



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA RESISTENCIA ELÉCTRICA EXTERNA EN EL
DESEMPEÑO DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL ASISTIDO
ELECTROQUÍMICAMENTE

TESIS
QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
BIOL. JORGE MANUEL ROMERO MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL
DRA. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA,
FACULTAD DE QUÍMICA

COMITÉ TUTORAL
DRA. MARÍA GUADALUPE SALINAS JUÁREZ,
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
DR. IVÁN MORENO ANDRADE, INSTITUTO DE INGENIERÍA
DR. FRANCISCO JAVIER GARFIAS VÁSQUEZ, FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. OCTUBRE, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

PRESIDENTE: Dra. Alcántara Hernández Rocío Jetzabel
SECRETARIO: Dr. Garfias Vásquez Francisco Javier
1er. VOCAL: Dra. Salinas Juárez María Guadalupe
2do. VOCAL: Dr. Moreno Andrade Iván
3er. VOCAL: Dr. Durán Domínguez de Bazúa María del Carmen

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (LIQAyQA) del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM.

TUTOR DEL TEMA

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

CO-TUTOR DEL TEMA

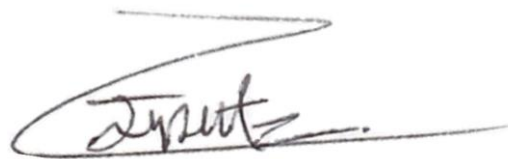
Dra. María Guadalupe Salinas Juárez

SUSTENTANTE

Jorge Manuel Romero Martínez

DECLARATORIA

Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jorge Manuel Romero Martínez', written over a horizontal line.

Biól. Jorge Manuel Romero Martínez

RECONOCIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM: Los reactivos, consumibles y materiales empleados en esta investigación fueron adquiridos con el apoyo financiero parcial del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), “Generación de electricidad con humedales artificiales” Clave IA107020. Asimismo, se usaron los equipos de cómputo adquiridos con el Programa de Apoyo a Proyectos para Mejorar e Innovar la Educación (PAPIME): “Innovaciones de docencia para la asignatura Estancia Académica para la carrera de Ingeniería Química ante la problemática del Covid 19: Creación de ejemplos para solucionar problemas reales mediante el empleo de programas de cómputo” Clave PE101822 que contienen las paqueterías empleadas en esta investigación

También contribuyó con recursos financieros parciales el Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, PAIP, Clave 50009067

El autor reconoce el valioso aporte académico de los miembros del jurado. Todos y cada uno de ellos enriquecieron este documento y los errores son responsabilidad única del autor

Finalmente, se agradece al personal académico y administrativo de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAYQA, por su apoyo logístico y personalizado para esta investigación especialmente a la Dra. Marisela Bernal González, Coordinadora de los Laboratorios de Agua y Aguas Residuales, al Mtro Rolando Salvador García Gómez y al Sr. Benjamín Ramírez Castillo, Laboratorista de los LIQAYQA.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y mi hermano por todo el esfuerzo y amor que han brindado para que pueda cumplir con mis metas, además del conocimiento, apoyo y cariño.

A mi novia por ayudarme a crecer como persona, por empujarme en los días más difíciles, por siempre confiar en mi, por todo el amor y apoyo que me ha brindado y sobre todo por todo por ser una grandiosa (chulada) de persona.

A mis primos y mis tíos que siempre me han auxiliado cuando lo he necesitado además de las buenas pláticas y momentos que hemos tenido.

A mis amigos de Laboratorio, Ana, Fortino, Edgar, Kiara, Brenda, Dany, Diego, Iván y Benjamín por todo el apoyo, las risas, las pláticas que me brindaron y los buenos momentos que pasamos juntos en el laboratorio.

A mis amigos de toda la vida por todas las anécdotas que hemos compartido y porque siempre me han estado apoyando y por las charlas y buenos ratos que hemos pasado.

A mis amigos a Hibraim y Brasil, por las grandiosas charlas que hemos tenido, pero principalmente por todo su apoyo y experiencia que me han brindado.

A la UNAM por ser una grandiosa institución, por toda la educación que me ha brindado, pero principalmente por haberme dado la oportunidad de conseguir algunos de mis sueños, de conocer personas increíbles y de cambiarme la vida para bien en todos los sentidos.

A las Doctoras Lupita Salinas y María del Carmen Durán por aceptarme en el programa y permitirme vivir esta gran experiencia, por confiar en mi, por todo el apoyo, conocimientos y oportunidades que me han brindado.

A la Dra. Rocío Alcántara por ser una grandiosa persona y por todo el tiempo y el enorme apoyo tanto académico como personal que me ha brindado.

Al Doctor Garfías por todo el apoyo, conocimientos, consejos que me ha brindado y por siempre hacerme un espacio en su tiempo para ayudarme a resolver dudas.

Al Doctor Iván Moreno por los valiosos comentarios y observaciones que me brindó para mejorar mi investigación.

Al Dr. Carlos Alberto Arías, por todo el conocimiento, experiencia y principalmente todas las lecciones de vida que me enseñó.

A mis amigos de la Universidad de Aarhus por todo el apoyo, conocimiento, experiencias, risas, charlas y buenos momentos que me brindaron.

Sin TODOS ustedes esto no hubiera sido posible.

Muchísimas GRACIAS.

Resumen

La resistencia eléctrica externa es un factor importante que afecta la cantidad de energía producida en un humedal artificial asistido electroquímicamente, HAAE (*CW-MFC* en inglés). Se ha informado que la resistencia externa impulsa el potencial anódico e influye en la competencia entre especies electrogénicas y no electrogénicas. Además, controla el flujo de electrones del ánodo al cátodo que afecta la potencia y las salidas de corriente del HAAE, de acuerdo con la ley de Ohm. Por lo tanto, en este trabajo se evaluó el efecto del valor de la resistencia externa en el desempeño de un HAAE, mediante la medición de parámetros eléctricos, determinación de remoción de contaminantes y prueba microbiológica en el sistema experimental. Se utilizaron seis reactores tipo HAAE de flujo subsuperficial vertical ascendente a escala de laboratorio, cada uno con un valor diferente de resistencia externa conectada (0.1, 1, 5, 10, 20 k Ω y CA). Fueron alimentados con agua residual sintética. La planta utilizada fue *Phragmites australis* y el inóculo consistió en lodos anaerobios. Los resultados mostraron que la máxima densidad de potencia registrada fue de 49.8 mW/m² correspondiente al reactor de 0.1 k Ω . Este humedal es el que presenta los valores más altos de corriente y máxima densidad de potencia y, por lo tanto, es el reactor más eficiente en el proceso de generación de electricidad. El reactor de 10 k Ω fue el que tuvo una mayor abundancia relativa de los microorganismos electrogénicos y de los metanogénicos que compiten por los donantes de electrones. El análisis estadístico indica que los diferentes valores de resistencia externa conectados afectan significativamente ($p < 0.05$) los valores de densidad de potencia, densidad de corriente y remoción de NO₃⁻, NO₂⁻ y SO₄²⁻. La materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO) y eliminación de NH₄⁺ es mayor en los reactores de circuito cerrado en comparación con el de circuito abierto. Las diferencias en la generación de electricidad entre cada HAAE podrían atribuirse a uno de dos factores o a ambos: Un efecto de la resistencia eléctrica en el rendimiento eléctrico y/o una influencia de la comunidad microbiana presente en el ánodo. Sin embargo, no existen diferencias significativas en la remoción de NH₄⁺ entre los diferentes valores de resistencia externa.

Palabras clave: Resistencia eléctrica externa, humedal artificial asistido electroquímicamente, reactores, microorganismos electrogénicos, celda de combustible microbiana.

