidad y pertinencia del desarrollo de esta investigación, ya que por sus características tanto en el proceso de elaboración de las maltas como las materias primas utilizadas en este por ser buena fuente de carbono y nitrógeno, nutrientes esenciales para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos.

En este proyecto de investigación se dará continuidad a proyectos anteriores realizados en el grupo de investigación en energías alternativas, en los que se han usado de los microorganismos *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>9</sup>, con las concentraciones de mediador previamente establecidas como favorables, pero haciendo uso del agua residual proveniente de la industria cervecera artesanal de la ciudad de Bogotá D.C., Colombia, con el fin de evaluar la producción de energía eléctrica en la PCM desarrollada por el grupo de investigación, en condiciones propias del proceso y determinar si el agua residual puede ser utilizada como sustrato.

---

<sup>6</sup> 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. May.vol. 25, p. 42-50

<sup>7</sup> PLANO DANAIS, Ricardo. Directorio Cerveceros Colombiano. [0]:2018.

<sup>8</sup> Ibid.

<sup>9</sup> MEDINA MESA, Sergio Andrés and ZAPATA ROJAS, María Julieta. Evaluación de la producción de energía eléctrica y disminución de DQO en agua residual sintética mediante Celdas de Combustible Microbianas a escala de laboratorio. Universidad de América, 2017.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la producción de energía eléctrica y disminución de DQO en una pila de combustible microbiana, a partir aguas residuales de la industria de cerveza artesanal a escala de laboratorio, empleando *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Diagnosticar las características fisicoquímicas del agua residual necesarias, para ser empleada como sustrato y la carga microbiana presente en ella.
- Especificar las condiciones de operación adecuadas para determinar el experimento con la mayor eficiencia en generación de energía eléctrica.
- Medir la producción de energía y disminución de DQO del experimento que mejor se adapte a las condiciones de operación, usando agua residual de la industria cervecera artesanal como sustrato.

## 1. GENERALIDADES TEÓRICAS

El presente proyecto de investigación se encuentra enfocado hacia la producción de energía eléctrica mediante el uso de una pila de combustible microbiana (PCM), siendo necesario, abordar algunos conceptos generales que permitan dar un fundamento de cómo funciona este tipo de dispositivo.

### 1.1 ENERGÍA

Es la capacidad que posee un cuerpo o sistema para realizar un trabajo, un desplazamiento o una transformación. Esta transformación se puede realizar mediante movimientos, calentamiento o perturbaciones en dicho cuerpo. La energía puede manifestarse de varias formas, donde las principales formas de energía son<sup>10</sup>:

**1.1.1 Energía mecánica.** Formada por la suma de la energía cinética, asociada al movimiento, y la potencial, la cual es asociada a la fuerza de gravedad.<sup>11</sup>

**1.1.2 Energía térmica.** Está relacionada al movimiento que generan las moléculas que forman la materia, donde a un mayor calentamiento, mayor es el movimiento de las moléculas y, por ende, mayor es la energía generada<sup>12</sup>.

**1.1.3 Energía nuclear.** Es la energía almacenada en el núcleo de los átomos, que se libera en las reacciones de fisión (división) y/o fusión (unión) de los átomos involucrados en la reacción<sup>13</sup>

**1.1.4 Energía radiante.** Es la que se encuentra presente en las ondas electromagnéticas, como la luz, los rayos ultravioletas e infrarrojos, entre otros. Este tipo de ondas son de gran versatilidad debido a que pueden ser transmitidas sin necesidad de soporte material alguno, en el vacío, como es el caso de las ondas electromagnéticas emitidas por las reacciones nucleares que se dan en la superficie solar<sup>14</sup>.

---

<sup>10</sup> SERWAY, Raymond A.; JEWETT, John W. and CERVANTES GONZÁLEZ, Sergio R. Física para ciencias e ingeniería. Vol. 2 (9a. ed.). México, D.F: CENGAGE Learning, 2015. 752-756 p.

<sup>11</sup> Ibid.

<sup>12</sup> Ibid.

<sup>13</sup> Ibid.

<sup>14</sup> Ibid.

**1.1.5 Energía química.** Esta energía está relacionada o asociada a las reacciones químicas, ya sean reacciones de combustión, como por ejemplo al quemar un carbón, se extrae la energía que está contenida en un átomo a otro; o la energía que se produce en las rutas metabólicas de los organismos vivos, donde se generan transformaciones químicas como por ejemplo la digestión y la respiración, con el fin de proveer la energía necesaria a la célula para cumplir con funciones vitales<sup>15</sup>.

**1.1.6 Energía eléctrica.** Es la energía más utilizada en la actualidad a nivel industrial y doméstico, debido al sencillo control que se puede ejercer sobre esta, su fácil transporte y limpia transformación de energía a trabajo, la hacen el tipo de energía “casi” perfecta, ya que su almacenamiento es complejo<sup>16</sup>.

En términos más técnicos, este tipo de energía se explica como el flujo de electrones a través de materiales conductores<sup>17</sup>.

Todo tipo de energía se clasifica en dos tipos:

- **Energía primaria:** es toda aquella energía que no requiere ser transformada, es decir, toda energía que se encuentra disponible en la naturaleza como carbón, gas, etc.
- **Energía secundaria:** es toda energía que surge a través de la transformación de las energías primarias como la energía eléctrica.

La finalidad de este proyecto es la producción de energía eléctrica a través de un dispositivo conocido como pila de combustible microbiana, por lo cual es necesario dar una idea generalizada de cómo funciona este tipo de tecnología.

## **1.2 PILAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (PCM)**

Una pila de combustible microbiana es un dispositivo en donde energía química se transforma en energía eléctrica, gracias a la acción biocatalítica de microorganismos<sup>18</sup>, los cuales, al degradar la materia orgánica mediante acción

---

<sup>15</sup> SERWAY, Raymond A.; JEWETT, John W. and CERVANTES GONZÁLEZ, Sergio R. Física para ciencias e ingeniería. Vol. 2 (9a. ed.). México, D.F: CENGAGE Learning, 2015. 752-756 p

<sup>16</sup> Ibid

<sup>17</sup> Ibid.

<sup>18</sup> HERNANDEZ-FERNANDEZ, Francisco José, et al. Montaje y estudio de una pila de combustible microbiana para la producción de electricidad con depuración simultánea de aguas residuales. En: II JORNADA SOBRE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS Y LAS INGENIERÍAS. p. 1-9.

enzimática producen electrones por medio de la ruta metabólica del microorganismo, liberando los electrones desde el interior de la célula al exterior por acción de mediadores, y propiciando así la producción de energía eléctrica por el paso de los electrones por el medio conductivo.<sup>19</sup>

A medida que se ha investigado y profundizado en este tipo de dispositivos y en las formas de transporte de los electrones producidos en el interior de la célula, se ha encontrado que los microorganismos capaces de generar sus propios mediadores y aprovechar la presencia de mediadores endógenos y exógenos que faciliten la transferencia de electrones.<sup>20</sup> Los microorganismos que cumplen autónomamente con el transporte de electrones son de amplio uso en la producción de energía y son frecuentemente usados en las pilas de combustible microbianas, debido a que se evita el uso de sustancias químicas,<sup>21</sup> ya que al adicionar un mediador sintético la pila de combustible se deja el estado ideal ya que estas sustancias pueden ocasionar cambios en el metabolismo de los microorganismos<sup>22</sup>

**1.2.1 Arquitectura y funcionamiento de una PCM.** Se pueden hallar diversos diseños para una pila de combustible microbiana, cada uno de ellos con variantes que influyen de manera directa en el rendimiento y funcionamiento del dispositivo<sup>23</sup>, siendo el más desarrollado e implementado en las investigaciones la pila de combustible microbiana que posee dos cámaras separadas (unidas por un puente salino y un cable conductor). Esta variante consta de una cámara que se encuentra bajo condiciones anóxicas (cámara anódica), buscando que dentro de esta cámara de trabajo se contenga la mínima concentración de oxígeno posible para evitar que pueda ser inhibido el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, así como la producción de energía eléctrica, lo cual finalmente se verá reflejado en la baja tasa de disminución de DQO del agua a tratar o a ser empleada como sustrato. El material empleado como ánodo en esta cámara cumple la función de aceptor de electrones final, por este motivo, es tan importante que no exista oxígeno, debido a que este también actúa como aceptor de electrones. En la zona anódica es donde

---

<sup>19</sup> HUSSEIN, I.; MANSOUR, A. and BAHGAT, M. Metal electrodes and organic enrichment in doubled and single chambered Microbial Fuel Cell (MFC) for electricity generation. En: J BIOCHEM TECH. Jun 25, p. 554-560.

<sup>20</sup> PINEDA MARÍN, Ana del Pilar and ROSAS TAFUR, Martha Lizeth. Estado del arte en celdas de combustible microbianas (CCM) para producción de bioenergía. [1]

<sup>21</sup> LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells [en línea]. John Wiley & Sons, Inc. Pennsylvania. Wiley-interscience, 2007.

<sup>22</sup> MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Competition between E. coli and Shewanella sp. for electricity generation in air cathode MFC in presence of methylene blue as artificial mediator. En: ENVIRONMENTAL PROGRESS & SUSTAINABLE ENERGY. Mar. vol. 34, no. 4, p. 1097-1105.

<sup>23</sup> LI, He. Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. (December 2016).

se realizará la siembra de las diferentes cepas de microorganismos<sup>24</sup> que van a ser objeto de estudio para este proyecto de investigación. Hablando ya de la zona catódica, se trata de una cámara donde se dará lugar a la producción y almacenamiento del agua limpia (tratada) que resulta de las reacciones de reducción, zona donde también se encontrará un material metálico que actuará como cátodo<sup>25</sup>, para esta cámara no existen condiciones especiales de oxígeno presente

**1.2.2 Materiales comúnmente utilizados en los electrodos.** Como se ha mencionado con anterioridad, se ha realizado investigación en diversos aspectos relacionados a una *PCM*, un aspecto que tiene importancia y que afecta de forma directa el rendimiento del dispositivo es el material de cada electrodo, buscando que estos sean económicos y a su vez representen un rendimiento óptimo en la producción de energía, captación de electrones, entre otros. En este orden de ideas existe una amplia gama de materiales que han sido estudiados y probados para que se desempeñen como el electrodo anódico, como consecuencia de que este electrodo es el que presenta mayor desgaste debido a las reacciones de oxidación que se dan en este y está expuesto a condiciones que pueden ser nocivas para el material dado. Como resultado de dichas investigaciones se ha determinado que los materiales compuestos principalmente por carbono y sus derivados presentan la mayor bio-compatibilidad con los microorganismos a emplear en la pila de combustible microbiana,<sup>26</sup> así como una estabilidad química adecuada y el valor de conductividad requerido para que exista una buena transferencia de electrones, unido a que estos materiales son fáciles de obtener y representan un costo bajo en los planteamientos financieros, características que hacen que sean los más utilizados para su implementación en *PCM*.

**1.2.3 Microorganismos utilizados en las PCM.** Como es comúnmente conocido, existe una amplia variedad de microorganismos que se pueden encontrar en el planeta, a su vez, también existe una variedad significativa de microorganismos que poseen la capacidad de realizar la transferencia de electrones obtenidos por los procesos metabólicos resultantes de la degradación de compuestos orgánicos hacia un material metálico que esté actuando como ánodo<sup>27</sup>. La siguiente figura lista una variedad de microorganismos que han sido utilizados previamente en *PCM* como

---

<sup>24</sup> ZHUWEI, Du. HAORAN, Li. TINGYUE, Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: *Biotechnology Advances* 25. (May 2007); p. 464-482.

<sup>25</sup> Ibid.

<sup>26</sup> Ibid.

<sup>27</sup> Ibid.

agentes degradadores de materia orgánica, así mismo, lista los sustratos idóneos para su óptimo crecimiento dentro de un biorreactor como el que va a ser utilizado

**Tabla 1.** Microorganismos utilizados en PCM's

Microorganismo	Sustrato
<i>Actinobacillus succinogenes</i>	Glucosa
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Acetato
<i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucosa
<i>Clostridium beijerinckii</i>	Almidón, glucosa, lactato, melaza
<i>Clostridium butyricum</i>	Almidón, glucosa, lactato, melaza
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Sacarosa
<i>Erwinia dissolven</i>	Glucosa
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa, sacarosa
<i>Geobacter metallireducens</i>	Acetato
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetato
<i>Gluconobacter oxydans</i>	Glucosa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Glucosa
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Glucosa
<i>Proteus mirabilis</i>	Glucosa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucosa
<i>Rhodoferrax ferrireducens</i>	Glucosa, sacarosa, maltosa, xilosa.
<i>Shewanella oneidensis</i>	Lactato
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Lactato, piruvato, acetato, glucosa
<i>Streptococcus lactis</i>	Glucosa

Fuente: ZHUWEI, Du. HAORAN, Li. TINGYUE, Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnology Advances 25. (May 2007); p. 464-482.

Cada microorganismo posee un rango óptimo de temperatura, pH, presión, entre otros factores físicos que es de vital importancia controlar, con el fin de que estos tengan una fase de adaptación y crecimiento rápida y adecuada, ya que si no se cumple alguna de los requerimientos fundamentales (temperatura, carga orgánica, pH) se dará una cinética de crecimiento muy pobre, o directamente no existirá, siendo nula la disminución de DQO del agua residual y la producción de energía asociada a ella.

A continuación, se realizará una breve descripción de los aspectos más relevantes con respecto a la célula.

### 1.3 LA CÉLULA

La célula es la unidad fundamental de la vida, es un organismo complejo y variado que posee la capacidad de auto replicarse, también lleva a cabo múltiples tareas en los organismos pluricelulares, realizando estas tareas bajo las leyes de la química y la física.<sup>28</sup> La célula en sí, es una entidad aislada de las otras por medio de una membrana; las células a su vez poseen una pared celular exterior a la membrana. Cada célula contiene gran variedad de estructuras químicas y componentes subcelulares.<sup>29</sup>

Las células se clasifican en dos clases principales: las procariotas, que son aquellos microorganismos, como las bacterias, que carecen de envoltura nuclear; y las eucariotas, las cuales presentan un núcleo donde se encuentra contenido el material genético, el cual está separado del citoplasma.<sup>30</sup>

**1.3.1 Célula procariota.** Son células con una estructura interna sencilla, carecen de orgánulos rodeados por membrana; estas están directamente acopladas a la transcripción y traducción en el citoplasma por consecuencia de que su material genético no está encerrado en un núcleo, como las eucariotas; por otro lado, la mayoría de las procariotas usan la membrana citoplasmática para producir energía.<sup>31</sup>

A su vez este tipo de células se dividen en dos grupos: las arqueobacterias y las bacterias. La mayoría de las células procariotas presentan forma esférica, de bastón o espiral, y están conformadas en su gran mayoría por pared celular, membrana plasmática, ribosomas, inclusiones y el nucleóide.<sup>32</sup>

En este proyecto se abordarán únicamente este tipo de células, ya que se emplearán las bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Del mismo modo, estos microorganismos poseen la capacidad de generar energía eléctrica, por tal motivo, son denominados microorganismos electrogénicos, cuya definición se encuentra a continuación.

---

<sup>28</sup> COOPER, Geoffrey. La célula; Sexta ed. España: MARBÁN, 2014.

<sup>29</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009.

<sup>30</sup> COOPER, op cit.

<sup>31</sup> MADIGAN, op cit.

<sup>32</sup> Ibid.

**1.3.2 Microorganismos electrogénicos.** Son células procariotas con la habilidad de transformar la energía química que generan por medio de sus rutas metabólicas a energía eléctrica. Además, estos microorganismos pueden dividirse en dos clases:

**1.3.2.1** Aquellos microorganismos que generan mediadores de óxido-reducción. Los mediadores son sustancias que son secretadas por la célula al medio en el que se encuentran, permitiendo así la transferencia de electrones que puedan interactuar con un electrodo y generar energía eléctrica.

**1.3.2.2** Aquellos microorganismos que interactúan con el electrodo con la necesidad de mediador<sup>33</sup>, pero dicha sustancia debe ser artificial debido a que no poseen la capacidad de generarlo.

Por excelencia, todo microorganismo posee la habilidad de obtener energía independientemente de su naturaleza, ya sea a partir de compuestos químicos (quimio-autótrofos) o de fuentes lumínicas (fotótrofos). Este a su vez, debe tener la capacidad de conservar parte de la energía generada como ATP.<sup>34</sup>

## **1.4 ENERGÍA EN MICROORGANISMOS**

Como se mencionó anteriormente, la energía se define como la capacidad que posee un cuerpo o sistema para realizar un trabajo. En la microbiología, la energía es medida en kilojulios (kJ), la cual es una unidad de energía calorífica, debido a las reacciones químicas que se dan en los microorganismos están acompañadas de cambios de energía en forma de calor.<sup>35</sup>

Como en toda reacción química hay pérdida de una porción de la energía generada en forma de calor, es necesario considerar la energía libre (que se representa como  $G$ ), la cual es definida como la energía liberada necesaria para realizar un trabajo. El cambio de energía libre que se genera en una reacción se expresa como  $\Delta G$ , donde al ser este valor menor a cero, se considera que la reacción ocurre espontáneamente, por consiguiente, la célula podrá almacenar energía en forma de ATP. A este tipo de reacciones se les denomina reacciones exergónicas. En cambio, si  $\Delta G$  es mayor a cero la reacción necesitará un suministro de energía para que esta ocurra, a este tipo se les denomina reacciones endergónicas.<sup>36</sup>

---

<sup>33</sup> NUÑEZ, Esteve. Bacterias productoras de energía. En: ACTUALIDAD SEM. Junio.

<sup>34</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009.

<sup>35</sup> Ibid.

<sup>36</sup> Ibid.

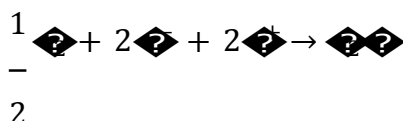
Desde el punto de vista del presente proyecto, los microorganismos que se emplearán son productores de energía por eso sólo ocurrirán las reacciones de tipo exergónicas, las cuales son reacciones de óxido reducción, las cuales son consideradas así porque la energía liberada por estas reacciones da como resultado generación de compuestos de alta energía como el ATP, por eso es necesario conocer como ocurren estas reacciones dentro de la célula.

**1.4.1 Óxido – Reducción.** En términos químicos, el proceso oxidativo se describe como la pérdida de uno o más electrones en una sustancia, mientras que el proceso de reducción es la ganancia de uno o más electrones por una sustancia.<sup>37</sup>

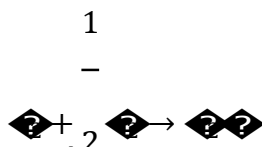
Las reacciones de óxido-reducción siempre se dan en pares, es decir, el hidrógeno tiene la capacidad de liberar electrones y protones y a su vez oxidarse; pero esto solo es la mitad de la reacción, debido a que, si se da una reacción de oxidación, esta viene acoplada a una reacción de reducción. Por ejemplo, la oxidación de H<sub>2</sub> se acopla a la reducción de otras sustancias muy diferentes como el O<sub>2</sub>. El anterior mecanismo se puede describir de la siguiente manera:



Para la que reacción ocurra, simultáneamente, debe darse una reducción de reducción acoplada.



De esta manera la oxidación del hidrógeno puede acoplarse a la reducción del oxígeno, dando lugar a la siguiente reacción:



Con esta reacción se puede saber cuál es la sustancia oxidada, en este caso, sería el hidrógeno que es el donador de electrones, y la sustancia reducida, que este ejemplo es el oxígeno el cual actúa aceptor de electrones.<sup>38</sup> Este mecanismo a nivel de la célula puede ser explicado de la siguiente manera:

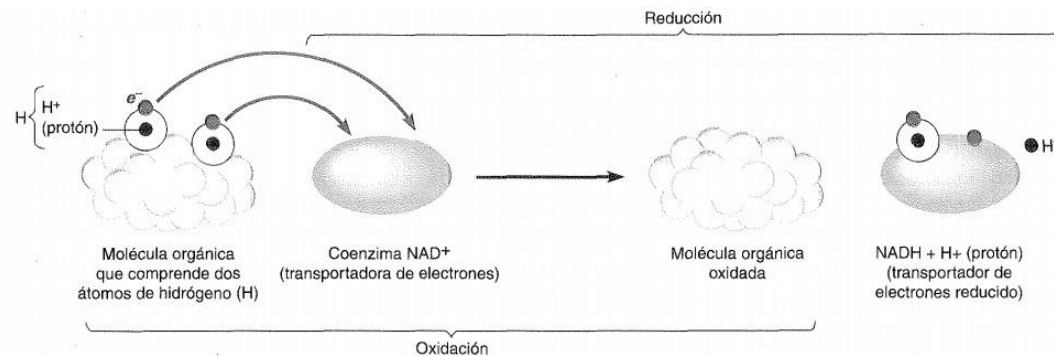
En una gran variedad de procesos de oxidación dentro de la célula los electrones y protones (iones de hidrógeno) son eliminados, lo cual es igual a eliminar átomos de hidrogeno, debido a que el hidrogeno está conformado por un electrón y un protón. Ya que la mayoría de oxidaciones que ocurren en los sistemas biológicos conllevan

<sup>37</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009.