Abstract

*The electrical external resistance is an important factor affecting the amount of power produced in a constructed wetland coupled with microbial fuel cells (CW-MFC). It has been reported that the external resistance drives the anodic potential and influences competition between electrogenic species and non-electrogenic ones. Furthermore, it controls the electrons flow from anode to catode affecting the power and current outputs of the CW-MFC, according to the Ohm's law. Therefore, in this work, the effect of the the external resistance value on the performance of a CW-MFC, was evaluated by means of electrical parameters measurement, contaminants removal determination and microbiological test in the experimental system. Six laboratory-scale CW-MFC vertical ascending subsurface flow reactors were used, each with a different value of connected external resistance (0.1, 1, 5, 10, 20 k Ω , and open circuit). These reactors were fed with a synthetic wastewater. The plant species used was *Phragmites australis* and the inoculum consisted of anaerobic sludge. The results showed that the maximum power density recorded was 49.8 mW/m² corresponding to the 0.1 k Ω reactor. This wetland is the one with the highest values of current and maximum power density and, therefore, is the most efficient reactor in the electricity generation process. The 10 k Ω reactor had the highest relative abundance of electrogenic and methanogenic microorganisms competing for electron donors. The statistical analysis indicates that different values of external resistance significantly affect ($p < 0.05$) the values of power density, current density, and removal of NO_3^- , NO_2^- , and SO_4^{2-} . Organic matter measured as the chemical oxygen demand (COD) and NH_4^+ removal is higher in the closed-circuit reactors compared to the open-circuit reactor. However, there are no significant differences in NH_4^+ removal between the different external resistance values. Differences in electricity generation among each CW-MFC could be attributed to one of two factors, or both: An effect of electrical resistance on the electrical performance and/or an influence of the microbial community present at the anode.*

Keywords: *External electrical resistance, constructed wetlands, reactors, electrogenic microorganism, microbial fuel cell*

ÍNDICE

		Página
Declaratoria		3
Reconocimientos		4
Resumen		7
<i>Abstract</i>		8
Glosario		15
Capítulo 1.	Problemática	20
1.1.	Introducción	21
	1.1.1. Energía	21
	1.1.2. Recursos hídricos	22
1.2.	Justificación	23
1.3.	Antecedentes	25
1.4.	Hipótesis	27
1.5.	Objetivos	27
	1.5.1. Objetivo general	27
	1.5.2. Objetivos particulares	22
1.6.	Metas y alcances	28
Capítulo 2.	Fundamentos	29
2.1.	Humedales artificiales	29
2.2.	Celdas de combustible microbianas (CCM)	32
	2.2.1. Ánodo	33
	2.2.2. Cátodo	34
	2.2.3. Membrana de intercambio de protones, MIP	34
	2.2.4. Resistencia eléctrica externa	35
	2.2.5. Microorganismos	36
2.3.	Aplicaciones de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente	38
Capítulo 3.	Metodología	40
3.1.	Diseño experimental	40
3.2.	Configuración de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente a escala de laboratorio	41

		Página
3.3.	Construcción de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente	43
3.4.	Operación de los reactores	48
3.5.	Mediciones de parámetros de seguimiento	48
	3.5.1. Medición de parámetros eléctricos	48
	3.5.2. Análisis de parámetros fisicoquímicos	50
	3.5.3. Análisis de remoción de contaminantes del agua residual sintética	51
	3.5.3.1. Demanda química de oxígeno (DQO)	51
	3.5.3.2. Nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos	51
	3.5.3.3. Sulfatos	51
3.6.	Seguimiento de las plantas acuáticas	52
3.7.	Análisis microbiológicos	52
	3.7.1. Extracción de ADN	52
	3.7.2. Amplificación y secuenciación de fragmentos ADNr 16S	53
3.8.	Análisis estadísticos	54
Capítulo 4.	Resultados y discusión	55
4.1.	Parámetros eléctricos	56
	4.1.1. Potencial de los electrodos y voltaje de la celda	56
	4.1.2. Curvas de polarización y de potencia eléctrica	66
4.2.	Parámetros fisicoquímicos	71
	4.2.1. Temperatura y valores de pH	72
	4.2.2. Conductividad eléctrica y potencial Redox	75
4.3.	Remoción de contaminantes	78
	4.3.1. Materia orgánica medida como DQO	79
	4.3.2. Concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitratos, nitritos y sulfatos	80
4.4.	Desarrollo de las plantas acuáticas	85
4.5.	Análisis microbiológicos	87
	4.5.1. Análisis de secuenciación	88
4.6.	Resumen final de los datos experimentales	104
Capítulo 5.	Conclusiones y perspectivas	105
5.1.	Conclusiones	105
5.2.	Perspectivas	106
Anexos		108
Anexo 1.	Métodos analíticos	109
	A.1.1. Determinación de la demanda química de oxígeno, DQO	109

		Página
	A.1.2. Determinación de nitrógeno amoniacal, N-NH ₄	112
	A.1.3. Determinación de nitrógeno de nitratos, N-NO ₃ ⁻¹	115
	A.1.4. Determinación de nitrógeno de nitritos, N-NO ₂ ⁻¹	118
	A.1.5. Determinación de sulfatos, SO ₄ ²⁻	122
Anexo 2	Datos experimentales	125
	A.2.1 a 2.3. Parámetros eléctricos ¹	125
	A.2.1. Parámetros eléctricos: Datos experimentales de potenciales	125
	A.2.2. Parámetros eléctricos: Datos experimentales de corriente y densidad de potencia	125
	A.2.3. Parámetros eléctricos: Curvas de polarización	125
	A.2.4. Parámetros fisicoquímicos ¹	127
	A.2.4a. Datos de temperatura	127
	A.2.4b. Datos de pH	127
	A.2.4c. Datos de conductividad eléctrica	127
	A.2.4d. Datos de pOR	127
	A.2.5. Datos de remoción de contaminantes	128
	A.2.5a. Datos de remoción de contaminantes: Demanda química de oxígeno	128
	A.2.5b. Datos de remoción de contaminantes Nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos	130
	A.2.5c. Datos de remoción de contaminantes: Sulfatos	133
	A.2.6. Datos de vitalidad de las plantas	134
	A.2.7. Datos de los microorganismos ¹	136
Anexo 3.	Análisis estadísticos de los datos experimentales	137
	A.3.1. Potencial de los electrodos y voltaje de la celda	137
	A.3.2. Parámetros fisicoquímicos del agua en los reactores	139
	A.3.3. Remoción de contaminantes	142
Anexo 4.	Acervo fotográfico	148
	A.4.1 Desarrollo de las plantas acuáticas	148
Anexo 5.	Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	150
Bibliografía		151

¹ Estos datos son muy extensos por lo que se encuentran en un disco compacto y una unidad tipo *USB* disponibles con la tesis en papel en la Minibiblioteca de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAYQA, del Departamento de Ingeniería Química, ubicados en el Edificio E-3 de Alimentos y Química Ambiental del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM en la Ciudad Universitaria, Ciudad de México, México

Índice de tablas

		Página
Tabla 3.1.	Componentes de los reactores	42
Tabla 3.2.	Concentración de nutrientes que contiene el agua residual sintética	47
Tabla 4.1.	Etapas relevantes de la experimentación	55
Tabla 4.2.	Valores promedio del potencial del ánodo	60
Tabla 4.3.	Valores promedio del potencial del cátodo	62
Tabla 4.4.	Valores promedio de voltaje de todos los reactores	62
Tabla 4.5.	Valores promedio de la intensidad de corriente para todos los reactores excepto CA	64
Tabla 4.6.	Valores promedio de densidad de potencia durante la etapa de experimentación	65
Tabla 4.7.	Valores promedio de densidad de potencia a partir de las curvas de polarización	71
Tabla 4.8.	Valores promedio de remoción de materia orgánica, valor mínimo y máximo	79
Tabla 4.9.	Valores promedio de los porcentajes de remoción de nitrógeno amoniacal entre reactores	81
Tabla 4.10.	Cuantificación de ADN	88
Tabla 4.11.	Número de secuencias obtenidas de las muestras	89
Tabla 4.12.	Abundancia relativa (%) de los principales géneros electrogénicos en la superficie del ánodo	95
Tabla 4.13.	Resumen de los datos experimentales obtenidos	104
Tabla A.1.1.	Valores obtenidos para curva de calibración de DQO	110
Tabla A.1.2.	Valores obtenidos de la curva de calibración de nitratos	116
Tabla A.1.3.	Datos obtenidos de la curva de calibración de nitritos	120
Tabla A.1.4.	Datos obtenidos de la curva de calibración de sulfatos	123
Tabla A.2.1.	Datos experimentales de potenciales y de voltaje de la celda. Ean: potencial de ánodo, Ecat: potencial de cátodo, Voltaje de la celda (medido con un multímetro), Vcel= Eat-Ean (voltaje obtenido a partir de la diferencia de potenciales)	125
Tabla A.2.2.	Datos experimentales de corriente y densidades de potencia y corriente. V: voltaje de celda (medida con multímetro), I: corriente, P: potencia, J: densidad de corriente, Pd: densidad de potencia.	125
Tabla A.2.3.	Curvas de polarización del reactor 1 (100 Ω)	125
Tabla A.2.4.	Curvas de polarización del reactor 2 (1 k Ω)	125
Tabla A.2.5.	Curvas de polarización del reactor 3 (5 k Ω)	126
Tabla A.2.6.	Curvas de polarización del reactor 4 (10 k Ω)	126
Tabla A.2.7.	Curvas de polarización del reactor 5 (20 k Ω)	126
Tabla A.2.8.	Curvas de polarización del reactor 6 (CA)	126
Tabla A.2.9.	Curvas de polarización y de potencia de los valores máximos de cada reactor	126

		Página
Tabla A.2.10.	Valores de densidad de potencia máxima de cada reactor	126
Tabla A.2.11.	Datos experimentales de temperatura (°C) de cada reactor	127
Tabla A.2.12.	Datos experimentales de pH de cada reactor	127
Tabla A.2.13.	Datos experimentales de conductividad eléctrica (mS/cm) de cada reactor	127
Tabla A.2.14.	Datos experimentales de potencial de oxidación-reducción (mV) de cada reactor	127
Tabla A.2.15.	Datos experimentales de remoción de materia orgánica medida como DQO (%)	128
Tabla A.2.16.	Datos experimentales de remoción de nitrógeno amoniacal (%)	130
Tabla A.2.17.	Datos experimentales de remoción de nitratos (%)	131
Tabla A.2.18.	Datos experimentales de las concentraciones de nitritos (mg/L)	132
Tabla A.2.19.	Datos experimentales de remoción de sulfatos (%)	133
Tabla A.2.20.	Crecimiento de las plantas (cm), P: planta	134
Tabla A.2.21.	Número de hojas de las plantas, P: planta	134
Tabla A.3.1.	Análisis de varianza de los valores de potencial de ánodo entre reactores a partir de que se conectaron las resistencias eléctricas.	137
Tabla A.3.2.	Diferencia mínima significativa de los valores del potencial del ánodo entre reactores.	138
Tabla A.3.3.	Análisis de varianza de los valores de potencial de cátodo entre las seis resistencias a partir del día en que se elevó el cátodo	138
Tabla A.3.4.	Diferencia mínima significativa de los valores del potencial del cátodo entre reactores.	139
Tabla A.3.5.	Análisis de varianza de las temperaturas entre cada reactor y entre muestras tomadas a diferentes alturas	139
Tabla A.3.6.	Análisis de varianza multifactorial de los valores de pH	140
Tabla A.3.7.	Análisis de varianza multifactorial para los valores de conductividad	140
Tabla A.3.8.	Análisis de varianza de los potenciales de oxidación-reducción (pOR u ORp, en inglés) entre cada reactor y entre muestras tomadas a diferentes alturas de cada reactor	141
Tabla A.3.9.	Análisis de varianza de la remoción de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO), entre reactores	142
Tabla A.3.10.	Diferencia mínima significativa de los valores de la remoción de materia orgánica medida como DQO, entre reactores	142
Tabla A.3.11.	Análisis de varianza de las concentraciones de nitrógeno amoniacal entre reactores	143
Tabla A.3.12.	Análisis de varianza de la concentración de nitratos entre reactores	143
Tabla A.3.13.	Diferencia mínima significativa de la concentración de nitratos, entre reactores	144
Tabla A.3.14.	Análisis de varianza de las concentraciones de nitritos entre reactores	144

		Página
Tabla A.3.15.	Diferencia mínima significativa de la concentración de nitritos, entre reactores	145
Tabla A.3.16.	Análisis de varianza de la concentración de sulfatos entre cada uno de los reactores a partir de la conexión de las resistencias eléctricas	145
Tabla A.3.17.	Diferencia mínima significativa de la concentración de sulfatos, entre reactores	146
Tabla A.3.18.	Análisis de varianza del crecimiento de la planta entre cada uno de los reactores	146

Índice de figuras

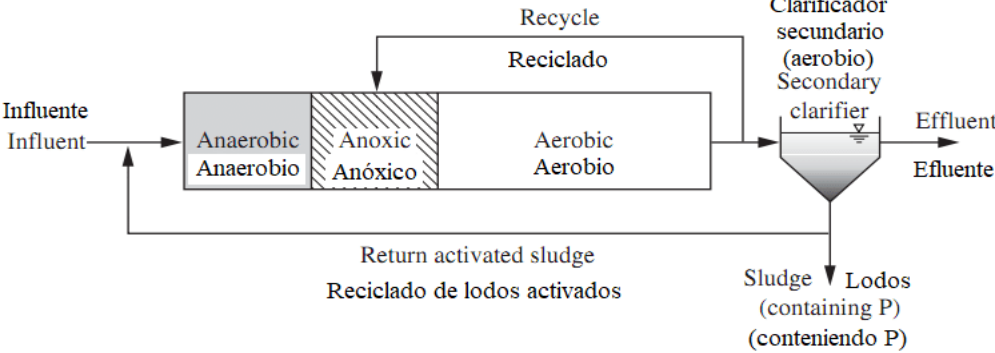
		Página
Figura 2.1.	Tipos de humedales	31
Figura 2.2.	Componentes de una celda de combustible microbiana	33
Figura 3.1.	Ejemplares de <i>Phragmites australis</i> que fueron utilizados	43
Figura 3.2.	Tamizado y lavado de tezontle	44
Figura 3.3.	Esquema general de HAAE (reactor)	45
Figura 3.4.	Materiales y construcción de la base de los reactores	45
Figura 3.5.	Ánodos a la izquierda y cátodos a la derecha	46
Figura 3.6.	Fieltro de carbón correspondiente al ánodo. Área del ánodo = 0.020106 m ²	49
Figura 4.1.	Humedales artificiales en operación	56
Figura 4.2.	Potencial de ánodo, cátodo y voltaje de la celda en cada uno de los reactores	58
Figura 4.3.	Densidad de potencia	63
Figura 4.4.	Curvas de polarización de cada reactor	67
Figura 4.5.	Curvas de polarización y de potencia	69
Figura 4.6.	Valores de densidad de potencia máximos obtenidos a partir de las curvas de polarización	71
Figura 4.7.	Temperatura de los reactores a las tres profundidades establecidas	72
Figura 4.8.	Valores de pH para cada uno de los reactores	74
Figura 4.9.	Conductividad eléctrica de cada reactor	75
Figura 4.10.	Potencial redox de cada reactor a las tres profundidades establecidas	77
Figura 4.11.	Sistemas de alimentación a) por gravedad, b) por bomba peristáltica	79
Figura 4.12.	Concentraciones de nitrógeno amoniacal durante la etapa experimental	81
Figura 4.13.	Concentración de nitratos del efluente de los reactores y del influente	82
Figura 4.14.	Concentración de nitritos del influente y del efluente de los	83

		Página
	reactores	
Figura 4.15.	Concentración de sulfatos del influente y del efluente de los reactores	84
Figura 4.16.	Vitalidad de algunas de las plantas con respecto a la altura y al reactor	86
Figura 4.17.	Índices de diversidad de Shannon y de riqueza de Simpson	90
Figura 4.18.	Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) con distancia Unifrac no ponderado de las secuencias ADNr 16s	91
Figura 4.19.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s a nivel Phylum	93
Figura 4.20.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s a nivel Género	94
Figura 4.21.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s del Género <i>Geobacter</i>	98
Figura 4.22.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los Géneros <i>Dechloromonas</i> y <i>Tricholobacter</i>	100
Figura 4.23.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los Géneros asociados a sulfato reducción	101
Figura 4.24.	Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los Géneros asociados a metanogénesis.	103
Figura A.1.1.	Curva de calibración de DQO	111
Figura A.1.2.	Curva de calibración de nitratos	117
Figura A.1.3.	Curva de calibración de nitritos	121
Figura A.1.4.	Curva de calibración de sulfatos	124
Figura A.4.1	Crecimiento de las plantas durante la experimentación.	148

Glosario

Término	Significado
A	Indica que la medición de parámetros fisicoquímicos del agua residual sintética se realizó en la profundidad del ánodo (a 10 cm de profundidad desde la superficie) [Figuras 4.7 a 4.10]
A_a	Área geométrica del ánodo (m^2)
ADN	Ácido desoxirribonucleico (p. 28)
Aerobio	Sistema de tratamiento de aguas residuales que utiliza oxígeno molecular como aceptor de electrones
<i>Amplicón – Amplicon</i>	Fragmento de ADN amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa (<i>PCR</i> , en inglés) o cualquier otro proceso que dé lugar a la producción de diferentes copias de ese fragmento (https://www.instituto-roche.es/recursos/glosario/Amplic%C3%B3n)
Anaerobio	En tratamiento de aguas residuales: En ausencia de oxígeno molecular y nitratos y mediante sulfatos u otros compuestos como aceptores de electrones
Análisis de coordenadas principales (<i>PCoA</i>)	El análisis de coordenadas principales con distancia UNIFRAC que es una métrica de distancia utilizada para comparar comunidades biológicas que incorpora información sobre la relación relativa de los miembros de la comunidad mediante la incorporación de distancias filogenéticas entre los