<sup>38</sup> Ibid.

la eliminación de hidrogeno, se les puede conocer con el nombre de reacciones de deshidrogenación.<sup>39</sup>

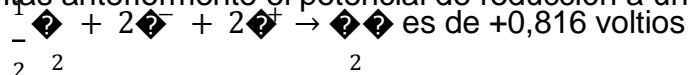
**Figura 1.** Representación gráfica de la oxidación biológica.



Fuente: TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

El proceso de oxidación o deshidrogenación podría ser descrito de la siguiente manera: al oxidarse una sustancia por consecuencia de la perdida de dos átomos de hidrogeno, se produce la reducción de una molécula denominada NAD+, la cual acepta dos electrones y un protón por parte de la sustancia que se está oxidando, dejando así libre en el medio un protón. Posteriormente el NAD+ se reduce a NADH, la cual es una molécula con la suficiente energía para producir ATP.<sup>40</sup>

**1.4.2 Potenciales de reducción.** Las sustancias que se oxidan o se reducen poseen una tendencia que varía según la naturaleza de esta, dicha tendencia se denomina potencial de reducción de la sustancia y es expresada como ( $E_0$ ), el cual se mide en voltios (V). Dichos potenciales de reducción se expresan para cada reacción parcial que corresponda a una reducción, a un pH de 7, esto se debe a que el citoplasma de varias células tiene un valor neutro de pH, por lo cual para las reacciones descritas anteriormente el potencial de reducción a un pH de 7:



Una manera sencilla de visualizar como se da la transferencia de electrones en los sistemas biológicos es mediante una escala, donde en dicha escala se representa

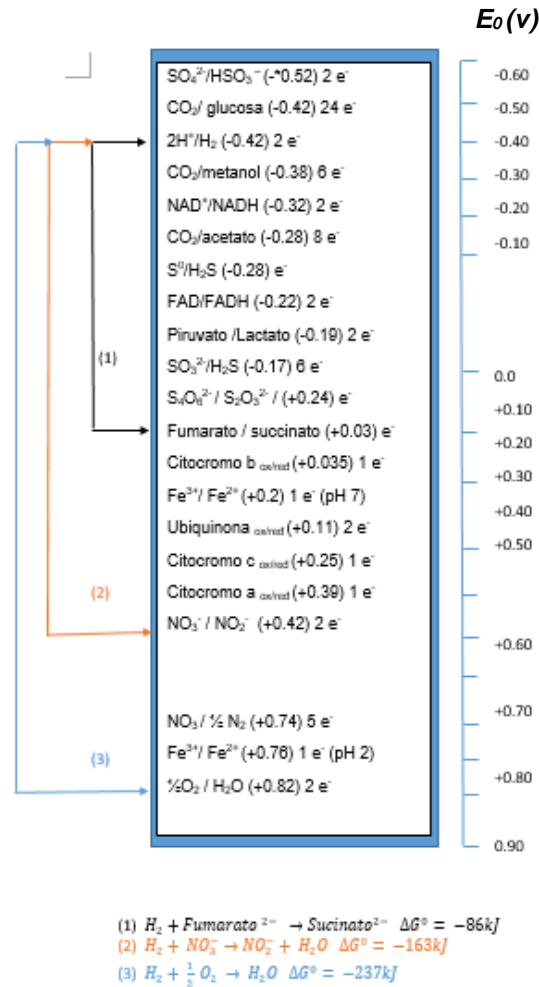
<sup>39</sup> TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

<sup>40</sup> Ibid.

<sup>41</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

los diferentes rangos posibles de potenciales de reducción que se dan en la naturaleza.<sup>42</sup>

**Figura 2.** Escala Redox: la escala representa el rango de potenciales de reducción posibles para los diversos pares de óxido-reducción en la naturaleza



Fuente: MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

Como se observa en la figura 3, los pares de óxido-reducción son ordenados desde los reductores más fuertes, que son aquellos que poseen potenciales de reducción con valores negativos, los cuales están ubicados en la parte superior de la tabla; hasta los oxidantes más fuertes, que presentan valores positivos de potencial de reducción. La transferencia de electrones se da de arriba hacia abajo, lo que significa que cuando un donador libera electrones, estos pueden ser aceptados por

<sup>42</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

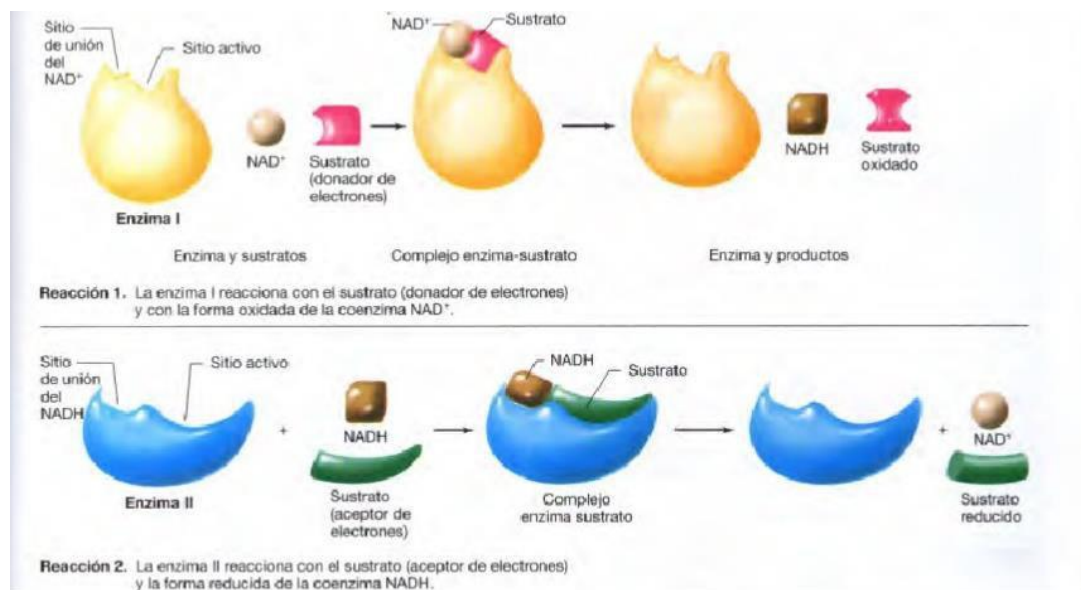
los aceptores ubicados en los diferentes niveles de la escala. Al ser mayor la distancia o caída desde el donador al aceptor, mayor será la energía liberada.<sup>43</sup>

**1.4.3 Transportadores de electrones.** En los microorganismos la transferencia de electrones que se da en las reacciones de óxido reducción necesita de uno o varios intermediarios que se les conoce como transportadores de electrones. En la naturaleza existen dos tipos de transportadores:

**1.4.3.1** Aquellos que difunden libremente los electrones por medio de coenzimas, donde las coenzimas más frecuentes en este tipo de microorganismos son la nicotinamida adenín dinucleótido (NAD) y NAD-fosfato (NADP+)

**1.4.3.2** Aquellos que se unen a las enzimas presentes en la membrana citoplasmática (grupos proteicos).<sup>44</sup>

**Figura 3.** Esquema de una reacción de óxido-reducción que implica las formas oxidadas y reducidas de la coenzima nicotinamida adenin dinucleótido,  $\text{NAD}^+$  y  $\text{NADH}$



Fuente: MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

<sup>43</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

<sup>44</sup> Ibid.

## 1.5 CRECIMIENTO MICROBIANO

Es el aumento en el número de las células, más no al tamaño de estas. Los microorganismos que están en la fase o etapa de “crecimiento” van aumentando en cantidad, agrupándose en colonias, las cuales pueden ser miles de células, o si las condiciones son favorables para el microorganismo pueden llegar a ser una población de miles de millones de células.<sup>45</sup>

El crecimiento microbiano se puede representar mediante un gráfico que se conoce como curva de crecimiento de una población bacteriana, la cual se da en 4 fases o etapas: la fase de latencia, en esta se da la inoculación del microorganismo, en ella no existe el crecimiento inmediato sino después de un periodo denominado latencia, que puede ser breve o extenso dependiendo la precedencia del cultivo; La fase exponencial, en la que donde cada célula se divide en dos y cada una de estas se divide en dos, y así sucesivamente; la velocidad con la que se da el crecimiento en esta fase depende de factores ambientales y de las características genéticas del microorganismo; La fase estacionaria, se origina cuando hay ausencia de un nutriente esencial para el crecimiento del microorganismo o se acumulan en el medio, productos o sustancias que inhiben el crecimiento del microorganismo, aunque, en esta fase no hay ni crecimiento ni descenso de la población, muchas funciones del metabolismo continúan como es el caso del metabolismo energético; la fase de muerte, el microorganismo no tiene nutrientes para continuar con sus actividades metabólicas dándose así la muerte de este.<sup>46</sup>

**1.5.1 Condiciones de crecimiento.** Los requerimientos o necesidades para que se dé el crecimiento microbiano pueden dividirse en dos aspectos: físicos, los cuales comprenden la temperatura, y el valor de acidez (pH); y los requerimientos químicos, los cuales incluyen lo esencial para las células como carbón, nitrógeno, oxígeno y factores de crecimiento orgánicos.<sup>47</sup>

**1.5.1.1 Factores físicos.** Los factores físicos que son esenciales a controlar en el desarrollo del proyecto son:

---

<sup>45</sup> TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

<sup>46</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

<sup>47</sup> TOTORA, op cit

- **Temperatura.** Las células procariotas se adaptan y crecen adecuadamente a temperaturas propias del ser humano, sin embargo, hay algunos microorganismos que pueden soportar temperaturas que son consideradas extremas para los seres humanos, gracias a esta particularidad pueden clasificarse según su temperatura óptima en: los cuales son psicrófilos (afines a las bajas temperaturas), mesófilos (temperaturas moderadas) y termófilos (afines a las altas temperaturas).<sup>48</sup>

Según referencias bibliográficas, se ha reportado que la temperatura afecta a los microorganismos de dos formas: si hay un aumento de la temperatura, las reacciones enzimáticas son más rápidas y por ende hay un mayor crecimiento, aunque en el aumento de la temperatura también se puede producir daños irreversibles en algunas proteínas de la célula afectando de forma negativa el crecimiento de estas.<sup>49</sup>

- **pH.** La mayoría de los microorganismos pueden crecer a pH cercanos a la neutralidad, entre 6,5 y 7,5, aunque también existen algunos microorganismos que pueden crecer y desarrollarse en valores de pH ácidos, inferiores a 4. Al igual que la temperatura el crecimiento de los microorganismos se ve afectado por el valor de pH y se pueden clasificar según el rango de acidez o alcalinidad al que puedan adaptarse. Las bacterias que pueden crecer a un valor de pH menor a 4 se denominan acidófilos y aquellas que pueden tolerar medios alcalinos con pH mayor a 10 se denominan alcalófilos.<sup>50</sup>

**1.5.1.2 Factores químicos.** Los requerimientos químicos esenciales y a considerar para el desarrollo del proyecto son las fuentes que requieren las células para poder aumentar en número, como: el carbono, nitrógeno, azufre y fósforo.

**1.5.1.2.1 Carbono.** A parte del agua, el carbono es uno de los más importantes en el crecimiento, ya que es el elemento que constituye la estructura de la materia viva; la mitad del peso seco de las células es básicamente carbono, los microorganismos de tipo quimio heterótrofos adquieren el carbono de su fuente de energía, materiales, materia orgánica y proteínas.<sup>51</sup>

---

<sup>48</sup> TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

<sup>49</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

<sup>50</sup> TOTORA, op cit.

<sup>51</sup> Ibid.

**1.5.1.2.2 Nitrógeno, azufre y fósforo.** Los microorganismos utilizan el nitrógeno para formar aminoácidos, aunque algunas bacterias cubren esta necesidad, mediante la descomposición de materia orgánica la cual contenga proteínas, y reincorporan los aminoácidos en la síntesis de nuevas proteínas y en compuestos que requieran hidrogeno. El azufre es utilizado para la síntesis de aminoácidos que contengan este compuesto y vitaminas como la tiamina y la biotina. El fósforo es utilizado para la síntesis de ácidos nucleídos de los fosfolípidos esenciales en la membrana celular, además es esencial en los enlaces de energía de ATP.<sup>52</sup>

Finalmente, como fue descrito anteriormente, la pila de combustible microbiana representa una forma de tratamiento de aguas, por lo que es necesario definir qué es el tratamiento de un agua residual y en qué parte del proceso intervienen los microorganismos.

## **1.6 TRATAMIENTO DE AGUAS**

En la actualidad el tratamiento de aguas residuales en un proceso de vital importancia en la industria debido a que se ha aumentado el control sobre los vertimientos a cuerpos de agua provenientes de las diferentes industrias. Con una serie de procesos que involucran principios físicos, sustancias y principios químicos y la ayuda procesos metabólicos biológicos se busca reducir a la mínima expresión la carga contaminante (sólidos suspendidos, sólidos disueltos, materia orgánica, grasas y aceites, entre otros contaminantes) del agua que va a ser descargada. Si el proceso de tratamiento no es realizado o llevado a cabo de manera óptima se estaría afectando de manera directa el medio ambiente, así como a las personas, animales y a las actividades que se ven directamente relacionadas con dicha fuente de agua que está recibiendo los vertimientos.

**1.6.1 Tipos de sistemas de tratamiento para aguas residuales.** Existe una clasificación para determinar el sistema necesario para realizar el tratamiento del agua residual según<sup>53</sup>:

**1.6.1.1 Tipo de proceso.** Estos se clasifican según el tipo de proceso que va a ser aplicado al agua, siendo de naturaleza física, química o biológica.

---

<sup>52</sup> TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

<sup>53</sup> LIZARAZO BECERRA, Jenny Milena and ORJUELA GUTIÉRREZ, Martha Isabel. Sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales en Colombia. 2013

**1.6.1.1.1 Procesos físicos.** Su objetivo es realizar la remoción de todos los compuestos y materiales que se encuentran en suspensión, sedimentados y todos aquellos contaminantes de gran tamaño por medio de métodos físicos sencillos como filtración y sedimentación. Este proceso es el primero que se aplica para después proceder con los otros procesos involucrados.

**1.6.1.1.2 Procesos químicos.** Se hace uso de sustancias o productos químicos que permitan la remoción y eliminación de los compuestos indeseados mediante el cambio de la estructura de dichos contaminantes. Los procesos más utilizados son: floculación, precipitación, cristalización, entre otros.

**1.6.1.1.3 Procesos biológicos**

Este tipo de proceso se lleva a cabo gracias a la ayuda de los microorganismos que con su actividad metabólica contribuyen a la degradación y eliminación de las impurezas y de los compuestos orgánicos que se encuentran en el agua residual.

**1.6.1.2 Grado de tratamiento.**

**1.6.1.2.1** Pre-tratamientos o tratamientos preliminares. Se aplican procesos físicos, los cuales tienen como objetivo reducir la carga contaminante pesada y de gran tamaño presente en el agua residual. Estos procesos pueden ser: cribado, desarenado, tamizado y triturado.

**1.6.1.2.2** Tratamiento primario. En esta etapa de proceso se busca reducir todos los sólidos que se encuentran en suspensión en el agua residual<sup>54</sup> por medio de sedimentación, floculación y coagulación.

**1.6.1.2.3** Tratamiento secundario. Es la etapa de proceso donde se realiza la mayor remoción de la demanda biológica de oxígeno (DBO) soluble y al mismo tiempo de aquellos sólidos suspendidos que no fueron retirados mediante el tratamiento primario<sup>55</sup>, por medio de reacciones biológicas. Dentro de los sistemas utilizados en esta parte del tratamiento se encuentran los sistemas de biomasa en suspensión (lodos activados) y los sistemas de biomasa adherida.

---

<sup>54</sup> LIZARAZO BECERRA, Jenny Milena and ORJUELA GUTIÉRREZ, Martha Isabel. Sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales en Colombia. 2013.

<sup>55</sup> Ibid.

**1.6.1.2.4** Tratamiento terciario. Es la etapa final del proceso de tratamiento de aguas, pero al mismo tiempo es la más costosa, debido a que se hace uso de materiales y procesos más complejos con el fin de dar cumplimiento a los estándares y las normativas requeridas antes de que el agua trata sea descargada al ambiente receptos. Dentro de los procesos que son aplicados en esta etapa del tratamiento se encuentra la filtración por carbón activado, lagunaje, cloración, uso de humedales artificiales, entre otros.

## 2. METODOLOGÍA

Con la finalidad de dar cumplimiento al objetivo general y los objetivos específicos del presente proyecto de investigación, a continuación se realizará una descripción detallada de cada uno de los lineamientos propuestos, iniciando desde la caracterización fisicoquímica del agua residual de la industria cervecera artesanal que va a ser utilizada como sustrato, las herramientas y análisis adecuados para determinar la mayor producción de energía y disminución de DQO, y finalmente se realizará una repetición del mejor experimento para realizar una comparación entre el uso de la PCM con un agua procedente de la industria en relación a un agua residual sintética acondicionada con condiciones ideales para su uso en una PCM.

### 2.1 DIAGNÓSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS Y RECuento EN PLACA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AGUA RESIDUAL

**2.1.1 Diagnóstico de las propiedades características fisicoquímicas.** Las características fisicoquímicas que se evaluaron bajo los métodos establecidos por la normativa Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22th Edition 2012 (la cual es aceptada por la normativa colombiana dada por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales), en la cual se encuentran los métodos adecuados y aplicables para este tipo de agua residual. A continuación, se describirán los principios para cada parámetro fisicoquímico que se evaluó, y el procedimiento para cada uno de estos, se representarán en un diagrama de bloques.

**2.1.1.1 pH.** El método empleado fue 4500-H<sup>+</sup> B. (Electrometric Method). Su principio de análisis se basa en determinar la actividad de los iones de hidrogeno presentes en el agua, realizando una medición potenciométrica, (la fuerza electromotriz (*fem*) generada por el sistema electrolítico es dependiente linealmente del valor de pH, por lo tanto se hace uso de una gráfica de pH vs *fem* para diferentes soluciones a un pH conocido, permitiendo así establecer o determinar el pH de la solución estudiada) debido a que la actividad de un ion de hidrogeno no puede ser medida, y por esa razón es que el pH se mide en una escala potenciométrica. El procedimiento para la toma de pH según la norma es: se debe agitar suavemente la muestra con el fin de que se asegure una homogeneidad y que no exista arrastre de dióxido de carbono, paso seguido se debe sumergir los electrodos durante 1 minuto, después de este tiempo se debe retirar el electrodo y volverlo a sumergir, pero tomando otro nivel o fracción de la misma muestra. Finalizado esta repetición, se debe tomar el valor registrado por el equipo.

**2.1.1.2 Demanda química de oxígeno (DQO).** El método empleado para determinar la demanda química de oxígeno del sustrato es por reflujo cerrado y volumetría, (SM 5220 C), la descripción del proceso de análisis sería la siguiente:

La materia orgánica por lo general se oxida en presencia de una mezcla caliente de ácido cromático y sulfúrico. Se toma la muestra y esta es calentada por reflujo en una solución fuertemente ácida con un exceso conocido de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). Después de la digestión, el  $K_2Cr_2O_7$  que no fue reducido se titula con sulfato de amonio ferroso para determinar la cantidad de  $K_2Cr_2O_7$  consumida, al mismo tiempo que la materia oxidable es calculada en términos de oxígeno equivalente. Algunas muestras pueden presentar un DQO bajo o en algunos casos un contenido de sólidos altamente heterogéneo, por lo cual es necesario que el análisis de este tipo de muestras deba ser replicada con el fin obtener datos más confiables.

**2.1.1.3 Sólidos totales.** El método seleccionado fue el secado a 103 a 105 °C gravimétrico (SM 2540 D), cuyo método de análisis se basa en la evaporación de los compuestos volátiles presentes en la muestra de peso conocido, con fin de que al final en el recipiente, únicamente se obtenga el peso de los sólidos. La muestra se debe evaporar en un horno a una temperatura de 103 a 105 °C durante 1h en un recipiente previamente pesado, la variación del peso sobre dicho recipiente indicará el total de sólidos presentes en la muestra analizada.

**2.1.1.4 Sólidos suspendidos totales.** El método seleccionado fue el secado a 103 a 105 °C gravimétrico (SM 2540 B), cuyo funcionamiento, es muy similar al descrito para la determinación de los sólidos totales, con la única diferencia en que la muestra es filtrada antes de ser llevada al horno secador. La muestra a tomar se pasa a través de un filtro de fibra de vidrio estándar pesado y el residuo retenido en el filtro se seca a una temperatura de 103 a 105 °C. La variación en peso del filtro representa el total de sólidos en suspensión. Si el material suspendido obstruye el filtro, puede ser necesario aumentar el diámetro del filtro o disminuir el volumen de la muestra, con el fin de evitar que el proceso de filtración se prolongue. Para obtener una estimación del total de sólidos disueltos, se calcula la diferencia entre el total de sólidos y el total de sólidos suspendidos presentes en la muestra.