Término	Significado
	organismos observados en el cálculo (<i>PCoA</i> , <i>principal coordinate analysis</i>) no ponderado (patrones de presencia / ausencia de los taxa encontrados) (Lozupone et al., 2007; Lozupone y Knight, 2005)
Anóxico	En tratamiento de aguas residuales: En ausencia de oxígeno molecular y mediante nitratos como aceptores de electrones
Anaerobio <i>versus</i> anóxico	<p>Comentario de la tutora: Hossein Barzinmehr, de la Sharif University of Technology señaló el 21 de mayo de 2021 lo siguiente (https://www.researchgate.net/post/What_is_the_difference_between_anaerobic_and_anoxic_conditions):</p> <p><i>It depends on the field you work in! / ¡Depende del campo de trabajo!</i></p> <p><i>In microbiology: / En microbiología:</i> <i>Anoxic</i> is used to describe environments without molecular oxygen / Anóxico se usa para describir un ambiente sin oxígeno molecular. <i>Anaerobic</i> refers to microorganisms which are able to live without molecular oxygen. The metabolism they use is also called anaerobic / Anaerobio se refiere a los microorganismos que pueden vivir sin oxígeno molecular. Al metabolismo que ellos usan se le llama anaerobio. <i>So anoxic refers to environments and anaerobic refers to microorganisms and processes / Por tanto, anóxico se refiere al entorno o ambiente y anaerobio se refiere a los microorganismos y sus procesos metabólicos</i> <i>(Brock Biology of Microorganisms)</i></p> <p><i>However, in wastewater treatment field, they can be used in different ways: / Sin embargo, en el campo del tratamiento de agua residual se pueden usar de diferentes maneras:</i> <i>When we environmental engineers say anoxic decomposition, we are referring a condition in which microorganisms use nitrate as the terminal electron acceptor in the absence of O₂. Oxidation by this route is called anoxic denitrification. In wastewater industry, a reactor that works in this way is called an anoxic reactor. An anoxic reactor is a reactor without aeration but it receives recycle flow (enriched with nitrate) from an aerated tank. (Look at the picture please) / Cuando los ingenieros ambientales dicen descomposición anóxica se refieren a una condición en la que los microorganismos usan nitrato como aceptor final de electrones en ausencia de O₂. La oxidación por esta ruta (metabólica) se llama desnitrificación anóxica. En el tratamiento de aguas residuales, un reactor que trabaja de esta forma se llama reactor anóxico. Un reactor anóxico es un reactor sin aeración pero que recibe una corriente de refluo (enriquecida con nitratos) de un tanque aerado (ver la figura abajo)</i></p>

Término	Significado
	 <p data-bbox="516 590 1308 615">Nota: Imagen tomada de Hossein Barzinmehr (Sharif University of Technology)</p> <p data-bbox="423 625 1438 1024">Anaerobic decomposition is achieved when molecular oxygen and nitrate aren't present and microorganisms use sulphate and other compounds as final electron acceptors. A reactor in which there is no molecular oxygen and nitrate is called an anaerobic reactor. Anaerobic reactors receive the raw wastewater / Una descomposición anaerobia se alcanza cuando el oxígeno molecular y los nitratos no están presentes y los microorganismos usan sulfatos u otros compuestos como aceptores finales de electrones. Un reactor en el que no hay oxígeno molecular y nitratos se llama reactor anaerobio. Los reactores anaerobios reciben aguas residuales “crudas” (sin tratamiento) (Water and Wastewater Engineering, Davis, Chapter 22) (Biological Wastewater Treatment 3rd, Grady, Chapter 14)</p>
C	Medición de parámetros fisicoquímicos del agua residual sintética a la altura del cátodo (en la superficie) [Figuras 4.7 a 4.10]
CA	Circuito abierto
CCM	Celdas de combustible microbianas
CE	Conductividad eléctrica
Cebador	En biología, molécula de ácido nucleico o proteína que se requiere para iniciar la síntesis del ADN (https://dle.rae.es/cebador?m=form). En inglés se conoce como “ <i>primer</i> ”
CIDETEQ	Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C. México
D	Diámetro del ánodo
DGGE	Siglas en inglés para electroforesis en gel de gradiente desnaturante
DIQ	Departamento de Ingeniería Química, FQ, UNAM, México
DQO	Demanda química de oxígeno
ENH	Electrodo normal de hidrógeno
F	Indica que la medición de parámetros fisicoquímicos del agua residual sintética se realizó en el fondo del reactor (a 40 cm de profundidad desde la superficie) [Figuras 4.7 a 4.10]
FESZ	Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, México
FQ	Facultad de Química, UNAM, México
HA	Humedales artificiales
HAAE	Humedales artificiales asistidos electroquímicamente
HAFSH	Humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal

Término	Significado
HAFSV	Humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical
Hidrófitas, hidrofítas	Planta acuática cuyas estructuras vegetativas están sumergidas o flotantes en agua
I, I	Corriente eléctrica medida (mA)
<i>IUPAC</i>	Siglas para la <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
J	Densidad de corriente (mA/m ²)
K	Abreviatura del prefijo kilo ya que la K, de acuerdo con la IUPAC, se usa para la abreviatura de la unidad de temperatura absoluta, el Kelvin
LIQAYQA	Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, FQ, UNAM, México
MIP	Membrana de intercambio de protones
OD	Oxígeno disuelto
<i>OTU Table</i>	Siglas en inglés para Unidad Taxonomica Operativa la cual es una medida utilizada para agrupar secuencias de ADN o ARN en grupos relacionados con el fin de estudiar la diversidad microbiana (unidades de estudio)
P	Potencia obtenida (mW) de la ecuación 3-1
Pb	Iniciales para “pares de bases” unidad de medida en la determinación de la cantidad del material genético de las bacterias. En genética un par de bases es una unidad que consta de dos bases nitrogenadas de ADN unidas entre sí por enlaces de hidrógeno. Forman los bloques de construcción de la doble hélice de ADN, y contribuyen a la estructura plegada de ADN y ARN.
<i>PCR</i>	Siglas en inglés para la reacción en cadena de la polimerasa
P_d	Densidad de potencia (mW/m ²)
Pellón	Nombre comercial en México para una fibra sintética no tejida
pH	Potencial de hidrógeno
PAD	Polietileno de alta densidad
pOR	Potencial de oxidación-reducción (conocido coloquialmente como redox)
<i>Primer</i>	Cebador en español. Ver definición del diccionario de la lengua española (dle) de la Real Academia Española de la Lengua arriba (RAE)
<i>PVC</i>	Cloruro de polivinilo (por sus siglas en inglés)
R_{ext}	Resistencia eléctrica externa
Retrete	“Del occitano o catalán, 1. Aposento dotado de las instalaciones necesarias para orinar y evacuar el vientre. 2. Inodoro (del latín <i>inodōrus</i> . 1. Que no tiene olor. 2. Aparato sanitario para evacuar los excrementos y la orina, provisto de un sifón que evita los malos olores” (https://dle.rae.es/inodoro#9MkSmvE) (https://dle.rae.es/retrete?m=form). “En México es común escuchar que se llama a este aparato <i>W.C.</i> , por <i>water closet</i> , su nombre en inglés y también excusado o escusado” (https://dle.rae.es/escusado)
SA	Sistema de alimentación
<i>Sample metadata</i>	Nombre en inglés para metadatos de la muestra empleada para el estudio de los microorganismos
<i>SEM</i>	Siglas en inglés para microscopía electrónica de barrido
Software R	Paquetería de cómputo empleada para realizar análisis estadísticos y para realizar los análisis de los microorganismos (gráficas e índices)

Término	Significado
<i>T</i>	Temperatura
<i>t</i>	Tiempo, d
<i>Taxonomy</i>	Nombre en inglés para Taxonomía
TEE	Transferencia extracelular de electrones
TDE	Transferencia directa de electrones
Tezontle	Palabra de origen náhuatl que significa piedra ligera como los cabellos. De <i>tetl</i> , piedra y <i>tzontli</i> , cabellos (Cabrera, 2002)
TME	Transferencia mediada de electrones
<i>Tree</i>	Nombre en inglés para Árbol referido en esta investigación a organismos vivos
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México, México
<i>V, V</i>	Potencial (voltaje, mV)
<i>W, P</i>	Potencia de salida (mW)

Letras griegas

Π	Pi (usada para calcular el área transversal del ánodo cilíndrico)
---	---

Notas:

Esta investigación usa el punto decimal (DOF, 2009) y los guarismos o valores numéricos junto a °C y %. Las abreviaturas de las locuciones latinas *et cetera* y *et altere* no se pondrán con cursivas (etc., et al.) por su uso extendido

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

Los problemas ambientales que actualmente enfrenta la humanidad están poniendo cada vez más en peligro los sistemas que soportan la vida en la Tierra (Jackson, 2009; Meadows et al., 2004; WWF, 2014).

El impacto acumulado de la vida humana en el planeta durante las últimas décadas ha generado un aumento constante de la producción de gases de efecto invernadero (principalmente CO₂). Estos gases son causados por la quema de combustibles fósiles (Mazdiyasi y AghaKouchak, 2015; Sala et al., 2000) como el carbón, el gas natural y el petróleo, los cuales son de los combustibles más comúnmente utilizados para la producción de electricidad (Santoro et al., 2017).

La acumulación de estos gases de efecto invernadero en la atmósfera genera un impacto negativo al ambiente. Esto provoca un aumento de la temperatura de la superficie terrestre y de los océanos calentando de manera acelerada el planeta, proceso al que se le conoce como calentamiento global o cambio climático (Sala et al., 2000; Trenberth et al., 2014).

A su vez, el cambio climático o calentamiento global al provocar un cambio drástico en el clima y está perturbando el pseudo-equilibrio ambiental existente (Trenberth et al., 2014; Zandalinas et al., 2021). Las perturbaciones se manifiestan con diferentes fenómenos como el aumento de la frecuencia e intensidad de las sequías y las olas de calor, así como de otras condiciones de estrés abiótico como las inundaciones, la salinidad y las heladas. Debido a los problemas de contaminación ambiental y calentamiento global existe la necesidad de implementar tecnologías alternativas para la producción de electricidad con el fin de minimizar la emisión de gases de efecto invernadero producidos por el uso masivo de combustibles fósiles (André et al., 2012).

1.1. Introducción

1.1.1. Energía

El crecimiento poblacional y económico demanda el uso de energía, que proviene principalmente de los recursos energéticos fósiles (petróleo, gas, carbón), los cuales se han aprovechado por más de 100 años como fuente de calor, energía luminosa, combustible para vehículos y para generar electricidad (DOE, 2013).

En la actualidad, los recursos más utilizados para la producción de energéticos a nivel mundial son: El petróleo crudo 31.58%, carbón y sus derivados 26.98%, gas natural 22.84%, recursos renovables 13.70% y nucleenergía 4.90% (IEA, 2019), los cuales son utilizados para producir electricidad.

La energía eléctrica ha representado un desarrollo tecnológico de gran impacto en el crecimiento económico de la humanidad y actualmente constituye aproximadamente el 19.31% del consumo de energía a nivel mundial (SENER, 2020).

En México, durante el año 2019, la producción de hidrocarburos representó el 83.93% del total de producción de energía primaria², el petróleo crudo representó el 59.83%, el gas natural y los condensados figuraron con el 24.10%. En cuanto a los demás tipos de energías, las renovables representaron el 10.46%, el carbón el 3.64% y la energía nuclear el 1.97% (SENER, 2020).

La mayor parte de la oferta de energía primaria fue enviada a centros de transformación, lo que permite obtener productos más útiles para el consumo nacional. Con referencia a las plantas de electricidad instaladas en territorio nacional, se envió el 23.68% del total del flujo de energía a los centros de transformación durante 2019 (SENER, 2020).

² La energía primaria es considerada toda forma de energía disponible en la naturaleza antes de ser transformada por los humanos. Por ejemplo, la energía contenida en los hidrocarburos, carbón, biogás, biomasa, energía eólica, solar, geotérmica, etc. (SENER, 2020)

A pesar de esto, en el año 2019 se tiene registrado que el 9.91% (759 millones de personas) de la población mundial no tuvo acceso a la energía eléctrica (TWB, 2019). En el caso de México, en el año 2016 existían más de 500 mil viviendas sin electricidad, principalmente en comunidades indígenas y rurales (Cámara de Diputados, 2016). Esta situación impide el desarrollo y bienestar equitativos, tanto social como económico.

Los recursos energéticos fósiles son dañinos y, peor aún, limitados y no alcanzan a cubrir las necesidades de abastecimiento de energía eléctrica para el total de la población. Sin embargo, persiste todavía una gran dependencia por utilizarlos por parte de las autoridades gubernamentales y de los propios consumidores ya que el cambio a la energía de origen renovable y más limpia requiere de cuantiosos recursos y, sobre todo, voluntad política (Bazúa-Rueda, 2022). Ante esta situación, en los últimos años se han buscado opciones para acelerar especialmente la electrificación mediante soluciones descentralizadas basadas en energías renovables como la eólica, la solar, la geotérmica, etc.

1.1.2. Recursos hídricos

Los cambios en los recursos hídricos continentales (p.ej., la disponibilidad y calidad de agua dulce) se han identificado como uno de los problemas más importantes del calentamiento global. Los recursos hídricos son muy vulnerables, y muchas regiones del planeta se enfrentan cada vez a una mayor escasez (Vörösmarty et al., 2000). Además, los recursos hídricos están amenazados debido a que el agua continental está fuertemente sometida a desvíos para usos agrícolas, industriales y domésticos (Leblanc et al., 2012).

La provisión de agua para el consumo humano en la cantidad y calidad necesaria incide directamente en la salud y bienestar de la población. De manera análoga al agua potable y el saneamiento de las aguas residuales generadas en los hogares determina también la salud y calidad de vida de la población (CONAGUA, 2018).

En la actualidad, 785 millones de personas en el mundo, 1 de cada 9, carecen de acceso a agua potable en sus hogares. También, 2000 millones, 1 de cada 3 personas – no tienen acceso a un

retrete. Casi un millón de personas mueren cada año por enfermedades relacionadas con el agua, el saneamiento y la higiene, que podrían reducirse con el acceso al agua potable o al saneamiento (WHO y UNICEF, 2017).

México ocupa el lugar 11 dentro de las naciones más pobladas del mundo donde viven alrededor de 126 millones de personas. Al año 2015, la cobertura nacional de acceso al agua entubada era de 97.8% en zonas urbanas y 87.0% en zonas rurales en tanto que la cobertura nacional de agua entubada en la vivienda o predio era 97.2% en zonas urbanas y 85.0% para el área rural lo cual indica que aproximadamente un 16% de la población no cuenta con acceso a agua potable en sus domicilios (CONAGUA, 2018).

De igual manera, la cobertura nacional de acceso a los servicios de alcantarillado y saneamiento básico (que considera la población con drenaje conectado a la red pública, a fosa séptica o con desagüe a suelo, barranca, grieta, río, lago o mar) era de 97.4% en zonas urbanas, 77.5% en zonas rurales, en tanto que la cobertura nacional de alcantarillado a red pública o fosa séptica era de 96.6% zona urbana, 74.2% en zona rural. Además, hasta el año 2017, del 100% de la descarga de aguas residuales municipales se recolectaba el 91.61% y solamente son tratadas el 57.72% (CONAGUA, 2018). Aunado a esto se estima que la electricidad representa del 5 al 30% del costo total de operación de los servicios de agua y saneamiento a nivel mundial (WWAP, 2015).

Estos datos reflejan que siguen existiendo dificultades para muchos habitantes del planeta y de México para acceder al agua potable de calidad y al saneamiento básico, principalmente en zonas rurales, lo que incrementa el riesgo a contraer enfermedades de transmisión hídrica, así como afecciones resultantes del consumo de componentes químicos dañinos y patógenos potencialmente presentes.

1.2. Justificación

Considerando la problemática expuesta, en los últimos años se han investigado las celdas de combustible microbianas. Las celdas microbianas son sistemas bio-electroquímicos, capaces

de convertir energía bioquímica en energía eléctrica mediante microorganismos que degradan varios compuestos orgánicos (algunos considerados como contaminantes) procedentes de diferentes tipos de aguas residuales (Aguilar-Pichardo y Galicia-Badillo, 2016; Miranda-Méndez et al., 2017; Pandey et al., 2016; Pant et al., 2010; Salinas-Juárez, 2016, 2017; Salinas-Juárez et al., 2016, 2017; Salinas-Juárez y Durán-Domínguez de Bazúa, 2018).