**2.1.1.5 Conductividad.** El método seleccionado es la conductividad eléctrica en cuerpos de agua (SM 2510 B), el cual consiste en medir la capacidad conductiva que posee una solución acuosa, es decir la habilidad de transportar una corriente eléctrica, dicha habilidad depende de la concentración de iones y de la temperatura a la cual se realiza la medición. La conductividad es una propiedad que es inversa a la resistencia específica y es expresada en micromho por centímetro ( $\mu mho/cm$ ). En este caso, la muestra es agitada con el fin de que al momento de la toma de

datos presente homogeneidad, luego se es introducida la celda medidora del equipo asegurándose que el sensor se encuentre completamente sumergido. Posteriormente, se registra el valor dado por el equipo medidor.

**2.1.2 Recuento microbiológico.** Se realizará este procedimiento con el fin de determinar si existe presencia de microorganismos propios del proceso que se encuentren presentes en el agua residual que va a ser utilizada como sustrato, esto con el fin de conocer por medio de las pruebas experimentales si estos microorganismos poseen la capacidad de producir energía sin la necesidad de realizar la adición de cepas externas.

**2.1.2.1 Recuento en placa.** Para determinar si existe o no la presencia de microorganismos en el agua residual, se utilizará el método de cuantificación de recuento de colonias en placa con siembra en superficie en un medio de cultivo estándar que permita el crecimiento microbiano de cepas mesófilas, esto debido a que la operación del dispositivo se realizará a temperaturas promedio de 37°C. Esta técnica permite determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en una cantidad o en un volumen determinado de la muestra que son inoculadas por un tiempo de 24 horas en el medio de cultivo que mejor se adapte a las condiciones de operación propuestas; adicionalmente se realizarán un número de diluciones determinadas con el fin de que el conteo posterior sea más sencillo y determinar con mayor exactitud el número de unidades presentes en al agua.

## **2.2 ESPECIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN ADECUADAS PARA DETERMINAR EL EXPERIMENTO QUE PRESENTE UNA MAYOR EFICIENCIA EN LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA**

**2.2.1 Selección del diseño de experimentos.** Con la finalidad de evaluar aquellos factores que puedan ser controlados y afectan directamente la generación de energía, se utilizará un diseño factorial de tres factores sin replicación, el cual se especifica de la siguiente manera:

- Se van a evaluar dos factores para este proyecto los cuales afectan directamente la variable de respuesta que es la generación de energía eléctrica dichos factores son:
- Primera variable independiente contiene tres niveles: el uso de microorganismos: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y posibles microorganismos presentes en el agua residual.

- La segunda variable independiente contiene tres niveles: el uso o no de una solución química que actúe como mediador (azul de metileno). La cual maneja concentraciones de 0, 0,0001M y 0,0003M<sup>56</sup>.
- Variable dependiente: la única variable dependiente y la cual es tomada como respuesta de la influencia y/o interacción entre las dos variables previamente mencionadas será el voltaje.
- Réplicas: 3 se seleccionarán las 3 mejores corridas de las nueve combinaciones posibles teniendo en cuenta la generación de voltaje.

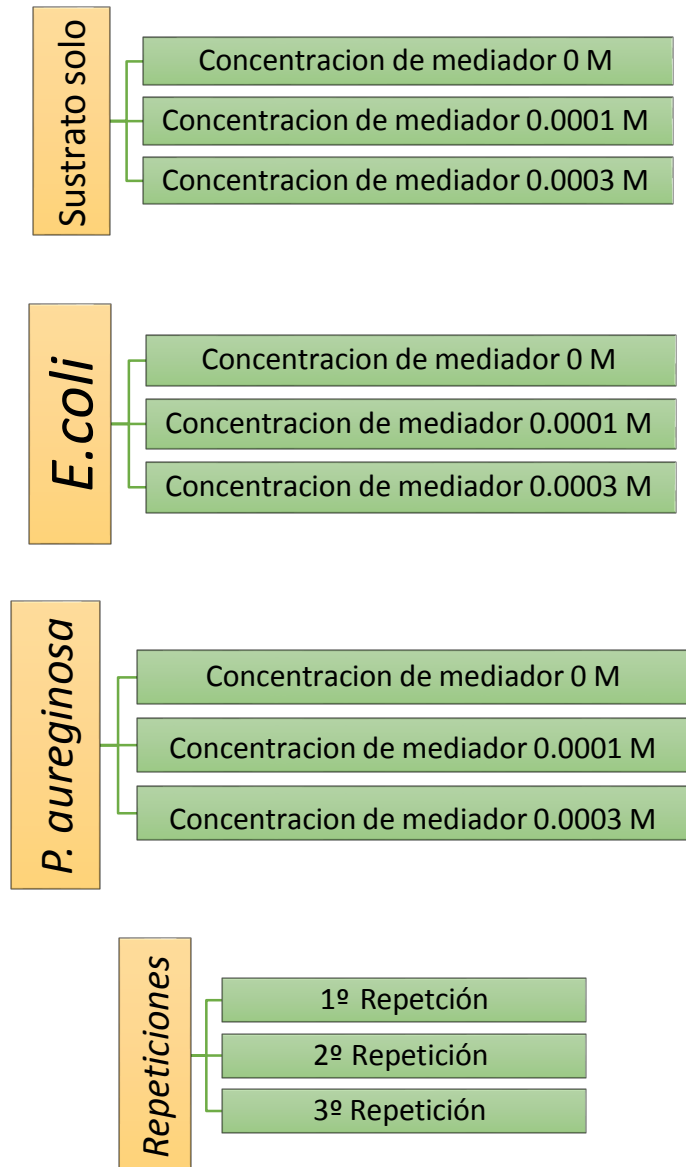
Después de que se determinaron los factores y teniendo en cuenta que es un diseño factorial sin replicaciones, el número de pruebas a realizar

$$N = [(F_1 \times F_2 \times \dots \times F_n) \times R] + R$$

$$N = (3^2) + 3 = 1$$

<sup>56</sup> COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

**Figura 4.** Diseño de experimentos



Fuente: elaboración propia

## 2.2.2 Selección del microorganismo de la cámara anódica

**2.2.2.1 *Escherichia coli*.** Para cumplir con el objetivo de este proyecto se seleccionó la *Escherichia coli* por las siguientes razones; la principal es debido a que su metabolismo es capaz de adaptarse para sobrevivir bajo una amplia gama de condiciones ambientales, haciéndola una de las cepas más utilizadas en

investigación<sup>57</sup>. Otra importante razón es que al ser una cepa no electrogénica se han reportado estudios, donde puede adaptarse fácilmente a mediadores artificiales como el azul de metileno que le permiten fácilmente transferir electrones a la superficie de un electrodo al bio-catalizar la oxidación de la glucosa<sup>58</sup>. A su vez, también se han encontrado estudios donde la *E. coli* puede producir mediadores endógenos a condiciones electroquímicas favorables en las PCM.<sup>59</sup> Y finalmente debido a su alta disponibilidad.

**2.2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*.** Al ser una bacteria activamente electroquímica, ya que pueden transferir electrones o bien por transferencia bacteriana directa o excreción de componentes de óxido – reducción, a su vez contar con la capacidad de adaptarse a una amplia variedad de sustratos, la *P. aeruginosa*, las hace ideales para ser usadas en las PCM.<sup>60</sup>

La transferencia de electrones desde la bacteria al electrodo, es uno de los aspectos más críticos e importantes en una PCM. Por eso es necesario el uso de microorganismos capaces de transferir fácilmente electrones, además del uso de mediadores que deben añadirse al medio al electrodo con el fin de aumentar el flujo de corriente al mejorar la transferencia de electrones, pero se tiene conocimiento de algunas especies de bacterias como las *Pseudomonas*, las cuales generan compuestos como la fenazina, piocianina que funcionan como transportadores de electrones entre la bacteria y un aceptor de electrones.<sup>61</sup>

**2.2.3 Montaje de la PCM.** El ensamblaje de la PCM se realizará de acuerdo al manual de instrucciones y condiciones de uso para la celda de combustible microbiana implementada, que fue desarrollado en el proyecto de grado Diseño y

---

<sup>57</sup> NANDY, Arpita; KUMAR, Vikash and KUNDU, Patit P. Effect of electric impulse for improved energy generation in mediatorless dual chamber microbial fuel cell through electroevolution of *Escherichia coli*. En: BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS. May 15, vol. 79, p. 796-801

<sup>58</sup> ZHANG, Tian, et al. A novel mediatorless microbial fuel cell based on direct biocatalysis of *Escherichia coli*. En: CHEMICAL COMMUNICATIONS (CAMBRIDGE, ENGLAND). Jun 4, no. 21, p. 2257

<sup>59</sup> WANG, Yung-Fu, et al. Self-excreted mediator from *Escherichia coli* K-12 for electron transfer to carbon electrodes. En: APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. Oct. vol. 76, no. 6, p. 1439-1446

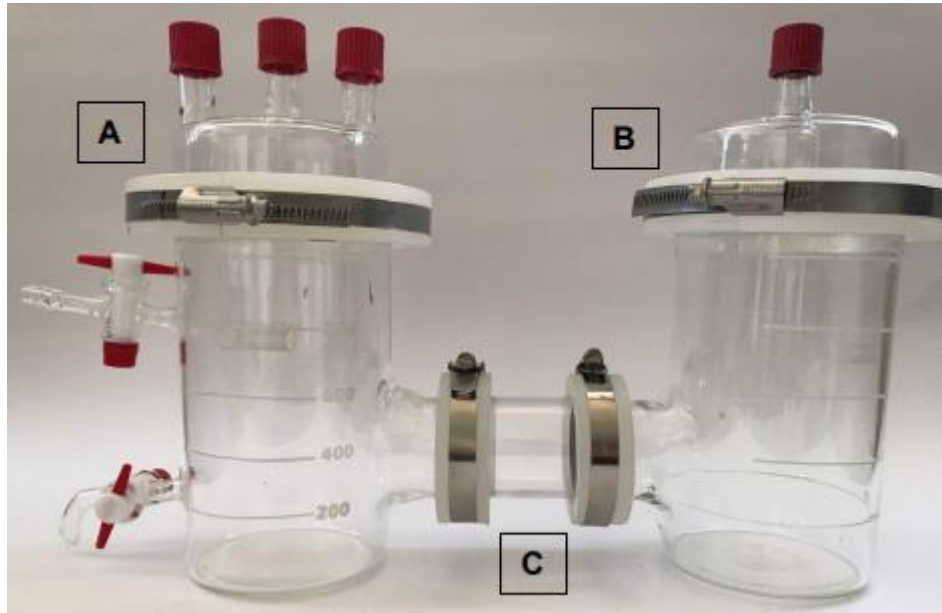
<sup>60</sup> KORNEEL, Rabaey, et al. Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. En: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Sep 1, vol. 70, no. 9, p. 5373-5382

<sup>61</sup> KORNEEL, Rabaey, et al. Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. En: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Sep 1, vol. 70, no. 9, p. 5373-5382

construcción de una Pila de combustible microbiana a escala de laboratorio por las ingenieras Erika Dayana Bernal Aragón y María Alejandra Bermúdez Montaña<sup>62</sup>

En la imagen 1 se observa el esquema de la PCM en la cual se va a realizar la experimentación del presente proyecto.

**Imagen 1.** Pila de combustible microbiana a usar en la experimentación.



Fuente: COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

El diseño de esta pila de combustible microbiana fue desarrollado en el semillero de investigación de Energías Alternativas de la Universidad de América, llegando a la conclusión de que el diseño de dos cámaras y construida en su totalidad en vidrio, favorecía de mejor manera la producción de energía eléctrica<sup>63</sup>. En este caso cada cámara de la pila posee un volumen total de 1 litro, al mismo tiempo que el volumen

<sup>62</sup> BERMUDEZ, María y BERNAL, Erika. Implementación De Una Celda De Combustible Microbiana a Escala Laboratorio Para La Generación De Energía Eléctrica. Bogotá, Colombia: Fundación Universidad de América, 2017.

<sup>63</sup> BERMUDEZ, María y BERNAL, Erika. Implementación De Una Celda De Combustible Microbiana a Escala Laboratorio Para La Generación De Energía Eléctrica. Bogotá, Colombia: Fundación Universidad de América, 2017.

de experimentación o volumen efectivo es de 800 ml, siendo este el volumen de sustrato que va a ser utilizado en cada corrida experimental y que va a ser depositado en la cámara anódica (A en la imagen 1) junto con la cepa microbiológica que va a ser utilizada; en la tapa de esta cámara se encuentran 3 aberturas, las cuales se encuentran destinadas para el soporte del sobre de anaerobiosis, cable conductor que va a soportar el electrodo y también para el sensor de registro de la temperatura. En la imagen también se puede apreciar que la cámara cuenta con dos válvulas laterales, las cuales permiten que se realice la experimentación en flujo continuo y la toma de muestras durante una experimentación batch, con el fin de realizar distintas mediciones en los parámetros fisicoquímicos del sustrato o también mediciones microbiológicas.

La cámara catódica (B en la imagen 1), al igual que en la cámara anódica tiene un volumen efectivo de 800 mL, en este caso de agua como sustancia conductora, en la cual se va a encontrar en contacto con un electrodo de la misma naturaleza que el de la cámara A. Esta cámara se encuentra sellada por una tapa, la cual posee una única abertura para introducir el soporte metálico del electrodo. Para comunicar las dos cámaras que componen la pila de combustible se hace uso de un puente de vidrio (C en la imagen 1) en el cual se va a depositar una solución salina que permita el libre intercambio de electrones en las dos cámaras y que al mismo tiempo separe el sustrato utilizado en la cámara anódica del agua presente en la cámara catiónica.

Para la unión de todos los componentes del dispositivo se hace uso de sellos herméticos, abrazaderas plásticas y ajustadoras metálicas que permitan que se cumplan las condiciones anaeróbicas en la cámara anódica, y que no se presenten fugas en ninguna de las uniones. El esquema general del montaje del dispositivo y su puesta en operación se encuentra en el anexo E.

**2.2.4 Elaboración del puente salino.** La elaboración de puente salino, el cual permite el paso de protones, se elaborará según lo establecido por los proyectos de investigación desarrollados anteriormente. El puente salino está conformado por tres (3) componentes: agua (85mL), agar-agar (2,49g) y un electrolito que es cloruro de potasio KCl (6,188g). Para su elaboración se debe adicionar los 3 componentes con las cantidades mencionadas en un beaker a fuego lento hasta que llegue al punto de ebullición, después se lleva la solución al recipiente adecuado para el puente, donde se deja a temperatura ambiente para que cambie de estado líquido a estado sólido.

**2.2.5 Puesta en operación de la PCM, según lo establecido en el diseño experimental.** De acuerdo al diseño experimental establecido, la celda de combustible será puesta en operación durante un período de tiempo de 24 horas continuas y se realizarán en total 9 corridas experimentales, con el fin de determinar a qué condiciones de operación se da la mejor producción de energía eléctrica. Además, se realizará el análisis de los datos obtenidos para cada una de las pruebas, con el fin de determinar las condiciones de operación adecuadas para cada tipo de microorganismo y realizar la replicación de dicho experimento y determinar así qué tipo de microorganismo es el que mejor se adapta a las condiciones del sustrato y produce una mayor cantidad de energía eléctrica.

**2.2.6 Parámetros a tener en cuenta en la operación de la PCM.** De acuerdo a lo planteado en el objetivo, se evaluarán los factores que influyan de manera directa e implícita la generación de energía

**2.2.6.1 Concentración de mediador.** La concentración del mediador para las dos cepas de microorganismos seleccionadas fue investigada y puesta a prueba previamente en el proyecto de investigación perteneciente al grupo de “Investigación en Energías Alternativas” de la Universidad de América, después de realizar la referenciación bibliográfica y de llevar a cabo pruebas experimentales que permitieran corroborar los datos teóricos, llegando a la conclusión de que las concentraciones adecuadas de mediador para *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* son de 0.0003 M y 0.0001M respectivamente<sup>64</sup>, las cuales serán utilizadas en el transcurso del presente proyecto.

**2.2.6.2 Temperatura.** En base a la previa revisión bibliográfica se determinó que la temperatura es un factor muy influyente en el crecimiento y adaptación de los microorganismos, además afecta el rendimiento de las PCM en cuanto a la generación de energía. Por ello con el fin de generar la mayor cantidad de energía posible y un adecuado crecimiento de los microorganismos, la celda de combustible se operará a una temperatura cercana a los 37°C<sup>65</sup>, ya que es una temperatura óptima de crecimiento para los microorganismos a emplear en este proyecto (*E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).

---

<sup>64</sup> COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

<sup>65</sup> FUNDACIÓN VASCA PARA LA SEGURIDAD AGROALIMENTARIA. *Escherichia Coli*. 2013.

**2.2.7 Toma de los datos obtenidos de la producción de energía para determinar a qué condiciones se dio la mejor producción.** Durante 24 horas se realizará la medición de generación de voltaje y se hará registro en conjunto con la temperatura durante todo el proceso, para la medición de estos dos parámetros será uso del software LabVIEW y una tarjeta ARDUINO UNO R3, en el cual se realizó la programación de un algoritmo que medirá en tiempo real estas dos variables.

**2.2.8 Evaluación de la producción de energía.** Para la generación de energía este se obtiene mediante los valores de tensión, de corriente eléctrica, densidad de corriente, potencia generada y potencia volumétrica que se obtienen durante la operación de la pila. Para ello se empleará un multímetro y se tendrá en cuenta el valor de la resistencia externa según el diseño de la pila entonces:

- Tensión eléctrica: también conocida como voltaje, es una magnitud física que cuantifica la diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos

**Ecuación 1.** Voltaje o tensión eléctrica.

$$V = I \cdot R$$

Donde

V = voltaje o tensión dada en Voltios (V)

I = intensidad de corriente o corriente eléctrica dada en amperios (A)

R = Resistencia del circuito eléctrico dada en Ohm's ( $\Omega$ )

- Resistencia eléctrica: se llama resistencia eléctrica a la oposición o dificultad que encuentra una corriente al recorrer un circuito eléctrico cerrado, y que permite frenar o atenuar el libre flujo de electrones.

**Ecuación 2.** Resistencia eléctrica.

$$R = \rho \frac{L}{S}$$

Donde:

$\rho$  (rho)= Constante llamada resistividad

L= Longitud del cable conductor expresada en metros (m).

S = Superficie del grosor del cable o conductor expresado en milímetros cuadrados ( $\text{mm}^2$ )

- Corriente eléctrica: es el flujo de electrones a través de un circuito eléctrico cerrado que se mueven siempre de un polo negativo a uno positivo.

**Ecuación 3.** Intensidad eléctrica o corriente eléctrica.

$$I = \frac{Q}{t}$$

Donde:

I = Intensidad expresada en Amperios (A)

V = Voltaje expresado en Voltios (V)

R = Resistencia expresada en ohms ( $\Omega$ )

- Potencia Generada: es la cantidad de energía o entregada por la PCM en un momento determinado.

**Ecuación 4.** Potencia generada

$$P = VI$$

Donde:

P = es la potencia generada por la PCM, expresada generalmente en Watts (W)

I = Intensidad expresada en Amperios (A)

V = Voltaje expresado en Voltios (V)

- Densidad de Potencia o Irradiancia: potencia por unidad de área normal a la dirección de propagación, usualmente expresada en unidades de watts por metro cuadrado [W/m<sup>2</sup>] o miliwatts por centímetro cuadrado [mW/cm<sup>2</sup>].

**Ecuación 5.** Densidad de potencia

$$D_p = \frac{P}{a}$$

Donde:

D<sub>p</sub> = Densidad de Potencia expresada en W/m<sup>2</sup>

P = Potencia generada por la PCM en Watts (W)

a = Área de electrodo expresada en metros cuadrados (m<sup>2</sup>)

## **2.3 MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y DISMINUCIÓN DE DQO DEL EXPERIMENTO QUE MEJOR SE ADAPTE A LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN**

Después de seleccionar las tres (3) pruebas con la mayor generación de energía eléctrica se procederá a replicarlas, con el objetivo de tener una duplicidad de los datos además de identificar bajo qué condiciones de operación se da la mayor producción de energía y estimar la disminución de DQO que esta pueda alcanzar.

**2.3.1 Selección de un modelo estadístico (ANOVA) para el análisis estadístico.** Con el fin de determinar el mejor experimento, con respecto a las condiciones de operación. Se realizará un análisis estadístico usando ANOVA, para llevar a cabo el desarrollo matemático se hará uso del software IBM SPSS Statistics.

**2.3.2 Determinación del DQO al final de la experimentación.** Una vez seleccionado el experimento que generó la mayor cantidad de energía eléctrica, el sustrato de la cámara anódica se llevará a análisis para determinar la disminución del DQO en este, con la finalidad de ver si los compuestos presentes en el sustrato sirvieron de fuente de energía para los microorganismos nativos o no, presentes en el sustrato.

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1 DIAGNÓSTICO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL AGUA RESIDUAL NECESARIAS

Para que el agua residual de la industria cervecera artesanal pueda ser utilizada como sustrato para una PCM, es necesario que ciertas propiedades cumplan con los estándares mínimos, con el fin de que dichos factores no influyan negativamente en el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. Para el desarrollo de este proyecto se determinaron cinco (5) propiedades que debían ser diagnosticadas con base en la revisión bibliográfica<sup>66</sup>, y que se listan a continuación:

- pH.
- Demanda química de oxígeno. (DQO)
- Sólidos totales.
- Sólidos suspendidos totales.
- Conductividad.