Una manera más práctica para intensificar el tratamiento de aguas residuales mientras se genera electricidad es la integración de celdas de combustible microbianas acopladas a humedales artificiales, los cuales recientemente han ganado una atención considerable en la comunidad científica. Una revisión de la literatura ha revelado el incremento de las publicaciones sobre el tema de humedales artificiales acoplados con CCM a partir del 2012 (Borja-Urzola et al., 2018; Xu et al., 2019).

Las celdas de combustible microbianas acopladas a humedales artificiales (humedales artificiales asistidos electroquímicamente) utilizan microorganismos (que se adhieren a la superficie del ánodo formando biopelículas) que oxidan biológicamente la materia orgánica y a partir de este proceso transfieren electrones a sustancias que pueden ser sólidas como los electrodos de grafito. Durante la producción de electrones también se producen protones en exceso. Estos protones migran a través de la membrana de intercambio catiónico hacia la cámara catódica. Los electrones fluyen desde el ánodo a través de una resistencia eléctrica externa (o carga) hasta el cátodo, donde reaccionan con el aceptor final de electrones (oxígeno) y los protones formando como subproducto agua (Logan, 2009; Rabaey y Verstraete, 2005).

Esta tecnología es un método alternativo y ecológico apropiado para el tratamiento de aguas residuales y la simultánea producción de electricidad (Idris et al., 2016; Kumar et al., 2018). Así, se ofrecería un beneficio a millones de personas en todo el mundo que presentan dificultades para tener acceso a la red eléctrica (IEA, 2017) y al saneamiento básico del agua (CONAGUA, 2018), brindándoles mayor bienestar y una mejor calidad de vida. Además, el uso de esta tecnología puede contribuir a la disminución de los gases de efecto invernadero.

Ante las problemáticas mencionadas existe una tendencia por seguir mejorando el desarrollo de esta tecnología para llevarla a una escala real y que sea eficazmente sustentable. Es importante seguir investigando diferentes componentes para optimizar el rendimiento del sistema. En vista de que los microorganismos y la resistencia eléctrica son de los componentes más importantes que influyen en dicho rendimiento y, ya que estudios previos han sugerido realizar más investigaciones al respecto (Durán-Domínguez-de-Bazúa et al., 2022; Obileke et al., 2021; Salinas-Juárez et al., 2016; Zhao et al., 2020), esta investigación se centra en evaluar el efecto de las resistencias eléctricas externas sobre la comunidad microbiana presente en el ánodo y su rendimiento de generación de electricidad y de remoción de contaminantes en un humedal artificial asistido electroquímicamente con el fin de contribuir al mejoramiento del sistema.

1.3. Antecedentes

Entre los diferentes factores que afectan el rendimiento de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente (en adelante, HAAE) es necesario un enfoque hacia dos de los que más influyen: Los microorganismos y la resistencia eléctrica externa.

Para comprender mejor el papel de la resistencia externa en el diseño de HAAE, Wang et al. (2019) compararon el efecto de diferentes factores en el rendimiento del HAAE, incluyendo la concentración de oxígeno disuelto en la zona del cátodo, la proporción de reciclaje y la resistencia externa. Entre esos factores, la resistencia externa fue reconocida como el factor que más influyó en la generación de electricidad en un HAAE con una contribución de más del 90%. Por lo tanto, analizaron el rendimiento de la HAAE con varias resistencias externas (de 50 a 2000 Ω) en las mismas condiciones. Encontraron que la máxima densidad de potencia se logró en la resistencia externa de 500 Ω , mientras que la mayor tasa de eliminación de contaminantes se lograba con una resistencia externa de menos de 250 Ω .

Salinas-Juárez et al. (2016) mencionan que la tensión de la celda, bajo una resistencia externa, afecta a la corriente circulante y observaron diferentes especies de microorganismos por medio

de la microscopía, en celdas de combustible biológicas con hidrófitas vivas, pero recomiendan más estudios para identificar los microorganismos presentes.

En cuanto a la investigación de Lyon et al. (2010), ellos demostraron que las CCM alimentadas con aguas residuales domésticas la estructura de la comunidad microbiana cambió con la resistencia externa, de modo que varias combinaciones de comunidades microbianas conducirán a una comparable potencia de salida.

Por otro lado, Katuri et al. (2011) descubrieron que en la CCM alimentada con aguas residuales mixtas (cervecera y doméstica), la resistencia externa tuvo una ligera influencia en la producción de electricidad, pero la mayor corriente se produjo para la menor resistencia aplicada, 0.1 k Ω . Al mismo tiempo, la mayor eficiencia de eliminación de materia orgánica (DQO) se observó para la resistencia externa más alta 50 k Ω .

Sin embargo, existen estudios que demuestran una alta producción de electricidad a valores más elevados de resistencia eléctrica externa. A continuación, se señalan algunos de ellos.

Potrykus et al. (2021) probaron diferentes valores de resistencia eléctrica externa (120, 560, 1000, 1500, 2200, 2700 y 3300 Ω) en el rendimiento de celdas de combustible microbianas; se observó que al aumentar la resistencia externa de 120 a 560 Ω ,—había un incremento en la potencia producida y así sucesivamente con los demás valores de R_{ext} , hasta llegar al máximo de potencia con una resistencia externa de 2200 Ω la cual fue similar a la resistencia interna (2210 Ω) obteniendo 1.6 μ W.

Kim et al. (2019) probaron el rendimiento de diferentes resistencias eléctricas externas (10, 100, 500 y 1000 Ω) en dos CCM con diferentes materiales en el ánodo: Malla de acero inoxidable con nanotubos de carbono y fieltro de grafito, las cuales mostraron la máxima densidad de potencia con 149.9 W/m³ y 21.1 W/m³ de volumen de celda con la R_{ext} más alta (1000 Ω).

Zhang et al. (2011) y Zhu et al. (2014) mencionaron que al cambiar los valores de resistencia eléctrica externa también es probable que cambie el valor del potencial anódico. Por lo tanto, es más factible controlar las condiciones de crecimiento de las bacterias electroquímicamente activas mediante la modificación de la resistencia eléctrica externa en lugar del ajuste del potencial anódico en las aplicaciones de las CCM.

Especialmente, en HAAE, esto sería de gran ayuda, ya que, para modificar el potencial anódico con ayuda de un equipo como un potencióstato, requeriría de una gran capacidad energética para librar la resistencia interna del humedal.

1.4. Hipótesis

La aplicación de diferentes valores de resistencia eléctrica externa a una celda de combustible microbiana con plantas dará resultados de producción de electricidad y de remoción de contaminantes ocasionados por la variación en la comunidad microbiana en los humedales artificiales asistidos electroquímicamente empleados.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del valor de la resistencia eléctrica externa en el desempeño de un humedal asistido electroquímicamente

1.5.2. Objetivos particulares

- Construir un sistema experimental constituido por humedales artificiales asistidos electroquímicamente, a escala de laboratorio, sometidos a valores diferentes de resistencia eléctrica externa midiendo los parámetros de generación eléctrica en humedales artificiales asistidos electroquímicamente comparando cinco diferentes valores de resistencia eléctrica externa aplicados teniendo un control a circuito abierto

- Evaluar la remoción de contaminantes en los humedales artificiales asistidos electroquímicamente y comparar los resultados obtenidos entre los humedales con diferentes valores de resistencia eléctrica externa aplicados
- Realizar la determinación y comparación de las especies microbianas presentes en cada humedal en tres etapas de la investigación: Arranque, estabilización y operación continua
- Determinar el valor de resistencia eléctrica externa que proporcione mejores condiciones de hábitat para los microorganismos exoelectrógenos y para la depuración del agua en tratamiento

1.6a. Metas

- Construcción de seis humedales artificiales a escala de laboratorio empleando la especie vegetal *Phragmites australis* y agua residual sintética
- Utilización de resistencias eléctricas de 20k Ω , 10k Ω , 5k Ω , 1k Ω y 100 Ω , conectadas una a cada uno de los humedales construidos, dejando un humedal sin resistencia como control (circuito abierto, CA) y teniendo finalmente seis humedales a escala de laboratorio
- Determinación de la depuración de agua residual por medio de la medición de materia orgánica disuelta, medida como demanda química de oxígeno total, DQO, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total, nitratos, nitritos y sulfatos
- Evaluación de la producción de electricidad mediante la medición, en cada humedal, del voltaje en circuito abierto, la densidad de potencia y la densidad de corriente eléctrica con respecto al área del ánodo, así como del potencial de los electrodos

1.6b. Alcances

- Instalación del sistema experimental al aire libre, bajo la sombra, a temperatura ambiente, ejecutando el experimento durante 203 días.

En el siguiente capítulo se presentan los fundamentos de esta investigación experimental.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS

A continuación, se describirán los componentes, características y modos de funcionamiento de las tecnologías que conforman un humedal artificial asistido electroquímicamente, HAAE. Estos sistemas son los humedales utilizados para el tratamiento de agua en lo que se incluyen las celdas de combustible microbianas utilizadas para la generación de electricidad. Teniendo en cuenta que cada uno de los componentes, tanto del humedal como de la celda electroquímica, tiene una función específica e importante para el buen funcionamiento del sistema y que lo que principalmente se busca es mejorar su desempeño, en el presente trabajo se toma en cuenta lo realizado en estudios previos, para probar diferentes valores de resistencias eléctricas externas.

2.1. Humedales artificiales

Los humedales artificiales (en adelante, HA) han sido definidos como “sistemas de ingeniería, diseñados y construidos para utilizar las funciones naturales de los humedales, de la vegetación, los suelos y de sus poblaciones microbianas para el tratamiento de contaminantes en aguas residuales” (ITRC, 2003).

Físicamente, el HA es un sistema diseñado con componentes clave que desempeñan un papel importante en la degradación de los contaminantes cuando las aguas residuales pasan por él.

Los componentes principales de los humedales artificiales son los siguientes:

- **Plantas (macrófitas acuáticas o hidrófitas):** Las hidrófitas son las plantas acuáticas de mayor tamaño que proporcionan un entorno, una superficie y nutrientes para el desarrollo de los microorganismos, ayudan a la filtración de material en suspensión, participan en la eliminación de materia orgánica y nutrientes, protegen y estabilizan el medio de soporte

obstruyendo la formación de canales de erosión a través de su denso sistema de raíces (Valipour y Ahn, 2015).

- **Microorganismos:** Es una comunidad microbiana diversa y resistente formada por arqueas, bacterias, hongos, algas, protozoos y metazoos encargados de absorber los contaminantes a través de varios mecanismos metabólicos. En ciertas zonas del humedal algunos de estos microorganismos llegan a formar una biopelícula que es parte de la amplia diversidad microbiana. Esta biopelícula aporta beneficios al sistema como ayudar a atrapar los sólidos en suspensión. Puede actuar como un buen sumidero para retener fosfatos y jugar un papel importante a través del proceso de nitrificación y desnitrificación eliminando el nitrógeno y el fósforo (Chen et al., 2016; Liu et al., 2014a; Srivastava et al., 2017).
- **Medio de soporte:** Los medios de soporte (llamados en algunas publicaciones ‘sustratos’³) son el principal bloque de soporte en el que se sustenta todo el sistema del HA. Además de ser la matriz de soporte, desempeña un papel importante como plataforma para el crecimiento de las macrófitas, el desarrollo de biopelículas microbianas y como sitios de reacción para la inmovilización y/o degradación de contaminantes cuando no son inertes (Wu et al., 2015)

El tratamiento de aguas residuales por medio de HA se basa en una serie de etapas físicas y bioquímicas como son: Adsorción, precipitación, filtración, nitrificación, depredación, descomposición, etc. La operación más importante es la ‘filtración’ biológica, realizada por la biopelícula que está compuesta por microorganismos, mayoritariamente bacterias aerobias y facultativas. La eficiencia de los procesos de tratamiento aerobio depende de la relación de demanda (carga) y suministro del oxígeno (diseño del HA) (Hoffman et al., 2011). Cuando los HA están acoplados con CCM existen más factores que influyen en la eficiencia del tratamiento como el valor de las resistencias eléctricas externas.

Las configuraciones de diseño de los HA se clasifican según el patrón de flujo a través del sistema, el tipo de agua residual tratada, el medio de soporte, las plantas, el tipo de uso

³ Sustrato es el reactivo en una biorreacción y se transforma en el producto de esa biorreacción [Nota de la tutora]

operativo y el nivel de tratamiento deseado. Entre estos criterios, hay tres tipos principales de HA considerados en función de los patrones de flujo (**Figura 2.1**) (IWA, 2000):

- Sistemas de flujo libre superficial
- Flujo subsuperficial horizontal
- Flujo subsuperficial vertical

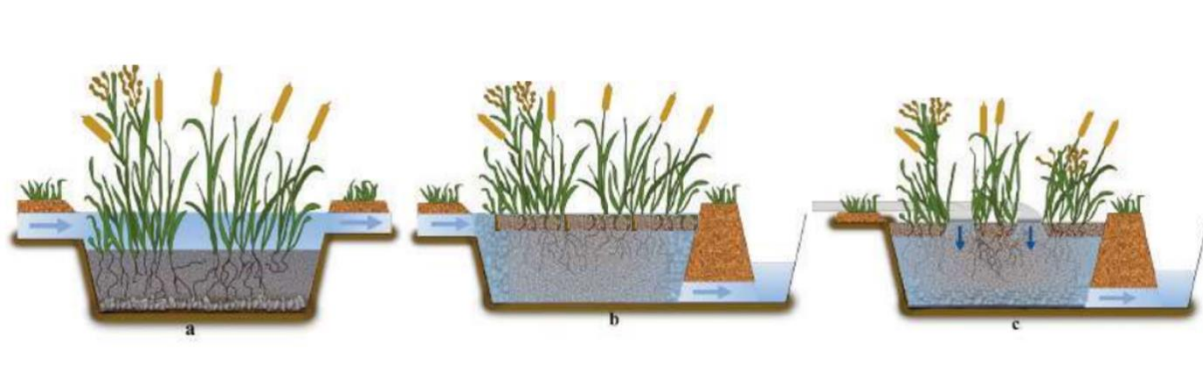


Figura 2.1. Tipos de humedales: a) Flujo libre superficial, b) Flujo subsuperficial horizontal, c) Flujo subsuperficial vertical (Montenegro-Rosero et al., 2019)

Los HA de flujo libre superficial se definen por la exposición de la superficie del agua a la atmósfera y profundidades de estanque de alrededor de 0.3 m, donde el tratamiento se realiza en gran medida dentro de la columna de agua (EPA, 2000).

Los sistemas de flujo subsuperficial horizontal (FSH) se basan en que el flujo de agua pasa a través del material de soporte en una configuración horizontal. Los HAFSH tienen poca profundidad (entre 0.3 a 1.0 m) llena de material filtrante (normalmente arena o grava u otro material pétreo disponible en el área de construcción) y plantada con vegetación que tolera las condiciones de saturación o inmersión (también preferentemente de la zona). Dentro del biorreactor, las aguas residuales se encuentran con zonas aerobias, anóxicas y anaerobias asociadas con la profundidad relativa con respecto de la total, la profundidad de las raíces de las plantas y la profundidad general del HA (Eslamian et al., 2013), así como la disponibilidad de aceptores de electrones (oxígeno molecular, nitratos, sulfatos, etc.), de acuerdo con las definiciones que se han dado a estos términos de aerobio, anaerobio y anóxico (ver Glosario).

A diferencia de los HAFSH, los sistemas de flujo subsuperficial vertical (HAFSV) se basan en que el flujo de agua pasa a través del material del sustrato en una configuración vertical. Un humedal de flujo vertical es un lecho filtrante plantado que se drena en la parte inferior. Las aguas residuales se vierten o dosifican en la superficie desde arriba mediante un sistema mecánico de dosificación. El agua fluye verticalmente hacia abajo a través de la matriz filtrante hasta el fondo del reactor, donde se recoge en una tubería de drenaje. La diferencia importante entre un humedal vertical y uno horizontal no es simplemente la dirección de la trayectoria del flujo, sino las condiciones de aerobiosis que cada uno de los flujos impone en diferentes zonas del humedal (Tilley et al., 2014).