Dicha determinación se realizó con base en el laboratorio “Biopolab”, ubicado en la ciudad de Bogotá y cuyos procedimientos de determinación permiten que los resultados obtenidos se encuentren homologados según la normatividad colombiana vigente, dada por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). El resultado del análisis se observa en la siguiente tabla 2.

El informe de resultados se encuentra en el anexo G. En dicho informe, además de los valores numéricos para cada propiedad analizada, puede apreciarse el método que se usó para cada prueba, igualmente, si los parámetros cumplen con la ley de vertimientos para el proceso de elaboración de maltas<sup>67</sup>. A continuación, se analizará el resultado de cada propiedad fisicoquímica y el impacto que puede tener en los microorganismos.

---

<sup>66</sup>LU, Mengqian, et al. Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. En: JOURNAL OF POWER SOURCES. Jul 15, vol. 356, p. 274-287

<sup>67</sup> MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Resolución 631 de 2015. (Mar 17,). 2015.

**Tabla 2.** Resultados del análisis de las propiedades del agua residual.

Propiedad	Valor experimental	Valor norma	Técnica de determinación
<b>pH</b>	4,74	6 – 9	pH en agua por electrometría
<b>Demanda química de oxígeno</b>	56387 mgO <sub>2</sub> /L	200 mgO <sub>2</sub> /L	DQO por reflujo cerrado y volumetría
<b>Sólidos totales</b>	1552 mg/L	-	Sólidos totales secados a 103-105°C
<b>Sólidos disueltos totales</b>	879 mg/L	-	Sólidos suspendidos totales en agua secados a 103-105°C
<b>Sólidos suspendidos totales</b>	673 mg/L	50mg/L	-
<b>Conductividad</b>	1529 µS/cm	-	Conductividad eléctrica por el método electrométrico en aguas.

Fuente: Elaboración propia.

**3.1.1 pH: acidez o alcalinidad del agua.** El valor de pH para un sustrato, posee gran relevancia debido a que no todos los microorganismos crecen en las mismas condiciones de acidez o de alcalinidad<sup>68</sup>, en este caso, el valor obtenido se encuentra por debajo del valor óptimo para cada uno de los microorganismos que se utilizarán<sup>69</sup>, sin embargo, de acuerdo con la revisión bibliográfica se encontró que las cepas de microorganismos seleccionadas, pueden sobrevivir y desarrollarse en un rango de pH de 4,4 a 9, por lo que no fue necesario el uso de sustancias reguladoras de pH<sup>70</sup>, tales como buffer fosfato. Para el desarrollo experimental se realizaron las pruebas sin ningún tratamiento al sustrato, debido a que se busca que las condiciones de operación de la PCM, sean a condiciones reales de proceso. Al mismo tiempo, al no modificar el agua se busca comprobar si existe carga microbiana contenida en el efluente, y que, en caso afirmativo, verificar también si estos microorganismos son capaces de producir energía eléctrica, ya sea en condiciones originales o con la adición de un mediador, con el fin de promover la transferencia de electrones.

<sup>68</sup> MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009

<sup>69</sup> FUNDACIÓN VASCA PARA LA SEGURIDAD AGROALIMENTARIA. Escherichia Coli. 2013.

<sup>70</sup> Ibid.

Estas condiciones de pH en el agua, pueden darse debido a las condiciones propias del proceso de producción de maltas y según reportes de la bibliografía<sup>71</sup> los valores de pH son de carácter ácido con un intervalo aproximado de 4 a 5, este valor dependerá de la metodología desarrollada para la producción de la cerveza y las materias empleadas en el proceso.

**3.1.2 Demanda química de oxígeno (DQO)** La demanda química de oxígeno es un indicador de la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la carga orgánica presente en un sustrato, y al mismo tiempo un indicador del grado de contaminación del agua<sup>72</sup>, por lo tanto, en el caso de este sustrato, se aprecia que posee una gran cantidad de material orgánico que puede ser utilizado como fuente nutricional por los microorganismos. Dicho esto, el valor obtenido de DQO (56387 mgO<sub>2</sub>/L) es significativamente alto con respecto a lo reportado en literatura, lo cual se puede interpretar que esta agua al contener un alto contenido suspendido en la muestra líquida puede generar inhibición y provocar que no se produzca la máxima energía posible. De acuerdo con lo reportado en la bibliografía, el valor del DQO para el agua residual proveniente de una industria de producción de maltas, la carga orgánica depende de la naturaleza de las materias primas involucradas; en este caso, son principalmente, de carácter orgánico (cebada, levaduras, etc.). En comparación con las aguas residuales domésticas, las aguas residuales provenientes de la industria cervecera presentan un valor de DQO 10 veces superior<sup>73</sup> o más, de acuerdo con la naturaleza del proceso. Con la implementación de este proyecto se busca disminuir dicho valor, cuyo análisis se hará posteriormente, según los resultados de las pruebas experimentales.

**3.1.3 Sólidos totales.** Este parámetro indica la cantidad de sólidos totales que se encuentran presentes en el agua residual, sin importar su naturaleza y la forma en la que se manifiesten. Como se describió con anterioridad, es una variable puede afectar la actividad microbiana al interior de la PCM, por lo tanto, según el análisis de resultados que suministró el laboratorio y de acuerdo a lo reportado con lo encontrado en bibliografía un valor de 1552 mg/L puede llegar a afectar en la actividad microbiana, por lo tanto se puede llegar a dar una reducción en la generación de energía eléctrica. En términos del efecto de los microorganismos sobre este parámetro, puede encontrarse que promueven la reducción de los sólidos totales, ayudando así, a que la descarga de estas aguas contenga una menor carga contaminante con respecto a un agua residual que no haya sido trata con microorganismos y que cumpla con la Resolución 631 de 2015, la cual

---

<sup>71</sup> LU, Mengqian, et al. Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. En: JOURNAL OF POWER SOURCES. Jul 15, vol. 356, p. 274-287

<sup>72</sup> RODRIGUEZ M, Carlos Hernán. Demanda Química de Oxígeno por reflujo cerrado y volumetría. [0]: Bogotá D.C.: IDEAM, 2007.

<sup>73</sup> LU, op cit.

establece los parámetros de los vertimientos, estableciendo un valor máximo para este valor de 200 mg/L O<sub>2</sub>. Al observar el agua y con la ayuda de los resultados del laboratorio se concluye que existe un mayor porcentaje de sólidos disueltos en ella, lo que concuerda con el valor de la demanda química de oxígeno analizado previamente. Dicho valor es de 879 mg/L (56,7% del total), esta conclusión se basa en que el valor de sólidos totales corresponde a la suma de los sólidos suspendidos totales, y los sólidos disueltos totales.

**3.1.4 Sólidos suspendidos totales.** Este parámetro se encuentra íntimamente relacionado con el anterior, su cuantificación se realizó con el fin de realizar la determinar los sólidos disueltos. Cualquier tipo de sólido presente en el agua puede actuar como inhibidor de la actividad microbiana.

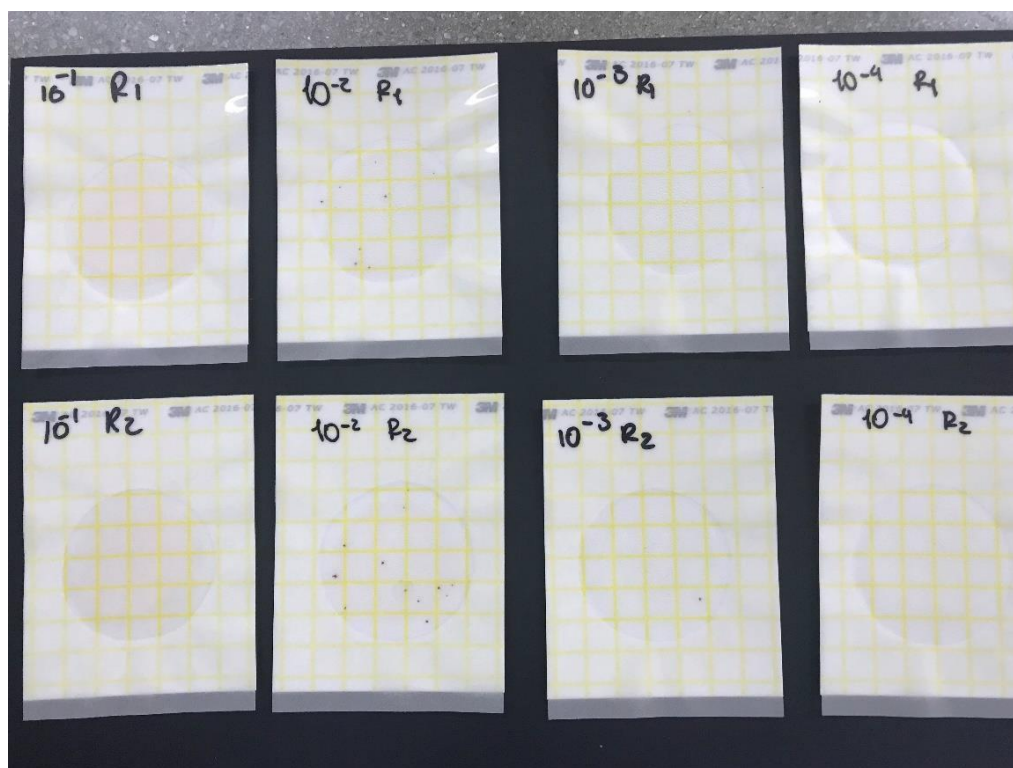
**3.1.5 Conductividad.** La conductividad es un indicador de la facilidad que existe en el medio acuoso para la transferencia de electrones, en este caso, para este proyecto de investigación, se encontró que el agua residual de la industria cervecera artesanal está dentro de los valores promedios según lo reportado en la literatura<sup>74</sup>, consecuencia de la presencia de impurezas, como las sales disueltas. En este caso, el agua que va a ser utilizada como sustrato posee condiciones de conductividad que permitirán un mejor flujo de electrones, propiciando una mayor producción de energía eléctrica en comparación con medios que posean una baja conductividad.

**3.1.6 Recuento microbiológico** De acuerdo a lo planteado en la metodología del proyecto, se llevó a cabo el recuento microbiológico en placa de acuerdo al procedimiento detallado en el anexo F, con el fin de determinar si en el agua residual proveniente de la industria de cerveza artesanal existe la presencia de microorganismos mesófilos que puedan generar energía eléctrica. Después de incubar las muestras sembradas durante 48 horas, se observó que solamente en las dos primeras diluciones se podía apreciar de manera clara el crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC's) como se puede apreciar en la imagen 2.

---

<sup>74</sup> LU, Mengqian, et al. Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. En: JOURNAL OF POWER SOURCES. Jul 15. Vol. 356, p. 274-287

**Imagen 2.** Siembra en superficie para las cepas nativas del sustrato con las diluciones realizadas

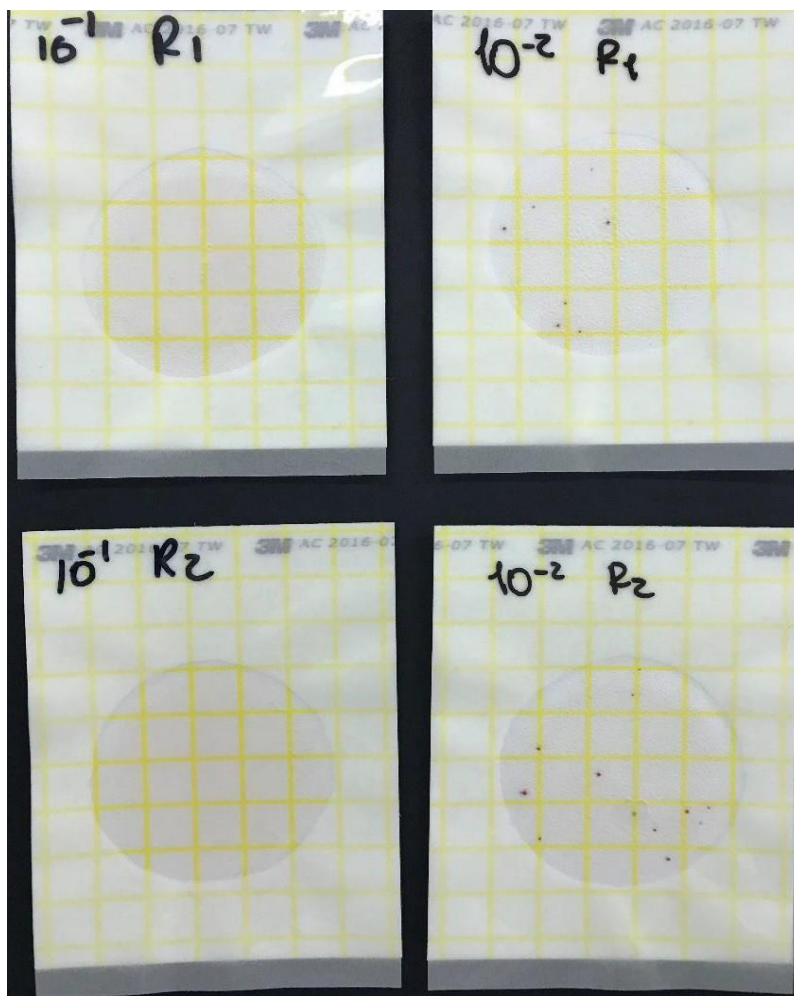


Fuente: elaboración propia.

Según lo observado en el laboratorio, para la primera dilución no es posible realizar el conteo de las colonias presentes, debido a que el medio de cultivo presenta una coloración roja uniforme en el lugar donde fue agregada la muestra, por lo tanto, se procedió a realizar el conteo de las colonias presentes en la muestra que corresponde a la segunda dilución realizada ( $10^{-2}$ ) como se aprecia en la imagen 3. Después de contar cada zona donde existiera el crecimiento de microorganismos para la primera y para la segunda repetición, se establece que el sustrato posee  $10.5 \times 10^2$  UFC/ml.

Después de realizar esta determinación, se puede establecer que existen cepas de microorganismos presentes en el agua residual que por sí solas pueden generar energía eléctrica si estas son llevadas a una pila de combustible microbiana y se establecen condiciones de temperatura de operación ( $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) adecuadas para el crecimiento de estos microorganismos.

**Imagen 3.** Siembra en superficie para las cepas nativas en las dos primeras diluciones



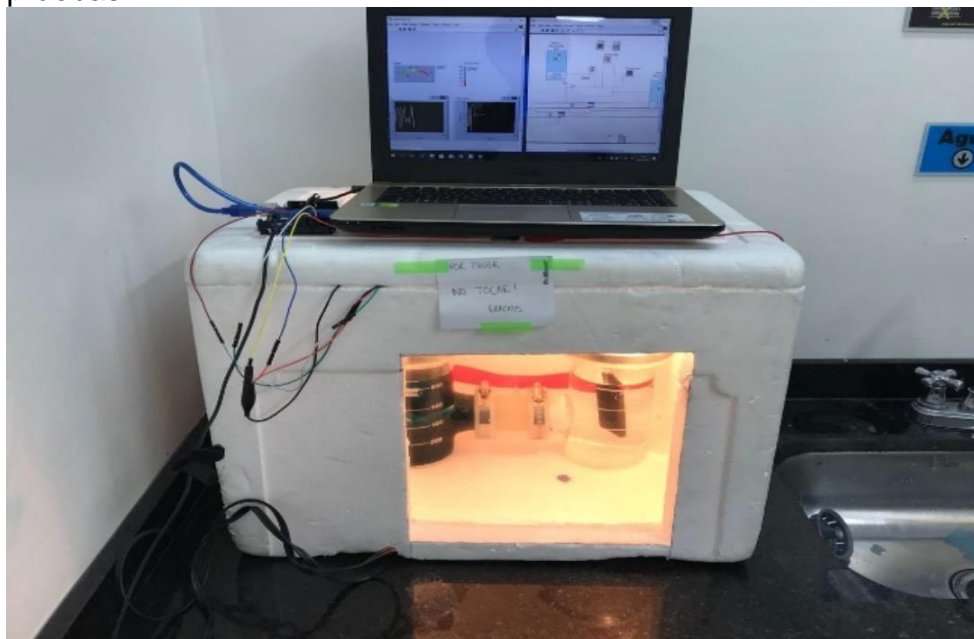
Fuente: elaboración propia.

### **3.2 ESPECIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN ADECUADAS PARA DETERMINAR EL EXPERIMENTO QUE PRESENTE UNA MAYOR EFICIENCIA EN LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA**

**3.2.1 Ejecución del diseño de experimentos.** De acuerdo con el diseño de experimentos seleccionado, se realizaron nueve (9) pruebas con el objetivo de seleccionar las tres (3) que presentaron una mayor producción de energía eléctrica. Teniendo en cuenta los factores que influyeron directamente en la producción de energía como el microorganismo empleado, la concentración del mediador y la temperatura óptima de crecimiento.

**3.2.1.1 Corridas experimentales para el sustrato con cepas nativas, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.** La corrida inicial se realizó sin siembra de microorganismos, para determinar si el sustrato empleado obtenido de la industria de cervecería artesanal contenía microorganismos electrogénicos que, a través de sus rutas metabólicas como la glicólisis, sean capaces de transferir electrones desde la membrana celular, a un aceptor que en este caso, no es el oxígeno sino un electrodo de grafito<sup>75</sup>, debido a que la operación de la PCM es en condiciones anaerobias. El montaje que se llevó a cabo en cada una de las corridas (pruebas) experimentales, corresponde a la imagen 4 incluyendo la conexión a la fuente de recolección de datos, mientras que el montaje del dispositivo, corresponde a la imagen 5.

**Imagen 4.** Montaje de la pila de combustible microbiana al inicio de las pruebas.



Fuente: elaboración propia.

---

<sup>75</sup> VARELA, Gustavo. Fisiología y metabolismo bacteriano.

**Imagen 5.** Montaje del dispositivo antes de la experimentación.



Fuente: elaboración propia.

Al final de la primera corrida, se obtuvo un voltaje promedio de 0,4029V y un máximo de 0,6223V. Por lo que se determinó que para producir energía eléctrica si hay microorganismos capaces de transferir electrones a un electrodo (ánodo) y a través de una resistencia externa, en un circuito cerrado. Los resultados de la primera prueba permitieron analizar dos (2) pruebas más, usando azul de metileno como mediador a diferentes concentraciones (0,0001 M – 0,0003 M). Para todas las pruebas, se hizo monitoreo continuo de la generación de voltaje y un control de temperatura durante 24 horas.

**Tabla 3.** Datos obtenidos de las pruebas realizadas con cepas nativas del sustrato (Cepas nativas)

Prueba	Concentración de mediador (M)	Voltaje Promedio (mV)	Voltaje máximo (mV)	Intensidad Promedio ( $\mu$ A)	Temperatura promedio ( $^{\circ}$ C)
1	-	402,9	622,3	200,074	31,917
2	0,0001	352,9	704,2	187,428	35,784
3	0,0003	491,6	745,6	214,650	36,865

Fuente: elaboración propia.

Se usó la misma metodología con las bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando las mismas concentraciones de mediador, se varió la temperatura de operación. Para cada uno de los microorganismos, entre 37°C a 42°C, buscando que cada cepa tuviera una temperatura de crecimiento óptima.

La toma de datos de voltaje y temperatura se realizó mediante el programa LabVIEW en interfaz con Arduino, que permite transformar señales análogas en digitales, que son registradas en un computador, evitando así tener que monitorear todo el tiempo el dispositivo. Este método de medición es muy conveniente, pero genera alteraciones en las mediciones a partir de dos variables: en la primera, al inicio de la operación, no existe producción de energía eléctrica por parte de la pila de combustible microbiana, debido a que los microorganismos todavía se encuentran en la fase de adaptación al sustrato, por lo tanto, no hay transferencia de electrones a la superficie del ánodo; en la segunda, se observa que los valores del voltaje no sobrepasan 1V en toda la operación durante de las 24 horas, permitiendo que la tarjeta de medición registrara señales de voltaje provenientes de fuentes externas al dispositivo<sup>76</sup> utilizado, debido a que esta tarjeta tiene la capacidad de leer y registrar las señales producidas por los campos electromagnéticos en el ambiente, generando la necesidad limpiar y filtrar los datos obtenidos para cada corrida<sup>77</sup>.

**Muestra de cálculo para el valor de la resistencia externa.** De acuerdo con lo planteado en la metodología, en el punto 2.2.7., se describieron varias ecuaciones útiles para determinar y evaluar los parámetros más importantes en el análisis de la generación de energía, uno de ellos, es el valor de la resistencia externa, que puede calcularse con la siguiente ecuación:

**Ecuación 6.** Cálculo de la resistencia.

$$R = \rho * \frac{L}{A}$$

$$R = 0,0172 \frac{\Omega * m}{m^2} * 0,00031416 m^2 = 27,2154 \Omega$$

Como material para la resistencia externa se utilizó cobre, ya que este es un material conductor y posee un bajo valor de resistividad ( $0,0172 \frac{\Omega * m}{m^2}$ ) en comparación con materiales metálicos tales como el aluminio, hierro y acero que son materiales

<sup>76</sup> Eliminar el ruido en Arduino, controla los factores que lo producen. [1]. [Consultado el May 22,2018]. Disponible en: <https://programarfacil.com/podcast/eliminar-el-ruido-en-arduino/>

<sup>77</sup> Filtrar ruido de una señal analógica. [1]. [Consultado el May 22,2018]. Disponible en: <https://forums.ni.com/t5/Discusiones-sobre-Productos-NI/filtrar-ruido-de-una-se%C3%B1al-analogica/m-p/3662057#M32735>

comunes y fáciles de trabajar, de esto se concluye que el cobre se adapta a las condiciones necesarias para conducir corriente eléctrica, promoviendo así el flujo de corriente<sup>78</sup>. A continuación, se muestran los valores promedios de voltaje, intensidad de corriente y temperatura, además del valor de voltaje máximo obtenido del desarrollo de las pruebas previamente enunciadas.

**Tabla 4.** Datos obtenidos a partir de las pruebas realizadas con *Escherichia coli*.

<b>Prueba</b>	<b>Concentración de mediador (M)</b>	<b>Voltaje Promedio (mV)</b>	<b>Voltaje máximo (mV)</b>	<b>Intensidad Promedio (μA)</b>	<b>Temperatura promedio (°C)</b>
4	-	354,3	658,2	140,436	40,33
5	0,0001	531,4	747,0	202,251	37,43
6	0,0003	614,8	812,1	222,754	38,32

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 5.** Datos obtenidos a partir de las pruebas realizadas con *Pseudomonas aeruginosa*.

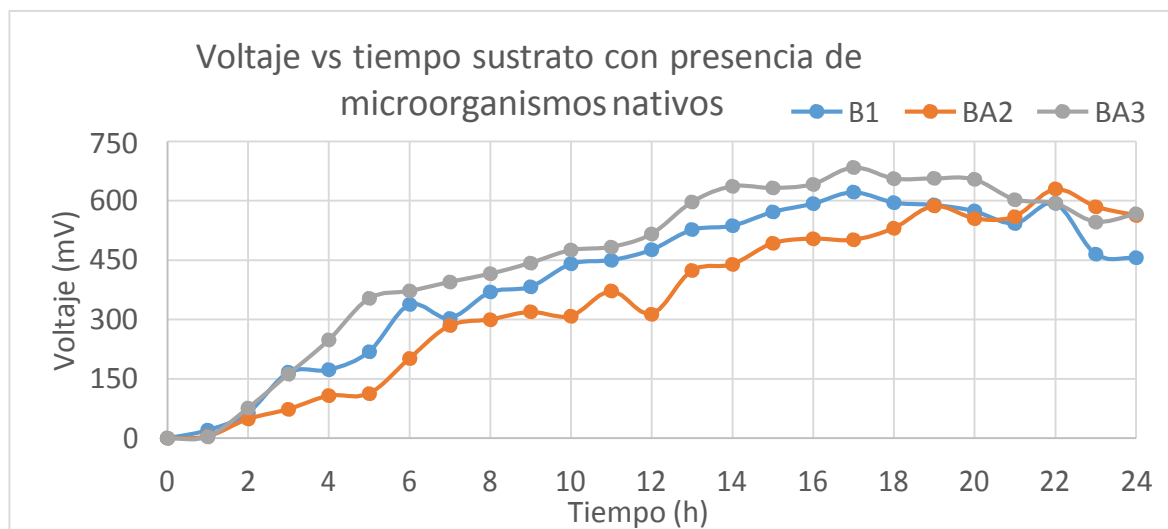
<b>Prueba</b>	<b>Concentración de mediador</b>	<b>Voltaje Promedio (mV)</b>	<b>Voltaje máximo (mV)</b>	<b>Intensidad Promedio (A)</b>	<b>Temperatura promedio (°C)</b>
7	-	616,5	828,1	226,53	41,83
8	0,0001	632,2	906,5	232,33	40,76
9	0,0003	240,1	430,3	88,218	41,23

Fuente: elaboración propia.

A continuación, se muestran las gráficas del comportamiento del voltaje a través del tiempo de las nueve pruebas realizadas con el fin de determinar bajo qué condiciones se da la mayor tasa de generación de energía, con el fin de realizar posteriormente, la repetición de cada una de ellas.

<sup>78</sup> NILSSON, James W and RIEDEL, Susan A. Circuitos Eléctricos; Séptima ed. Madrid. España: Pearson educación, S.A., 2005.

**Gráfica 1.** Voltaje vs tiempo para el sustrato con presencia de microorganismos nativos.

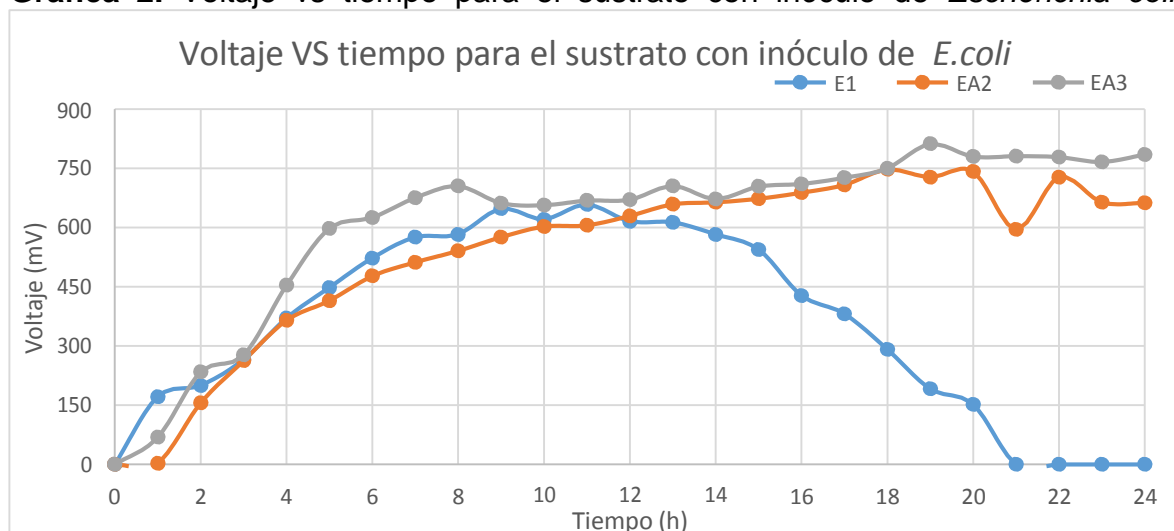


Fuente: elaboración propia.

Donde:

- B1: corresponde a la prueba experimental del sustrato sin presencia de mediador
- BA2: corresponde a la prueba experimental del sustrato sin inóculo externo con concentración de mediador de 0,0001M
- BA3: corresponde a la prueba experimental del sustrato sin inóculo externo con concentración de mediador de 0,0003M

**Gráfica 2.** Voltaje vs tiempo para el sustrato con inóculo de *Escherichia coli*.

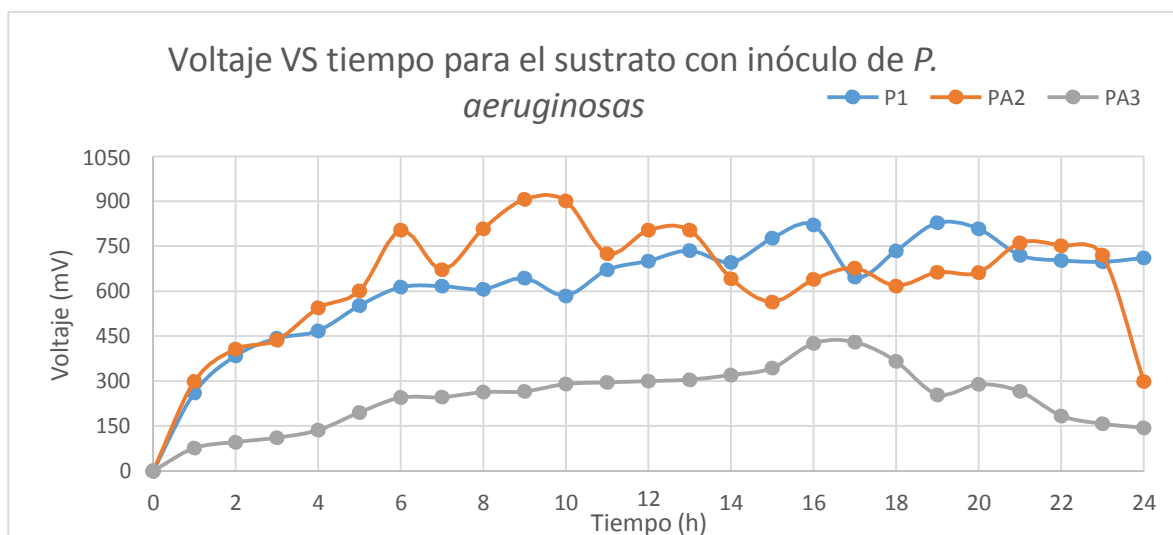


Fuente: Elaboración propia.

Donde:

- E1: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *E. coli* sin presencia de mediador
- EA2: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *E. coli* con concentración de mediador de 0,0001M
- EA3: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *E. coli* con concentración de mediador de 0,0003M

**Gráfica 3.** Voltaje vs tiempo para el sustrato con inóculo de *Pseudomonas aeruginosa*.



Fuente: Elaboración propia.

Donde:

- P1: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *E. coli* sin presencia de mediador
- PA2: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *Pseudomonas aeruginosa* con concentración de mediador de 0,0001M
- PA3: corresponde a la prueba experimental del sustrato con inóculo externo de *Pseudomonas aeruginosa* con concentración de mediador de 0,0003M

Al observar el comportamiento del voltaje generado durante la prueba, se aprecia en las gráficas 1, 2 y 3 que la generación del voltaje aumenta constante en las primeras horas, evidenciándose que a medida que el microorganismo se adapta al medio, a su vez, transforma la energía química contenida en el sustrato, en energía eléctrica<sup>79</sup>. A partir de la hora quince (15) del experimento las gráficas 2 y 3,

<sup>79</sup> REVELO, Dolly M, *et al.* Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materias Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. [1]: Centro de Información Tecnológica, 2013. 17-28

específicamente en las corridas E1 y PA2, presentan picos que registran una disminución y un aumento de voltaje significativos, en la corrida E1 tuvo una variación de 150Mv y en la corrida PA2 se observaron variaciones de 250Mv; esto se debe a varias causas, una de las principales en los gradientes de pH, que se dan por las reacciones anódicas que generan acidificación en el medio por la producción de protones. Dicha reacción genera una caída en el pH, ocasionando una inhibición del crecimiento microbiano, que afecta el flujo de cargas a través del circuito; o debido a que las reacciones catódicas al consumir protones, producen alcalización en la cámara, permitiendo un aumento en el pH, lo que reduce la cantidad de protones y por consiguiente, disminuye la eficiencia en la que se reduce el oxígeno generando pérdidas de voltaje.<sup>80</sup> Otras posibles causas pueden ser los cambios en el ambiente o errores de medición por el dispositivo Arduino, siendo hasta ahora, la sexta corrida (EA3) la más estable de todas ya que no presenta variaciones significativas en las medidas.

Con base a los datos experimentales obtenidos, en la prueba 9 (PA3), fue posible observar que hay una disminución del voltaje promedio en comparación a la prueba 7 (P1) de un 61,05% debido a que dentro de la cámara anódica el sobre de anaerobiosis, el encargado de reducir la concentración de oxígeno dentro de la cámara anódica, cayó sobre el sustrato donde este pudo generar una inhibición en el crecimiento de las *Pseudomonas aeruginosa*, ya que este sobre está compuesto por carbonato inorgánico, carbón activado, ácido ascórbico y agua; según la revisión bibliográfica, el ácido ascórbico es usado junto con compuestos nitrados como inhibidor del crecimiento microbiano, y también como reductor de pH. Para inhibir el crecimiento de las *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>81</sup>

En comparación con las dos primeras corridas de las cepas nativas mesófilas del sustrato empleado, y *Escherichia coli*, prueba 3 (BA3) y prueba 6 (EA3) respectivamente, a las que se les añadió una concentración de 0,0003M de azul de metileno, registraron un incremento en la generación de energía del 22,02% para las cepas nativas y del 42,37% para la *Escherichia coli*; por lo que se puede concluir que para los mesófilos nativos en el sustrato y especialmente para la *Escherichia coli* una concentración de 0,0003M, afecta positivamente la generación de energía eléctrica, ya que según lo reportado en la bibliografía, una concentración excesiva

---

<sup>80</sup> REVELO, Dolly M, *et al.* Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materias Orgánicas y la Generación de Energía Eléctrica. [1]: Centro de Información Tecnológica, 2013. 17-28

<sup>81</sup> PARDO, Gerardo and MENDEZ, Selvin. Evaluación del efecto del ácido ascórbico como inhibidor de pardeamiento enzimático en el fruto de anona pulpa rosada (*Annona diversifolia*) y en la cinetova de la Polifenoloxidasas. San Salvador: 2017

de azul de metileno o de cualquier mediador puede inhibir el crecimiento microbiano.  
82 83

La prueba 8 (PA2,) en la que se usó *Pseudomonas aeruginosa* con una concentración de azul de metileno de 0,0001M, presentó un aumento en la generación de energía aunque es un microorganismo capaz de generar su propio mediador, se ve favorecido por la presencia del azul de metileno. Teniendo en cuenta la bibliográfica consultada este proyecto no se encontró que para esta cepa se usaran mediadores exógenos además de las consideraciones de proyectos anteriores<sup>84</sup>, la concentración con la que las *Pseudomonas* segregan sus propios mediadores es relativamente baja, lo que puede deberse a que la cepa al no encontrarse en pH neutro no pueda segregar en grandes concentraciones, la molécula de piocianina.<sup>85</sup> En contraste, un mediador inorgánico a una concentración adecuada, favorece la transferencia de electrones. Esto se refleja al comparar los valores de voltaje promedios obtenidos en las pruebas 7 (P1) 0,6125V 8 (PA2) 0,6322V y 9 (PA3) 0,2401V.

Teniendo en cuenta que las pruebas con *Pseudomonas aeruginosa* dieron los mayores valores de voltaje y a excepción de la prueba 9, fueron presentaron la tendencia más inestable, la causa puede ser la adaptabilidad del microorganismo al sustrato.

### **3.2.2 Selección de las pruebas con mayor eficiencia en generación de energía**

**3.2.2.1 Análisis de diseño Anova.** Se realizó un diseño de bloques completamente aleatorizados para determinar si el efecto individual del mediador involucraba una mayor generación de energía, para cada 6 horas durante 24 horas se estableció

---

<sup>82</sup> MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Competition between *E. coli* and *Shewanella* sp. for electricity generation in air cathode MFC in presence of methylene blue as artificial mediator. En: ENVIRONMENTAL PROGRESS & SUSTAINABLE ENERGY. Mar. vol. 34, no. 4, p. 1097-1105

<sup>83</sup> 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. May.vol. 25, p. 42-50

<sup>84</sup> COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

<sup>85</sup> BRITIGAN, Bradley E., et al. Phenazine-1-carboxylic acid, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*, alters expression of immunomodulatory proteins by human airway epithelial cells. En: THE AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. Sep 1, vol. 285, no. 3, p. L584

un punto de muestra, Se usó este Anova porque al reducir el error experimental permite mayor precisión y a la vez permite agrupar las unidades experimentales en subconjuntos homogéneos.

Para el desarrollo del Anova se plantearon las siguientes hipótesis:

H1: una concentración de mediador representa una significancia en la generación de energía.

H2: la concentración de mediador no representa una significancia en la generación de energía.

El Anova realizado se evaluó para cada una de las cepas utilizadas, cuyos valores de voltaje analizados se encuentran consignados en las tablas 6, 8 y 10, mientras que los valores estadísticos propios de los cálculos se encuentran en las tablas 7, 9 y 11.

**Tabla 6.** Análisis Anova para el sustrato sin inóculo externo.

<b>Sustrato con cepas nativas</b>	<b>Hora 6 (V)</b>	<b>Hora 12 (V)</b>	<b>Hora 18 (V)</b>	<b>Hora 24 (V)</b>
Concentración 0	0,3385	0,4764	0,5956	0,456
Concentración 0,0001M	0,2019	0,3136	0,5307	0,56319
Concentración 0,0003M	0,419	0,6261	0,7156	0,567

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 7.** Tabla de datos para análisis Anova (Cepas nativas).

<b>Fuente de variación</b>	<b>SC</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>MC</b>	<b>F</b>
Influencia del mediador	0,06623169	2	0,03311584	6,15965025
Bloques	0,13798922	3	0,04599641	
Error	0,03225752	6	0,00537625	
Total	0,23647844	11		

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 8.** Análisis Anova para el sustrato con *Escherichia coli*.

<i>E. coli</i>	Hora 6 (V)	Hora 12 (V)	Hora 18 (V)	Hora 24 (V)
Concentración 0M	0,5224	0,615	0,2911	0
Concentración 0,0001M	0,4771	0,6294	0,747	0,6624
Concentración 0,0003M	0,6254	0,6704	0,7497	0,78493

Fuente: elaboración propia

**Tabla 9.** Tabla de datos para análisis Anova (*E. coli*).

Fuente de variación	SC	Grados de libertad	MC	F
Influencia del mediador	0,27056463	2	0,13528232	3,40101801
Bloques	0,04105721	3	0,01368574	
Error	0,23866204	6	0,03977701	
Total	0,55028389	11		

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 10.** Tabla de análisis Anova para el sustrato con *Pseudomonas aeruginosa*.

<i>P. aeruginosa</i>	Hora 6 (V)	Hora 12 (V)	Hora 18 (V)	Hora 24 (V)
Concentración 0M	0,6134	0,7007	0,735	0,7107
Concentración 0,0001M	0,8036	0,8036	0,6174	0,2989
Concentración 0,0001M	0,2448	0,2996	0,3659	0,1435

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 11.** Tabla de datos para análisis Anova (*Pseudomonas aeruginosa*)

Fuente de variación	SC	Grados de libertad	MC	F
Influencia del mediador	0,4271909	2	0,2135954	10,7703
Bloques	0,0860399	3	0,0286799	
Error	0,1189910	6	0,0198318	
Total	0,632221	11		

Fuente: elaboración propia.

Se eligió un valor de significancia de 5%, ya que este es ampliamente utilizado en los análisis estadísticos, y al ser un valor bajo, se infiere que el estudio realizado no es meramente al azar, sino que hay un factor influyente.

Según el valor de significancia y los grados de libertad se estableció que el valor de distribución es de 5,14, por lo que en el sustrato con cepas nativas y en las *Pseudomonas aeruginosa*, la concentración de mediador no es la única que influye en la generación de mayor cantidad de energía eléctrica. Siendo únicamente el factor influyente en la generación de energía, para la *Escherichia coli*.

Del resultado obtenido en cada Anova, los montajes con *E. coli* son los únicos en los que al usar un mediador artificial, se favorece la transferencia de electrones, en el caso de los montajes donde el sustrato no se inocula y el inoculado con *Pseudomonas aeruginosa* este no es un factor único e influyente, porque normalmente la transferencia de electrones de las bacterias electroquímicamente activas, se da por medio de proteínas de membrana como los *citocromos tipo c* ó de conductos proteicos denominados *Pili* que sirven como nano conductores.<sup>86</sup>

La *E. coli* al ser un microorganismo no electroquímicamente activo, necesita la presencia de un mediador exógeno (azul de metileno) para que se dé la transferencia de electrones.<sup>87</sup> Según la revisión bibliográfica, el azul de metileno posee la facilidad de atravesar la membrana celular y tomar los electrones, y luego depositarlos sobre la superficie del ánodo; a parte, el azul de metileno tiene una alta velocidad de reacción con el electrodo, y a su vez, una buena solubilidad con el anolito, que es esencial en un mediador.<sup>88</sup> De igual forma una alta concentración de mediador no siempre es buena, en la bibliografía se ha reportado el problema de los mediadores sintéticos, entre ellos tintes que pueden llegar a inhibir al microorganismo, afectando negativamente la generación de energía.<sup>89</sup>

El análisis Anova aplicado para las *Pseudomonas aeruginosa*, demuestra la hipótesis de que la concentración de mediador no es un factor influyente en la generación de energía al hacer uso de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*, ya que es una bacteria capaz de generar sus propios mediadores.<sup>90</sup> Al adicionar

---

<sup>86</sup> REVELO, Dolly M, et al. Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. [1]: Centro de Información Tecnológica, 2013. 17-28

<sup>87</sup> MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Competition between *E. coli* and *Shewanella* sp. for electricity generation in air cathode MFC in presence of methylene blue as artificial mediator. En: ENVIRONMENTAL PROGRESS & SUSTAINABLE ENERGY. Jul.vol. 34, no. 4, p. 1097-1105

<sup>88</sup> REVELO, op cit.

<sup>89</sup> ROSDIENI, Desi, et al. Preliminary Investigation of Electricity Production Using Dual Chamber Microbial Fuel Cell (DCMFC) with *Saccharomyces cerevisiae* as Biocatalyst and Methylene Blue as an Electron Mediator; En: MICROBIOLOGY NEWSLETTER. vol. 37, no. 4, p. 33

<sup>90</sup> KORNEEL Rabaey, et al. Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. En: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Sep 1, vol. 70, no. 9, p. 5373-5382

concentraciones de azul de metileno de 0,0001M y de 0,0003M en el dispositivo se generaron voltajes promedio de 632,3 mV y 430 mV respectivamente, se encontró la adición de un mediador y en comparación a trabajos anteriores con las mismas concentraciones de mediador se generaron voltajes de 417,12 mV y 308,12 mV,<sup>91</sup> al comparar los valores obtenidos con los de proyectos anteriores se puede observar que una concentración de 0,0001M para esta cepa favorece el intercambio de electrones lo que se traduce en una mayor producción de energía eléctrica los valores de voltaje para la prueba 8 se pueden observar en el anexo c, y concentraciones superiores a estas pueden actuar como inhibidores ya que la prueba 9 se obtuvieron valores de voltaje promedio menores (430,3 mV) a las pruebas 7 (616,5 mV) y 8 (632,3 mV).

Al finalizar las 9 corridas experimentales, y para determinar las mejores condiciones de operación variando la concentración de mediador, operando a temperaturas entre 37°C y 42°C el cual fue el rango de temperaturas apta para las cepas acorde con la bibliografía. Igualmente se tuvieron en cuenta las cepas utilizadas, y cuál de ellas se adaptaron al sustrato y generaron valores altos de energía eléctrica. Los resultados del análisis estadístico realizado para determinar las 3 mejores pruebas. También se tuvieron en cuenta, los cálculos en términos de potencia, densidad de potencia y densidad de corriente, con el determinar las pruebas con la mayor generación de energía.

**Muestra de cálculo de potencia, densidad de potencia, potencia volumétrica y densidad de corriente.** A continuación, se mostrará el procedimiento de cálculo de cada uno de los parámetros indicadores de rendimiento eléctrico para la pila de combustible microbiana, tomando como base la experimentación del sustrato con la *E. coli* como inóculo externo sin presencia alguna de mediador, correspondiendo a la prueba número 4 (E1).

**Calculo de Potencia:** de acuerdo con la ecuación 4 se realizó el cálculo de la potencia generada por el dispositivo en la experimentación del sustrato con la *E. coli* como inóculo externo.



$$\text{Potencia} = 0,3543\text{V} * 1,3018 * 10^{-4} \text{ A} = 4,6124 * 10^{-5} \text{ W}$$

**Calculo densidad de potencia:** de acuerdo con el inciso 2.2.2 donde se indica las dimensiones de los electrodos, el área para el electrodo en la cámara anódica es igual a  $7.36 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ .

---

<sup>91</sup> COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

$$\begin{aligned}
 & \frac{4,6124 * 10^{-5}}{7,36 * 10^{-3}} = 6,2668 * 10^{-3}
 \end{aligned}$$

**Calculo densidad de corriente:**

**Ecuación 7. Densidad de corriente.**

$$\begin{aligned}
 & \frac{1,3018 * 10^{-4}}{7,36 * 10^{-3}} = 0,01768 \text{ A/m}^2
 \end{aligned}$$

Los cálculos obtenidos mediante las ecuaciones previamente descritas se encuentran en los anexos A, B, C, los valores promedio para cada una de las 9 pruebas experimentales, así como sus respectivos valores de potencia, densidad de potencia y densidad de corriente, se encuentran consignados en la tabla 12.

**Tabla 12.** Valores promedio del cálculo de energía para el sustrato sin inóculos externos.

Prueba	Microorganismo	Concentración de mediador	Voltaje Promedio (mV)	Potencia (W)	Densidad de potencia (W/m <sup>2</sup> )	Densidad de corriente (I/m <sup>2</sup> )
1	Sustrato (Cepas nativas)	-	402,9	9,9828E-05	0,01356	0,02718
2	Sustrato (Cepas nativas)	0,0001	352,9	9,2047E-05	0,01251	0,02547
3	Sustrato (Cepas nativas)	0,0003	491,6	0,00012405	0,01685	0,02916
4	<i>Escherichia coli</i>	-	354,3	7,1740E-05	0,00975	0,01908
5	<i>Escherichia coli</i>	0,0001	531,4	0,00012584	0,01710	0,027478
6	<i>Escherichia coli</i>	0,0003	614,8	0,00015336	0,02084	0,030265
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	616,5	0,00015208	0,02050	0,030603
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0001	632,3	0,000162315	0,02205	0,031367
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0003	430,3	6,80342E-05	0,0092	0,021482

Fuente: elaboración propia.

De los resultados obtenidos se observa que la pruebas (3 y 6) muestran un flujo mayor de electrones al tener densidades de corriente 0,02946 y 0,03026 A/m<sup>2</sup> y una densidad de potencia de 0,01685 y 0,02083 W/m<sup>2</sup>. A pesar de que el mediador no es el único factor influyente en una mayor generación de energía, según el análisis anova para la pruebas 3 y 6, una concentración de 0,0003 M favorece o influencia en cierta parte el aumento de energía en términos de voltaje e intensidad de corriente, por lo cual si se mira desde el punto de vista de las ecuaciones de densidad de potencia y corriente un aumento en la intensidad de corriente se define como un aumento de las densidades de potencia y corriente, otra variable de estas ecuaciones es el área del electrodo empleado, pero eso no significa que un área mayor o menor de electrodo influya de manera directa o significativamente la potencia eléctrica generada por el dispositivo, debido que dicha potencia se ve afectada por la carga orgánica del sustrato, la virulencia del microorganismo y la velocidad de las reacciones en las que se ve involucrada la transferencia de electrones desde la membrana del microorganismos hacia la superficie del electrodo.<sup>92</sup> Pero aun así un área menor o mayor puede inferir de cierta forma la velocidad y como se distribuyen los electrones a través del circuito y superficie del electrodo.<sup>93</sup>

La otra prueba que presentó la mayor producción en términos voltaje (632,3mV), potencia (0,162315mW) y densidades de potencia (0,02205W/m<sup>2</sup>) y corriente (0,031367 A/m<sup>2</sup>) es la prueba 8, en esta prueba se evidencia que la distribución de los electrones sobre la superficie del electrodo y la velocidad con la que fluyen los electrones a través del circuito de la pila, no solo se ven favorecidas por: la capacidad de la bacteria en generar sus propios mediadores, que temperatura con la que se operó la octava corrida fue cercana a la óptima, el aumento de energía se vio influenciado por la concentración de 0,0001M de azul de metileno, como se mencionó anteriormente el mediador puede tener afinidad con la bacteria promoviendo la generación de energía eléctrica, aclarando que la concentración de mediador, no es un factor único y significativo influyen la producción de energía eléctrica.

Para la selección de las pruebas a las cuales se les va a realizar una repetición experimental, se tuvo en cuenta los valores obtenidos de voltaje durante la experimentación y los indicadores de energía de la PCM, para las pruebas realizadas con cada cepa, además de una vez finalizado el análisis estadístico y haber calculado indicadores se encontró lo siguiente:

---

<sup>92</sup> 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. May.vol. 25, p. 42-50

<sup>93</sup> PINEDA MARÍN, Ana del Pilar and ROSAS TAFUR, Martha Lizeth. Estado del arte en celdas de combustible microbianas (CCM) para producción de bioenergía. [1]

Para el sustrato con cepas nativas y para las *Pseudomonas aeruginosa* se encontró que el mediador no es significativo en la generación de voltaje, pero una adecuada concentración de mediador puede favorecer en cierta parte un aumento de energía por ello la pruebas que valen la pena ser replicadas son las pruebas 1 (B1), ya que los microorganismos mesófilos presentes en el agua pueden generar resultados apreciables sin el uso de un mediador exógeno. La prueba 8 (PA2), la cual se repetirá con la adición de 0,0001M, a pesar de que se dijo anteriormente que para esta cepa la concentración de mediador no es un factor significativo, se hará su repetición experimental por las siguientes razones; la primera debido a que fue la prueba experimental con la mayor generación de energía eléctrica, y la segunda razón es que se desea realizar una comparación de los datos obtenidos en proyectos anteriores. Y finalmente para la *Escherichia coli* la prueba 6 (EA3), en la cual se usó una concentración de azul de metileno de 0,0003M, debido a que de las tres cepas utilizadas esta bacteria es la única en la cual la adición de un mediador exógeno si es significativo en la producción de energía eléctrica.

### 3.3 MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA Y DISMINUCIÓN DE DQO DEL EXPERIMENTO QUE MEJOR SE ADAPTE A LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN

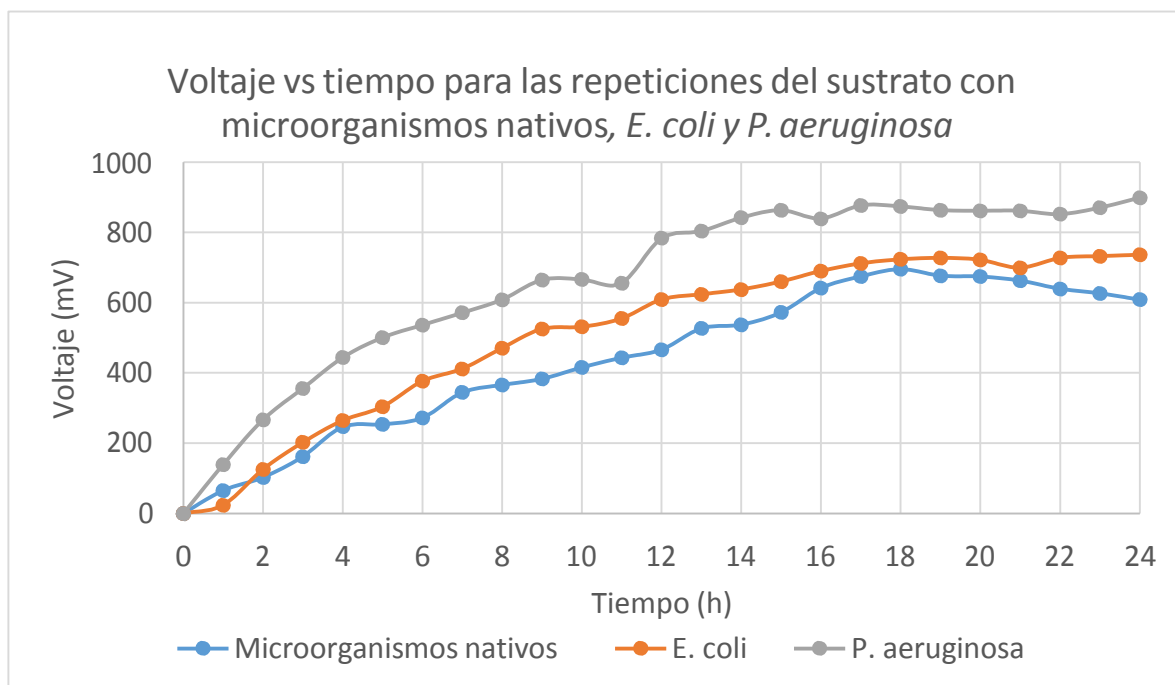
**3.3.1 Uso de modelo estadístico anova para determinar el si el tipo de cepa afecta la producción de energía.** Con el fin de seleccionar la prueba de mayor generación de energía, y siguiendo el diseño de experimentos establecido, y cumpliendo con el objetivo, se realizará un diseño de bloques completamente aleatorizado, pero esta vez, estudiando si el tipo de cepa tiene significancia en la generación de energía eléctrica. Los valores promedios de voltaje e intensidad de corriente se muestran en la tabla 13, además, la gráfica 4, donde se aprecia la generación de voltaje en función del tiempo de las repeticiones de las pruebas seleccionadas anteriormente.

**Tabla 13.** Resultados de las pruebas de repetición.

Prueba	Microorganismo	Concentración de mediador	Voltaje Promedio (mV)	Intensidad Promedio (μA)
<b>10 (RepB1)</b>	Sustrato (Cepas nativas)	-	442,304	162,52
<b>11 (RepEA3)</b>	<i>Escherichia coli</i>	0,0003M	511,704	188,02
<b>12 (RepPA2)</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0001M	659,992	2425,07

Fuente: elaboración propia

**Gráfica 4.** Voltaje vs tiempo para las repeticiones experimentales del sustrato con microorganismos nativos, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.



Fuente: elaboración propia.

Donde:

- RepB1: repetición de la prueba para el sustrato con cepas nativas sin presencia de mediador. (Prueba B1)
- RepEA3: repetición de la prueba para el sustrato con siembra de *E. coli* con concentración de mediador 0.0003 M.
- RepPA2: repetición de la prueba para el sustrato con siembra de *Pseudomonas aeruginosa* con concentración de mediador de 0.0001M

Al finalizar las 3 repeticiones, se observó que efectivamente, en el sustrato sin inocular la adición de un mediador no genera significancia en la generación de voltaje, porque se puede afirmarse que los microorganismos mesófilos presentes en el sustrato, además de cumplir con sus actividades metabólicas en condiciones anaerobias, pueden generar sus propios mediadores mediante sus rutas metabólicas, es decir, son electroquímicamente activas y poseen mecanismos que

les permiten realizar el transporte de electrones.<sup>94,95</sup> Teniendo en cuenta que los

microorganismos presentes en el sustrato están en una concentración de  $1,05 \times 10^3$  UFC/mL de sustrato, la cual es mucho menor a comparación de las dos cepas inoculadas en las cuales se utilizó un factor de McFarland de dos, el cual equivale a  $6 \times 10^8$  UFC/mL de medio de cultivo. Por lo cual no es posible realizar una comparación detallada entre cepas ya que al estar a una menor concentración de

unidades formadores de colonia/mL de sustrato, además dentro del conjunto de microorganismos nativos del sustrato pueden darse interacciones negativas; como una competencia por un mismo recurso es decir un nutriente esencial para el crecimiento de dichas cepas,<sup>96</sup> u otra posible causa es el amensalismo en donde un microorganismo puede llegar a inhibir el crecimiento de otros una vez empiece a colonizar el medio<sup>97</sup>, como se observa en la mayoría de las gráficas de generación de voltaje vs tiempo son las que presentan los valores más bajos de voltaje (442,304mV) aun con la adición de azul de metileno para favorecer la transferencia

de electrones, lo cual se puede deber a la baja concentración ( $1,05 \times 10^3$  UFC/mL) de microorganismos nativos, que el agua residual de la industria de cervecería artesanal es un sustrato completo y que se pueden dar interacciones negativas entre las cepas nativas.

En cuanto, a la *Escherichia coli* el efecto de un mediador exógeno favorece la producción de energía, y si se inoculará la cepa por sí sola sin la adición del azul de metileno se obtendría una menor generación de energía, además, porque la *E. coli* es un microorganismo que desarrolla varios tipos de moléculas conocidas como antígenos, que pueden ser generados por el microorganismo por medio de un metabolismo o externamente por la presencia de sustancias exógenas que le permiten al microorganismo usarlas como mecanismos de protección, la *Escherichia coli* en particular produce el antígeno k que recubre la superficie de la célula con una red de polímeros compuesta por polisacáridos, la cual protege a la célula de sustancias patógenas. El inconveniente de que esta cepa sintetice esta cápsula, es

---

<sup>94</sup>MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009.

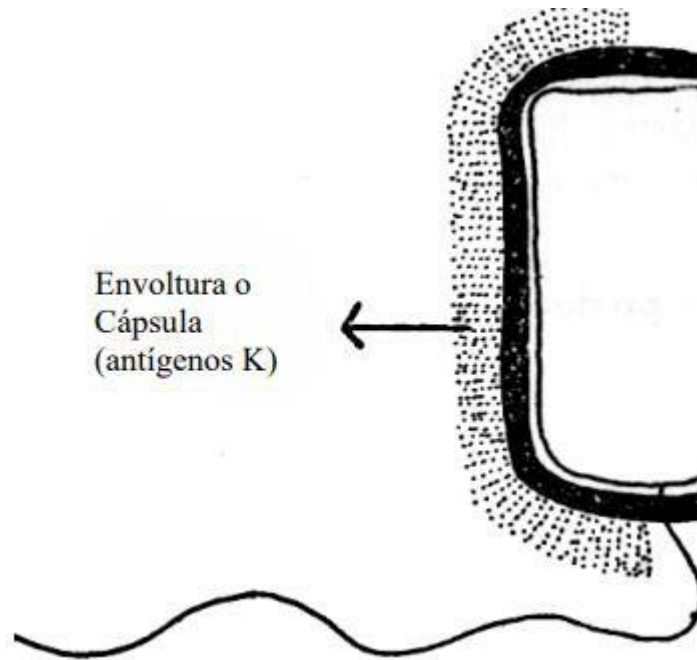
<sup>95</sup> KORNEEL Rabae y, et al. Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. En: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Sep 1, vol. 70, no. 9, p. 5373-5382

<sup>96</sup> CARMONA QUINTERO, Daniel Felipe; MORENO GORDON, Luisa Fernanda and REYES ÁLVAREZ, Juan Camilo. INTERACCIONES ENTRE POBLACIONES MICROBIANAS, Nov 11, 2014

<sup>97</sup> Ibid

que puede llegar a dificultar la transferencia de electrones limitando la cantidad de electrones que puedan pasar a través de la membrana celular.<sup>98,99</sup>

**Figura 5.** Esquema de encapsulación de la *Escherichia coli*.



FUENTE: M.V.Z. and M.S. J. LÓPEZ-ÁLVAREZ. *Escherichia coli*: mecanismos de patogenicidad. [1]

Finalmente, la *Pseudomona aeruginosa*, fue la cepa que generó mayor cantidad de energía tanto en las pruebas preliminares como en la repetición de la prueba 8, lo que permite concluir que este tipo de microorganismos son ideales para las pilas de combustible, porque al igual que la *E. coli* pueden adaptarse a una gran variedad de sustratos, y lo más relevante es que producen sus propios mediadores.

Con el fin de estudiar y determinar si el tipo de cepa afecta de manera significativa la generación de voltaje, se realizó un anova de diseño de bloques aleatorizado

<sup>98</sup> M.V.Z. and M.S. J. LÓPEZ-ÁLVAREZ. *ESCHERICHIA COLI: MECANISMOS DE PATOGENICIDAD*. [1]

<sup>99</sup> MOLINA, José. Factores de patogenicidad bacteriana. [Print(0)]. [Consultado el 28 de noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/patogenicidad.html>

completamente, y teniendo como único factor el tipo de cepa utilizado, se seleccionó un nivel de significancia del 5% y se utilizaron las siguientes hipótesis:

H1:  $\mu_1 = \mu_2$  El tipo de cepa utilizada no genera diferencia significativa en la producción de voltaje

H2:  $\mu_1 \neq \mu_2$  El tipo de cepa utilizada genera diferencia significativa en la producción de voltaje

Para realizar el análisis estadístico se toman en cuenta los valores de voltaje obtenidos, los cuales se presentan en la tabla 14. Así mismo, en la tabla 15 se presentan los datos estadísticos con los cuales se determinará la validez de las hipótesis.

**Tabla 14.** Tabla de análisis Anova para las repeticiones experimentales.

Tipo de microorganismo	Hora 6 (V)	Hora 12 (V)	Hora 18 (V)	Hora 24 (V)
Cepas nativas	0,2719	0,4661	0,6956	0,6087
<i>E. coli</i>	0,3771	0,6094	0,7234	0,7364
<i>P. aeruginosa</i>	0,5363	0,7836	0,3659	0,8989

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 15.** Tabla de datos para análisis Anova (Repeticiones).

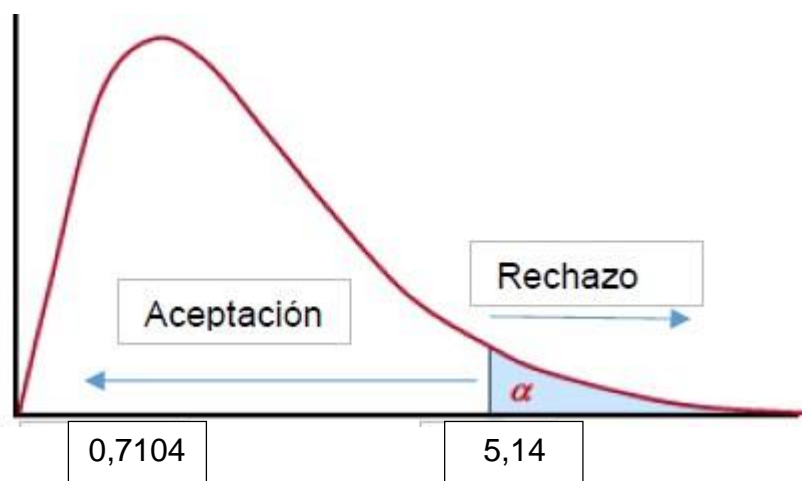
Fuente de variación	SC	Grados de libertad	MC	F
Influencia del tipo de cepa	0,039714	2	0,0198570	0,710483
Bloques	0,191566	3	0,06385552	
Error	0,167691	6	0,02794858	
Total	0,398972	11		

Fuente: elaboración propia.

F Tablas = 5,14

F<sub>[0,05; 3,4]</sub> = 0,7104

**Figura 6.** Zonas de rechazo y aceptación para hipótesis planteadas.



Dado el resultado del Anova, el tipo de cepa no es un factor decisivo en la generación de energía, por lo que una mayor generación de energía, puede darse por factores como la configuración de la PCM, es decir tamaño de los electrodos material, si el tipo de sustrato implementado, contiene las condiciones nutricionales y ambientales requeridas por el microorganismo a utilizado; también, el tipo de material y dimensiones utilizadas en la resistencia externa, son factores que influyen directamente en la eficiencia del dispositivo.<sup>100,101</sup>

**3.3.2 Selección del experimento con mayor producción de energía.** Una vez **finalizado** el análisis anova, se determinó que tanto el tipo de cepa como la concentración de mediador, no son factores que influyen individualmente en la generación de energía, por lo tanto, se ve afectada por ambos factores combinados, y también de otros factores como; las dimensiones de la PCM, materiales empleados, condiciones de operación y sustrato empleado.

De acuerdo con datos experimentales se encontró que la mejor configuración fue la de la prueba 12 (RepPA2), en la que se utilizó una concentración de azul de metileno de 0,0001M y la cepa empleada fue la *Pseudomona aeruginosa*, ya que al comparar

<sup>100</sup> RAMÍREZ, MATEO, et al. Aplicación de la tecnología de Pilas de Combustible Microbianas en depuración de aguas de origen urbano e industrial con producción simultánea de energía eléctrica. [1]:

<sup>101</sup> HERNANDEZ-FERNANDEZ, Francisco José, et al. Montaje y estudio de una pila de combustible microbiana para la producción de electricidad con depuración simultánea de aguas residuales. En: II JORNADA SOBRE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS Y LAS INGENIERÍAS. p. 1-9.

los valores de voltaje promedio con los de su prueba original (632,3mV) con el valor de la réplica que fue de (659,9mV) además de comparar con los valores entre las demás réplicas, se obtuvieron voltajes promedio para el sustrato con cepas nativas sin presencia de mediador (442,3mV) y para las cepas de *E.coli* con una concentración de mediador de 0,0003M (511,7mV) por lo cual la cepa que aprovecho con mayor eficiencia la carga orgánica del sustrato fue la *P. aeruginosa* y a su vez esta cepa se ve beneficiada por una concentración de 0,0001M.

**3.3.3 Disminución de DQO.** El experimento que presentó los valores más altos de voltaje en comparación a las otras pruebas que se replicaron fue la prueba 12 con un voltaje promedio de (659,992Mv), en el cual se utilizó la cepa *Pseudomonas aeruginosa* con una concentración de azul de metileno de 0,0001M, el objetivo es el de analizar la reducción de materia orgánica presente en el sustrato empleado, por medio de la acción bacteriana de la cepa mediante la PCM.

Al finalizar la prueba experimental se tomó una muestra de 500mL, la que se procedió llevar al laboratorio “Biopolab”. El informe o resultado de la determinación de la demanda química de oxígeno se encuentra en el anexo H.

En la tabla 16 se encuentra el valor inicial de DQO del sustrato antes de iniciar ser inoculado con la cepa *Pseudomonas aeruginosa*, y el valor que al final de la operación de la PCM.

**Tabla 16.** Tabla resultados de la Demanda química de oxígeno (DQO)

Muestra	Contenido	DQO (mg/L O <sub>2</sub> )
1	Sustrato proveniente de la industria de cervecería artesanal	56387
2	<i>P. aeruginosa</i> , Azul de metileno 0,0001 M	51673

Fuente: elaboración propia.

De acuerdo al resultado de DQO de la prueba 12, se observa que, si hubo remoción de la materia orgánica de 8,36% presente en el sustrato por la acción bacteriana de la *P. aeruginosa*, dicho resultado se encuentra registrado en la tabla 17

**Tabla 17.** Tabla reducción de la Demanda química de oxígeno (DQO) por medio de la acción bacteriana de la *Pseudomona aeruginosa*.

Muestra	Contenido	Reducción DQO (mg/L O <sub>2</sub> )	% Reducción DQO	Tiempo (Días)
2	<i>P. aeruginosa</i> , Azul de metileno 0,0001 M	4714	8,36	1

Fuente: elaboración propia.

Dado que el tiempo de operación fue de 24 horas y el agua residual de la industria cervecera es un sustrato complejo, ya que de acuerdo a la revisión bibliográfica las aguas residuales de este tipo y la mayoría de las aguas residuales provenientes de las actividades industriales, están constituidas principalmente de proteínas entre (40 – 60%), carbohidratos (25 – 50%) y grasas o aceites entre un (8 – 12%), por lo cual las hace un sustrato complejo<sup>102</sup>, estos valores dependen del tipo de materias primas utilizadas para la elaboración de la malta y las variaciones de las variables de operación.<sup>103</sup> Además las bacterias van a usar primero los compuestos más fáciles de degradar como los son los carbohidratos en especial la glucosa, al tener en cuenta el periodo de operación fue corto y la complejidad del sustrato, no era posible esperar que el microorganismo removiera una gran cantidad de materia orgánica, aun así se observó una remoción del 8,36% por lo cual la cepa *P. aeruginosa* si es capaz de reducir la carga orgánica de sustratos complejos como lo es el agua residual de la industria cervecera. Cabe resaltar que dado el tiempo de operación de la pila, no hay absoluta certeza de que la remoción de materia orgánica fuera efectiva.

<sup>102</sup> PELLIZZARI, *et al.* DEGRADACIÓN DE ARSÉNICO POR *Pseudomonas aeruginosa* PARA BIOREMEDIACIÓN DE AGUA. ESTUDIO PRELIMINAR; [0]:2014. ISBN 0718-8706.

<sup>103</sup> LU, Mengqian, *et al.* Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. En: JOURNAL OF POWER SOURCES. Jul 15, vol. 356, p. 274-287

#### 4. CONCLUSIONES

- Se determinó que el agua residual proveniente de la industria de cerveza artesanal puede ser utilizada como sustrato para la operación de una pila de combustible microbiana, de acuerdo a los valores obtenidos de pH (4,74), DQO (56.387 mgO<sub>2</sub>/L), sólidos totales (1.552 mg/L), sólidos suspendidos totales (673 mg/L) y conductividad (1.529  $\mu$ S/cm). De igual manera se corroboró la existencia de microorganismos mesófilos nativos en el agua residual, los cuales pueden poseer la capacidad de generar energía eléctrica.
- Se estableció que la generación de voltaje varía según la cepa utilizada y de cómo esta se adapta al sustrato, teniendo en cuenta esto, se determinó que para los microorganismos mesófilos nativos presentes en el sustrato y las *Pseudomonas aeruginosa*, la adición de un mediador exógeno a concentraciones de 0,0001M y 0,0003M, no representa una significancia en los resultados de generación de voltaje registrados, obteniendo los mayores valores de voltaje promedio de 402,9 mV y 616,5mV, respectivamente. En cambio, en la experimentación con *Escherichia coli*, la concentración de mediador de 0,0003M favoreció la generación de energía eléctrica, teniendo un valor de voltaje promedio de 614,8 mV.
- Se realizó la medición del voltaje generado por las pruebas de repetición con las mejores condiciones de operación para cada microorganismo, la cual mostró consistencia con las pruebas experimentales realizadas anteriormente, obteniendo valores de voltaje promedio de 442,304 mV para el sustrato con cepas nativas, 511,704 mV para el sustrato con inóculo de *E. coli* y de 659,992 mV para el sustrato con inóculo de *Pseudomonas aeruginosa*, demostrando que este último fue el microorganismo que mejor se adaptó a la naturaleza del medio utilizado. En este último experimento, se realizó la prueba de determinación de DQO, en la que existió una remoción del 8,36% equivalente a 4714 mg O<sub>2</sub>/L con respecto al valor de esta propiedad al inicio de las pruebas.

## 5. RECOMENDACIONES

Con el propósito de dar continuación y profundizar en el tema de las pilas de combustible microbianas, se plantearon las siguientes recomendaciones con el fin de que en futuros proyectos se tengan en cuenta los siguientes factores:

- Al hacer usos de sustratos complejos como las aguas residuales provenientes de la industria, es importante identificar los componentes orgánicos presentes en dichos sustratos.
- Hacer uso de medios de cultivo selectivos con el fin de identificar específicamente que los tipos de microorganismos nativos presentes en las aguas residuales provenientes de las actividades industriales utilizadas como sustrato.
- Utilizar sustancias reguladoras de pH, con el fin de que el sustrato empleado proveniente de la industria facilite el crecimiento de las cepas empleadas.
- Establecer un diseño de experimentos con una mayor cantidad de repeticiones, con la finalidad de obtener datos más consistentes y analizar más detalladamente el efecto de cada factor implicado en el diseño de experimentos establecidos y en la operación del dispositivo.
- Establecer tiempos de operación mayores a 48 horas, ya que se encontró en la bibliografía que tiempos de operación prolongados permiten ver un mejor comportamiento de la generación de energía y la reducción de DQO
- Observar el efecto y la influencia en la generación de energía eléctrica, al utilizar materiales más conductivos y variar las dimensiones de los electrodos y la resistencia externa.

## BIBLIOGRAFÍA

BERMUDEZ, María y BERNAL, Erika. Implementación De Una Celda De Combustible Microbiana a Escala Laboratorio Para La Generación De Energía Eléctrica. Bogotá, Colombia: Fundación Universidad de América, 2017.

BRITIGAN, Bradley E., et al. Phenazine-1-carboxylic acid, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*, alters expression of immunomodulatory proteins by human airway epithelial cells. En: THE AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. Sep 1, vol. 285, no. 3, p. L584

CARMONA QUINTERO, Daniel Felipe; MORENO GORDON, Luisa Fernanda and REYES ÁLVAREZ, Juan Camilo. INTERACCIONES ENTRE POBLACIONES MICROBIANAS, Nov 11,2014

COLMENARES VALERO, Leonardo and WITTINGHAM PUENTES, David Fernando. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Universidad de América, 2017.

CONTRERAS, Ramón. *Pseudomonas aeruginosa* | La guía de Biología. [0]. Febrero 10, Disponible en: <https://biologia.laguia2000.com/microbiologia/pseudomonas-aeruginosa>

COOPER, Geoffrey. La célula; Sexta ed. España: MARBÁN, 2014.

REVELO, Dolly M, et al. Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materias Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. [1]: Centro de Información Tecnológica, 2013. 17-28

Eliminar el ruido en Arduino, controla los factores que lo producen. [1]. [Consultado el May 22,2018]. Disponible en: <https://programarfacil.com/podcast/eliminar-el-ruido-en-arduino/>

Filtrar ruido de una señal analógica. [1]. [Consultado el May 22,2018]. Disponible en: <https://forums.ni.com/t5/Discusiones-sobre-Productos-NI/filtrar-ruido-de-una-se%C3%B1al-analogica/m-p/3662057#M32735>

FUNDACIÓN VASCA PARA LA SEGURIDAD AGROALIMENTARIA. Escherichia Coli. 2013.

HERNANDEZ-FERNANDEZ, Francisco José, et al. Montaje y estudio de una pila de combustible microbiana para la producción de electricidad con depuración

simultánea de aguas residuales. En: II JORNADA SOBRE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS Y LAS INGENIERÍAS. p. 1-9.

HUSSEIN, I.; MANSOUR, A. and BAHGAT, M. Metal electrodes and organic enrichment in doubled and single chambered Microbial Fuel Cell (MFC) for electricity generation. En: J BIOCHEM TECH. Jun 25, p. 554-560

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Bogotá D.C., Colombia. 23 de julio de 2008.

\_\_\_\_\_. Referencias bibliográficas. Contenido, forma y estructura. NTC 5613. Bogotá D.C., Colombia. 23 de julio de 2008.

\_\_\_\_\_. Referencias documentales para fuentes de información electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C., Colombia. 28 de octubre de 1998

KORNEEL Rabae y, et al. Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. En: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Sep 1, vol. 70, no. 9, p. 5373-5382

LI, He. Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. (December 2016).

LIZARAZO BECERRA, Jenny Milena and ORJUELA GUTIÉRREZ, Martha Isabel. Sistemas de plantas de tratamiento de aguas residuales en Colombia. 2013

LOGAN, Bruce. Microbial Fuel Cells [en línea]. John Wiley & Sons, Inc. Pennsylvania. Wiley-interscience, 2007.

LU, Mengqian, et al. Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. En: JOURNAL OF POWER SOURCES. Jul 15, vol. 356, p. 274-287

M.V.Z. and M.S. J. LÓPEZ-ÁLVAREZ. ESCHERICHIA COLI: MECANISMOS DE PATOGENICIDAD. [1]

MADIGAN, Michael, MARTINKO, John, DUNLAP, Paul V. Brock Biología de los microorganismos; Doceava ed. España: PEARSON, 2009.

MAVRODI, Dmitri V, et al. Functional Analysis of Genes for Biosynthesis of Pyocyanin and Phenazine-1-Carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. En: JOURNAL OF BACTERIOLOGY. Nov 1, vol. 183, no. 21, p. 6454-6465

MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Resolución 631 de 2015. (Mar 17,). 2015.

MIROLIAEI, Mohammad Reza, et al. Competition between *E. coli* and *Shewanella* sp. for electricity generation in air cathode MFC in presence of methylene blue as artificial mediator. En: ENVIRONMENTAL PROGRESS & SUSTAINABLE ENERGY. Mar. vol. 34, no. 4, p. 1097-1105

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. May.vol. 25, p. 42-50

MOLINA, José. Factores de patogenicidad bacteriana. [Print(0)]. [Consultado el 28 de noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/patogenicidad.html>

NANDY, Arpita; KUMAR, Vikash and KUNDU, Patit P. Effect of electric impulse for improved energy generation in mediatorless dual chamber microbial fuel cell through electroevolution of *Escherichia coli*. En: BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS. May 15, vol. 79, p. 796-801

NILSSON, James W and RIEDEL, Susan A. Circuitos Eléctricos; Séptima ed. Madrid. España: Pearson educación, S.A., 2005.

NUÑEZ, Esteve. Bacterias productoras de energía. En: ACTUALIDAD SEM. Junio.

PARDO, Gerardo and MENDEZ, Selvin. Evaluación del efecto del ácido ascórbico como inhibidor de pardeamiento enzimático en el fruto de anona pulpa rosada (*annona diversifolia*) y en la cinética de la polifenoloxidasas [0]: San Salvador: 2017

PELLIZZARI, *et al.* Degradación de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* para bioremediación de agua. Estudio preliminar; [0]:2014. ISBN 0718-8706.

PINEDA MARÍN, Ana del Pilar and ROSAS TAFUR, Martha Lizeth. Estado del arte en celdas de combustible microbianas (CCM) para producción de bioenergía. [1]

Prashant Pandey. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. En: Applied Energy 168 (January 2016); p. 706-723.

RAMÍREZ, MATEO, et al. Aplicación de la tecnología de Pilas de Combustible Microbianas en depuración de aguas de origen urbano e industrial con producción simultánea de energía eléctrica. [1]:

RODRIGUEZ M, Carlos Hernán. Demanda Química de Oxígeno por reflujo cerrado y volumetría. [0]: Bogotá D.C.: IDEAM, 2007.

ROSDIANTE, Desi, et al. Preliminary Investigation of Electricity Production Using Dual Chamber Microbial Fuel Cell (DCMFC) with *Saccharomyces cerevisiae* as Biocatalyst and Methylene Blue as an Electron Mediator; En: MICROBIOLOGY NEWSLETTER. vol. 37, no. 4, p. 33

SERWAY, Raymond A.; JEWETT, John W. and CERVANTES GONZÁLEZ, Sergio R. Física para ciencias e ingeniería. Vol. 2 (9a. ed.). México, D.F: CENGAGE Learning, 2015. 752-756 p.

TOTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L, Introducción a la microbiología; Novena ed. Argentina: panamericana, Julio 2007

VARELA, Gustavo. Fisiología y metabolismo bacteriano.

WANG, Yung-Fu, et al. Self-excreted mediator from *Escherichia coli* K-12 for electron transfer to carbon electrodes. En: APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. Oct. vol. 76, no. 6, p. 1439-1446

ZHANG, Tian, et al. A novel mediatorless microbial fuel cell based on direct biocatalysis of *Escherichia coli*. En: CHEMICAL COMMUNICATIONS (CAMBRIDGE, ENGLAND). Jun 4, no. 21, p. 2257

ZHUWEI, Du. HAORAN, Li. TINGYUE, Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. En: Biotechnology Advances 25. (May 2007); p. 464-482.

## **ANEXOS**

## ANEXO A

### RESULTADOS PRUEBAS EXPERIMENTALES PARA EL SUSTRATO CON MICROORGANISMOS NATIVOS Y AZUL DE METILENO

<b>Prueba 1 sustrato con microorganismos nativos sin mediador</b>			
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (<math>\mu</math>A)</b>	<b>Temperatura (<math>^{\circ}</math>C)</b>
0	0	0	24,94
1	20,6	7,56	25,18
2	63,7	23,40	30,23
3	166,9	61,32	30,87
4	173,3	63,67	31,26
5	218,9	80,43	32,53
6	338,5	106,37	32,97
7	302,8	136,98	33,27
8	369,9	142,65	33,22
9	382,6	147,05	32,88
10	440,95	156,46	32,73
11	450,3	165,45	32,24
12	476,4	170,49	32,83
13	527,2	193,713	32,24
14	537	197,31	32,78
15	572,3	210,28	32,24
16	592,9	217,85	33,02
17	622,3	228,65	32,83
18	595,6	285,77	32,68
19	589,6	287,97	33,07
20	574,4	311,05	32,53
21	542,7	421,45	32,34
22	594	438,25	33,12
23	465	470,85	32,58
24	456	476,75	33,22

**Prueba 2 sustrato con microorganismos nativos (Azul de metileno  
0,0001M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (<math>\mu</math>A)</b>	<b>Temperatura (<math>^{\circ}</math>C)</b>
0	0	0	23,22
1	4,9	1,80	23,22
2	49	18	23,22
3	73,5	27	38,61
4	107,8	39,60	38,61
5	112,7	41,41	37,92
6	201,9	74,18	37,92
7	285,2	104,79	33,61
8	299,9	110,19	39,34
9	319,5	117,39	34,49
10	308,7	123,42	37,96
11	372,4	136,83	33,14
12	313,6	145,22	39,37
13	424,3	192,64	34,49
14	439	199,84	38,61
15	492,9	217,85	38,61
16	504,2	258,75	38,12
17	501,3	270,94	38,78
18	530,7	323,17	38,61
19	587,7	310,57	38,62
20	555,2	340,74	38,62
21	560,1	362,54	38,12
22	630,1	391,10	38,61
23	585,2	418,93	37,96
24	563,19	458,69	33,14

**Prueba 3 sustrato con microorganismos nativos (Azul de metileno  
0,0003M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
1	0	0	24,226
2	3,4	28,07	24,326
3	76,4	59,451	26,326
4	161,8	91,27	35,612
5	248,4	129,92	38,612
6	353,6	153,95	37,926
7	371,9	164,61	37,926
8	394,8	182,17	35,614
9	415,8	192,13	39,347
10	442,9	200,47	34,349
11	475,6	210,65	37,926
12	483,3	230,05	33,614
13	516,1	230,45	39,347
14	597,2	234,05	34,349
15	637	240,32	38,661
16	632,4	245,85	38,661
17	641,9	258,97	38,612
18	684,8	273,96	38,661
19	656,1	281,26	38,661
20	656,6	297,80	38,612
21	654,4	321,45	38,612
22	602,7	321,82	38,612
23	594	382	38,661
24	546,5	420,83	37,926

## ANEXO B

### RESULTADOS PRUEBAS EXPERIMENTALES *Escherichia coli* Y AZUL DE METILENO

#### Prueba 4 sustrato inoculado con *E. coli* sin azul de metileno

Tiempo (h)	Voltaje (mV)	Intensidad ( $\mu$ A)	Temperatura ( $^{\circ}$ C)
0	0	0	33,27
1	171,5	63,01	35,57
2	199,8	73,41	35,50
3	265,5	97,55	36,80
4	370,4	136,09	34,66
5	447,8	164,53	36,27
6	522,4	191,94	37,55
7	575,4	211,42	36,22
8	582,2	213,92	35,56
9	647,4	237,87	36,17
10	620,3	237,92	36,17
11	658,2	241,84	37,17
12	615	245,97	37,41
13	612,7	251,29	37,17
14	582,2	253,92	37,17
15	543,9	259,98	37,17
16	427,4	257,04	36,52
17	381,3	140,10	36,17
18	291,1	106,96	37,17
19	191,1	70,21	37,12
20	151,9	55,81	57,17
21	0	0	55,25
22	0	0	57,17
23	0	0	55,25
24	0	0	56,37

**Prueba 5 sustrato inoculado con *E. coli* (Azul de metileno 0,0001M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
0	0	0	36,31
1	2,34	0,85980632	38,27
2	155,7	57,2101895	36,8
3	262,3	96,3791439	37,29
4	364,8	134,0416	36,31
5	414,6	152,340042	37,78
6	477,1	175,304954	37,29
7	511,8	188,055074	34,35
8	540,8	206,059565	38,27
9	575,5	211,460912	37,78
10	602,3	220,463158	37,29
11	605,5	221,460912	37,78
12	629,4	231,265853	37,78
13	658,8	242,068547	38,27
14	663,7	243,868996	37,29
15	672,9	258,272589	38,27
16	688,2	258,712421	37,78
17	707,8	260,073039	37,78
18	747	274,476632	37,78
19	727,4	267,274835	38,27
20	742,1	282,676182	37,29
21	595,1	286,627088	37,29
22	727,4	290,672748	37,78
23	663,7	294,3869	37,29
24	662,4	312,658526	36,31

**Prueba 6 sustrato inoculado con *E. coli* (Azul de metileno 0,0003M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
0	0	0	37,42
1	68,6	25,20	38,4
2	234	85,98	38,89
3	277,2	101,85	38,89
4	453,6	166,67	38,4
5	597,8	219,65	38,4
6	625,4	229,79	38,89
7	675,4	248,16	36,93
8	705,4	259,19	39,38
9	661,5	243,06	36,93
10	656,6	241,26	37,91
11	668,4	245,59	37,91
12	670,4	246,33	38,89
13	705,6	259,26	37,91
14	671,9	246,88	39,38
15	704,2	258,750	36,93
16	710,5	261,06	37,91
17	726,3	266,87	38,89
18	749,7	275,46	36,93
19	812,07	298,38	37,42
20	779,51	286,42	39,38
21	780,83	286,90	39,87
22	778,53	286,06	38,89
23	766,19	281,52	38,89
24	784,93	288,41	37,91

## ANEXO C

### RESULTADOS PRUEBAS EXPERIMENTALES *Pseudomonas aeruginosa* Y AZUL DE METILENO

#### Prueba 7 sustrato inoculado con *P. aeruginosa* sin mediador

Tiempo (h)	Voltaje (mV)	Intensidad ( $\mu$ A)	Temperatura ( $^{\circ}$ C)
0	0	0	42,38
1	260,6	95,75	41,89
2	384,2	141,16	42,38
3	443	162,77	40,42
4	467,5	171,77	42,38
5	551,7	202,71	41,89
6	613,4	225,38	42,87
7	616,5	226,52	41,89
8	606,7	222,92	42,87
9	643,9	236,59	42,38
10	584,3	214,69	40,91
11	671,3	246,66	41,4
12	700,7	257,46	42,38
13	735,9	270,39	42,38
14	695,8	255,66	42,38
15	777,1	285,53	40,91
16	821,2	301,74	40,91
17	646,8	237,65	42,87
18	735	270,06	41,4
19	828,1	304,27	41,89
20	808,5	297,07	40,91
21	719,4	264,33	42,38
22	702,7	258,19	41,89
23	697,8	256,39	38,95
24	710,7	261,13	37,98

**Prueba 8 sustrato inoculado con *P. aeruginosa* (Azul de metileno 0,0001M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
0	0	0	21,38
1	298,9	109,82	23,89
2	406,7	149,43	27,18
3	436,1	160,23	32,42
4	543,9	199,84	37,68
5	600,7	220,72	40,89
6	803,6	295,27	41,87
7	671,3	246,66	42,89
8	808,5	297,07	42,87
9	906,5	333,08	42,38
10	901,6	331,28	41,91
11	725,2	266,46	41,40
12	803,6	295,27	41,38
13	803,6	295,27	41,38
14	641,9	235,85	41,38
15	563,5	207,05	42,91
16	639	234,79	42,91
17	677,3	248,86	43,07
18	617,4	226,85	43,04
19	663,4	243,75	43,01
20	661,7	243,13	42,91
21	761,7	279,87	42,08
22	751,9	276,27	41,89
23	720,5	264,73	41,95
24	298,9	109,82	41,89

**Prueba 9 sustrato inoculado con *P. aeruginosa* (Azul de metileno 0,0003M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
0	0	0	23,88
1	76,4	28,07	26,89
2	96,1	35,31	30,88
3	110,8	40,71	31,92
4	136,2	50,04	34,88
5	195,4	71,79	37,39
6	244,8	89,94	40,37
7	245,8	90,31	41,39
8	262,9	96,59	42,37
9	265,3	97,481	43,88
10	290,1	106,59	43,41
11	295,2	108,46	43,9
12	299,6	110,08	43,88
13	304,5	111,88	44,08
14	320,2	117,65	43,88
15	343,2	126,10	42,41
16	426,3	156,63	42,41
17	430,3	158,10	44,37
18	365,9	134,44	42,9
19	254,3	93,43	43,39
20	289,3	106,29	42,41
21	265,4	97,51	43,88
22	183,4	67,38	43,39
23	157,3	57,79	43,45
24	143,5	52,72	43,88

## ANEXO D.

RESULTADOS RÉPLICAS EXPERIMENTALES SUSTRATO CON  
MICROORGANISMOS NATIVOS SIN MEDIADOR *Escherichia coli*  
CON AZUL DE METILENO 0,0003M Y *Pseudomonas aeruginosa*  
CON AZUL DE METILENO 0,0001M

Prueba 10 Réplica sustrato con microorganismos nativos sin mediador			
Tiempo (h)	Voltaje (mV)	Intensidad (µA)	Temperatura (°C)
0	0	0	23,41
1	65,3	23,99	26,16
2	102,3	37,58	29,235
3	161,8	59,45	30,872
4	247	90,75	31,64
5	253,6	93,182	32,38
6	271,9	99,90	32,76
7	344,8	126,69	33,73
8	365,8	134,40	33,32
9	382,9	140,69	32,44
10	415,6	152,70	32,28
11	443,3	162,88	33,54
12	466,1	171,26	32,73
13	527,2	193,71	32,97
14	537	197,31	33,02
15	572,4	210,32	34,72
16	641,9	235,85	34,68
17	674,8	247,94	34,07
18	695,6	255,59	34,53
19	676,6	248,60	34,32
20	674,4	247,80	35,16
21	662,7	243,50	34,57
22	639,4	234,94	34,24
23	626,5	230,20	35,58
24	608,7	223,65	34,42

**Prueba 11. Réplica para el sustrato inoculado con *E. coli* (Azul de metileno 0,0003M)**

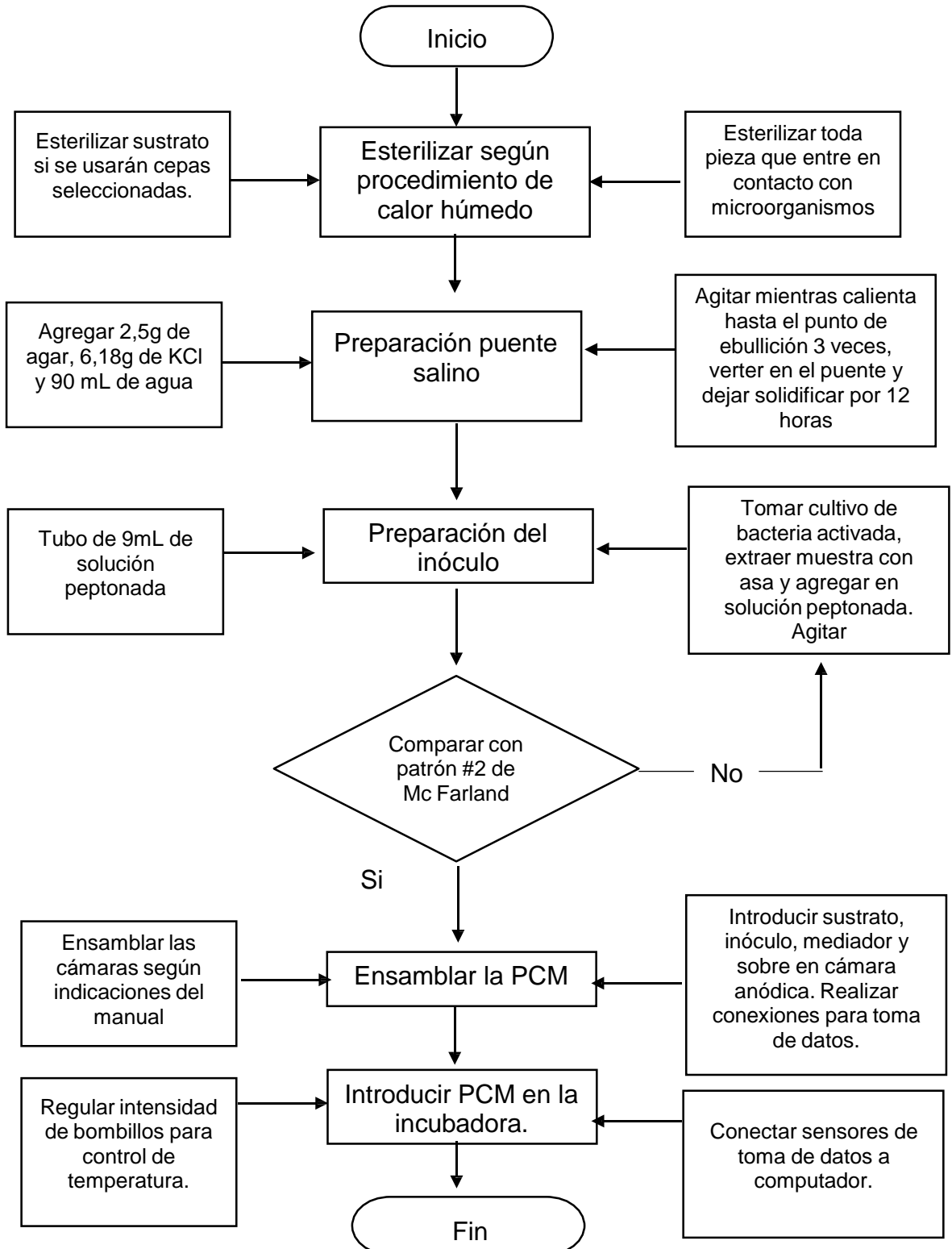
<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
0	0	0	27,32
1	23,4	8,59	28,4
2	125,7	46,18	30,89
3	202,3	74,33	32,89
4	264,8	97,29	34,4
5	303,6	111,55	36,4
6	377,1	138,56	35,89
7	411,8	151,31	35,93
8	470,8	172,99	37,38
9	525,5	193,088	36,93
10	531,2	195,183	37,91
11	555	203,92	37,91
12	609,4	223,91	36,89
13	623,8	229,20	37,91
14	637,5	234,24	37,38
15	660,2	242,58	36,33
16	690,2	253,60	37,12
17	712	261,61	38,09
18	723,4	265,80	36,93
19	727,4	267,27	37,42
20	722,1	265,32	36,38
21	699,1	256,87	36,87
22	727,4	267,271	36,89
23	732,5	269,14	35,89
24	736,4	270,58	36,01

**Prueba 12 Réplica para el sustrato inoculado con *P. aeruginosa* (Azul de metileno 0,0001M)**

<b>Tiempo (h)</b>	<b>Voltaje (mV)</b>	<b>Intensidad (μA)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
<b>0</b>	0	0	21,28
<b>1</b>	0,1389	51,03	23,59
<b>2</b>	0,2667	97,99	35,38
<b>3</b>	0,3561	130,84	38,22
<b>4</b>	0,4439	163,10	41,38
<b>5</b>	0,5007	183,97	43,89
<b>6</b>	0,5363	197,05	41,87
<b>7</b>	0,5713	209,91	41,89
<b>8</b>	0,6085	223,58	41,87
<b>9</b>	0,665	244,34	42,38
<b>10</b>	0,6662	244,78	40,91
<b>11</b>	0,6552	240,74	41,34
<b>12</b>	0,7836	287,92	41,38
<b>13</b>	0,8036	295,27	41,38
<b>14</b>	0,8419	309,34	41,38
<b>15</b>	0,8635	317,28	42,91
<b>16</b>	0,839	308,28	39,91
<b>17</b>	0,8773	322,35	41,81
<b>18</b>	0,874	321,14	42,04
<b>19</b>	0,8634	317,24	41,89
<b>20</b>	0,8617	316,62	39,91
<b>21</b>	0,8617	316,62	41,38
<b>22</b>	0,8519	313,02	41,89
<b>23</b>	0,8705	319,85	42,05
<b>24</b>	0,8989	330,29	41,89

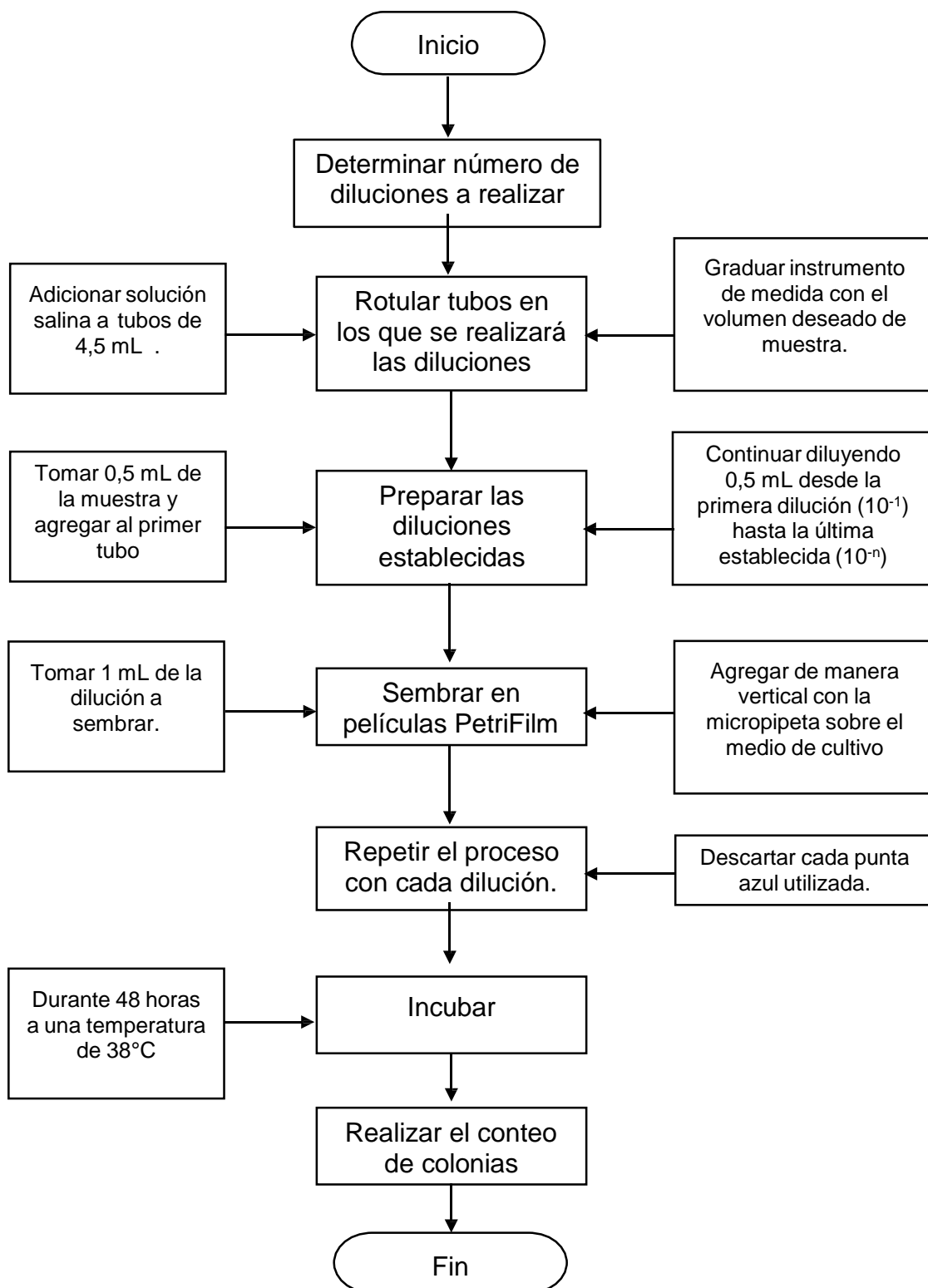
## ANEXO E

### DIAGRAMA DE MONTAJE DE PCM Y PREPARACIÓN DE INÓCULO



## ANEXO F

### TÉCNICA DE DILUCIONES SERIADAS Y RECuento EN PLACA



## ANEXO G

### RESULTADOS DE ANÁLISIS DE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

INFORME DE RESULTADOS N°: 22871									
CLIENTE:	ANDRES GUTIERREZ			COTIZACIÓN N°:	18R-102	CANTIDAD:	1500 ML	RESPONSABLE MUESTREO:	Cliente
NIT:	7167799-9			ODS:	18-782	FECHA DE MUESTREO:	2/03/2018	T [° C] MUESTREO:	N.E.
TELÉFONO:	3123796335					FECHA DE RECIBIDO:	2/03/2018	PRODUCTO:	ARND
CONTACTO:	Andres Gutierrez					TIPO DE EMPAQUE:	P/V	TIPO DE MUESTREO:	N.E.
CARGO:	N.E.					PUNTO DE CAPTACIÓN:	Cerveceria Artesanal-Industrial Directo Sin Tratamiento-CII 66 # 20 - 18		
DIRECCIÓN:	Calle 42A No. 1C-12 Barrio Terrazas de Santa Ines.					LUGAR DE RECOGIDA:	Cerveceria Artesanal-Industrial Directo Sin Tratamiento-CII 66 # 20 - 18		
CIUDAD:	Bogotá DC					ALMAC. CONTRAMUESTRA:	Análisis FQ: 15 días	Análisis MB: 24 horas	
ID. MUESTRA:	18-2094					Fisicoquímica			
FECHA DE ANÁLISIS	PARÁMETRO	RESULTADO	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	UNIDADES	TÉCNICA ANALÍTICA	MÉTODO	Resolución 0631 de 2015. Art.12 Elaboración de maltas		CONFORMIDAD
2/03/2018	pH (A)	4,74	0,5	Unidad de pH	Electrometric Method.	SM 4500-H+ B.	5,00-9,00		NO CUMPLE
6/03/2018	DQO (A)	56387	6,30	mg O2/L	Closed Reflux, Titrimetric Method	SM 5220 C.	300		NO CUMPLE
3/03/2018	Sólidos Suspendidos Totales (A)	673	11,6	mg/L	Secado a 104°C Gravimetrico	SM 2540 D.	75		NO CUMPLE
3/03/2018	Sólidos Totales (A)	1552	51,59	mg/L	Secado a 104°C Gravimetrico	SM 2540 B	NO ESPECIFICA		NO APLICA
3/03/2018	Conductividad (A)	1529	0,05	µS/cm	Laboratory Method	2510 B.	NO ESPECIFICA		NO APLICA

\* Análisis subcontratados

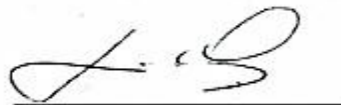
Los valores de pH, Caudal, Temperatura, Oxígeno Disuelto y Sólidos sedimentables fueron medidos in situ.

(A) Análisis acreditado por BIOPOLAB ante el IDEAM

Resolución 631 de 2015, "Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones."

- Este informe de resultados no se puede reproducir y solo aplica para los resultados de la muestra analizada.
- Cualquier inquietud o reclamación puede ser presentada a nuestra compañía ya sea vía telefónica o al correo e inmediatamente será atendida.
- La muestra será almacenada 15 días para eventuales repeticiones o inquietudes con los análisis y resultados.

Documento aprobado por:

  
Liliana Olmos Ravagli

## ANEXO H

### RESULTADO DE ANÁLISIS DE DQO



Código: F-ER-02

Versión: 2

Fecha: 26/02/2018



#### RESULTADOS DE ANÁLISIS

INFORME DE RESULTADOS N°:					25370			
CLIENTE:	SANTANA GORDO ELKIN ARIEL				CANTIDAD:	120 ML	RESPONSABLE MUESTREO:	CLIENTE
NIT:	7167799-9	COTIZACIÓN N°:			FECHA DE MUESTREO:	28/05/2018	T (° C) MUESTREO:	N.E.
TELÉFONO:	3123796335	ODS:	18-2197		FECHA DE RECIBIDO:	28/05/2018	PRODUCTO:	ARD
CONTACTO:	Andres Gutierrez				TIPO DE EMPAQUE:	PLASTICO		
CARGO:	INFORME A NOMBRE DE ANDRÉS GUTIERREZ				PUNTO DE CAPTACIÓN/ Orden de servicio cliente:	Muestra de investigación		
DIRECCIÓN:	Calle 42A No. 1C-12 Barrio Terrazas de Santa Ines.				LUGAR DE RECOGIDA:	Muestra de investigación		
CIUDAD:	Bogotá DC							
ID. MUESTRA:	18-5854				ALMAC. CONTRAMUESTRA:	Análisis FQ: 15 días	Análisis MB: 24 horas	
Fisicoquímica								
FECHA DE ANÁLISIS	PARÁMETRO	RESULTADO	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	UNIDADES	TÉCNICA ANALÍTICA	MÉTODO	NO SE COMPARA CONTRA NINGUNA NORMA	CONFORMIDAD
29/05/2018	DQO (A)	51673	6,30	mg O2/L	Closed Reflux, Titrimetric Method	SM 5220 C.	No Especifica	NO APLICA

(A) Parámetro acreditado para las matrices Aguas Residuales y Superficiales

Estos resultados son válidos únicamente para esta muestra recibida y analizada en el Laboratorio de Fisicoquímica de Biopolab.  
Este informe de resultados no se puede reproducir y solo aplica para los resultados de la muestra analizada.  
Cualquier inquietud o reclamación puede ser presentada a nuestra compañía ya sea vía telefónica, o al correo e inmediatamente será atendida.  
La muestra será almacenada 15 días para eventuales repeticiones o inquietudes con los análisis y resultados.

Documento aprobado por:

Liliana Olmos Ravagli  
Gerente Técnica

Ing. Química Registro Prof. 14541 Consejo. P de I.Q. de Col.

Fecha de expedición:

6/06/2018