2.2. Celdas de combustible microbianas (CCM)

La CCM es un dispositivo bioelectroquímico que transforma directamente la energía química contenida en sustratos orgánicos en electricidad mediante la actividad microbiana. Estructuralmente, una celda de combustible microbiana consta de dos cámaras que alojan a los electrodos: una para el ánodo y otra para el cátodo, separadas por una membrana de intercambio de cationes (en algunos casos la membrana es específicamente selectiva para intercambio de protones). La cámara del ánodo contiene los microorganismos electroquímicamente activos (específicamente, éstos crecen en la superficie del ánodo), mientras que el cátodo es abiótico, aunque hay investigaciones que incluyen un biocátodo con cianobacterias o microalgas. Los microorganismos en el ánodo (arqueas y/o bacterias) actúan como biocatalizadores que realizan la degradación de materiales orgánicos para transferir electrones que viajan hacia el lado del cátodo a través de un material conductor que incluye una resistencia eléctrica dentro del circuito eléctrico externo (**Figura 2.2**) (de-Juan, 2014; Logan et al., 2006; Salinas-Juárez et al., 2016). Existen algunos factores que deben ser considerados para favorecer el rendimiento de la celda de combustible microbiana. Estos incluyen: La disponibilidad del sustrato, la presencia de enzimas óxido-reductoras ('redox'), la oxidación del combustible en el ánodo, la resistencia eléctrica externa del circuito, la reducción de oxígeno en el cátodo, así como la transferencia de protones al cátodo a través de la membrana que resulta en la variación del pH y también obstaculiza las actividades

microbianas (Chen et al., 2019; Flimban et al., 2019; Oibileke et al., 2021; Prathiba et al., 2021; Salinas-Juárez et al., 2016). Es importante mencionar que las enzimas óxido-reductoras se encuentran en las bacterias electroquímicamente activas, quienes realizan la transferencia de electrones al ánodo y están involucradas en la eficiencia con la que este proceso de transferencia de carga ocurre.

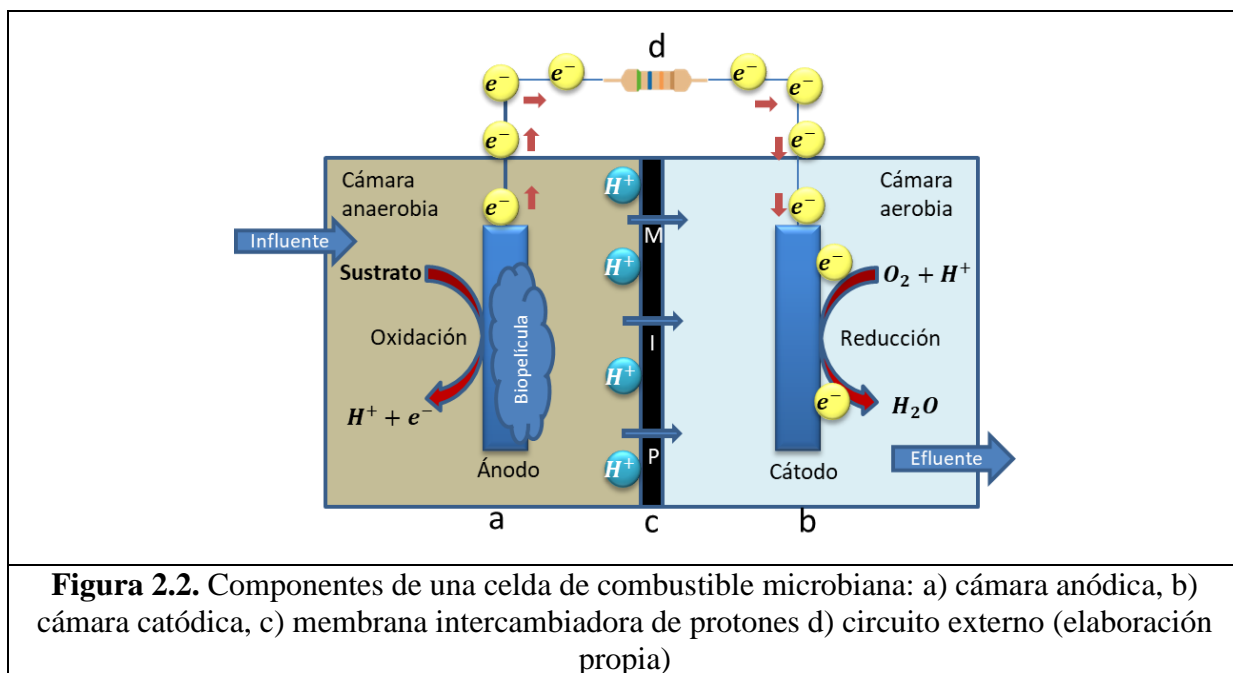


Figura 2.2. Componentes de una celda de combustible microbiana: a) cámara anódica, b) cámara catódica, c) membrana intercambiadora de protones d) circuito externo (elaboración propia)

Las partes que componen una celda de combustible microbiana se describen a continuación.

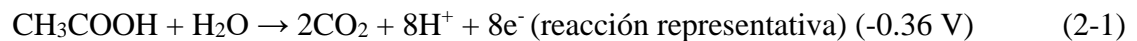
2.2.1. Ánodo

En la cámara anódica (ánodo) ocurre la oxidación microbiana anaerobia, en la que las bacterias obtienen energía usando sustancias químicas diferentes del oxígeno del aire y de los nitratos. A partir de lo anterior se dice que estas bacterias usan un mecanismo anaerobio obligado y, al oxidar acetato (sustrato) a dióxido de carbono, resulta la transferencia de electrones y protones.

En una celda de combustible microbiana alimentada con agua residual normalmente se encuentran varios compuestos orgánicos. En un HAAE la variedad de los compuestos orgánicos puede ser mayor por la aportación de las plantas. Sin embargo, con el objetivo de

establecer puntos de referencia para estudiar los fenómenos que ocurren en estos sistemas, se ha utilizado la reacción de oxidación del acetato como uno de sus puntos de referencia, considerando que el acetato es un sustrato fácilmente degradado por las bacterias electroquímicamente activas y que generalmente se encuentra presente. A continuación, se presenta la reacción de oxidación del acetato.

Reacción (1) en la cámara anódica:



Posteriormente, los electrones van del ánodo al cátodo a través de un circuito externo integrado y los protones migran a través de la membrana de intercambio de protones hasta la cámara catódica manteniendo la neutralidad de la carga (Kim et al., 2008).

2.2.2. Cátodo

Los electrones son los elementos valiosos de la reacción de oxidación de la cámara anódica que viajan a través de un cable conductor hasta la cámara catódica. Además, los electrones reaccionan con los protones y el oxígeno para formar moléculas de agua (reducción) como sub-producto.

Reacción (2) en la cámara catódica:



2.2.3. Membrana de intercambio de protones, MIP

Como parte del proceso, los protones se desplazan a la cámara catódica a través de la membrana que une tanto a la cámara anódica como a la catódica. Sin embargo, la membrana sólo es permeable a cationes y en algunos casos sólo a los protones (H^+). Eso quiere decir que no permite que los electrones pasen a través de ella. Por tanto, la presencia de oxígeno en la cámara catódica es importante para completar la reacción de reducción del oxígeno. La función de la MIP es actuar como barrera para la restricción de la difusión de oxígeno desde el cátodo al ánodo, mientras que es permeable a la migración de protones desde el ánodo al

cátodo. Además, permite el paso de protones al tiempo que garantiza que el oxígeno de la cámara catódica y los electrones no se crucen (Flimban et al., 2019).

Cabe mencionar que existen diseños de celdas de combustible microbianas que no incluyen esta membrana, en su lugar se utilizan materiales sustitutos o diseños que no incluyen membrana. Normalmente este tipo de membranas selectivas son costosas y para abatir el costo se buscan materiales que permitan fenómenos similares del paso selectivo de iones (Ortiz-Zamora et al., 2023).

2.2.4. Resistencia eléctrica externa

La resistencia externa es un factor muy importante que afecta a la cantidad de corriente producida en el sistema. Se ha observado que la resistencia eléctrica externa impulsa el potencial anódico e influye en la competencia entre especies electrogénicas y no electrogénicas y, así mismo, tiene un efecto en la eficiencia de remoción de la materia orgánica (Kloch y Toczyłowska-Mamińska, 2020; Rismani-Yazdi et al., 2011).

La carga del circuito, es decir, la resistencia externa se utiliza: Para disipar la energía eléctrica cuando las CCM funcionan independientemente de un dispositivo eléctrico y como parte integrada de una red eléctrica que controla las salidas características de las CCM. La resistencia externa (R_{ext}) controla el flujo de electrones del ánodo al cátodo, afectando a las salidas de potencial (V) y corriente (I) de las celdas de combustible según la Ley de Ohm ($V=IR_{ext}$). La potencia de salida (W) se ve consecuentemente afectada por la resistencia externa (Rismani-Yazdi et al., 2011):

$$W=I^2 R_{ext} \tag{2-3}$$

Para evaluar la eficiencia de la CCM se utilizan parámetros eléctricos calculados a partir del voltaje y la corriente medidos en la celda. Algunos de estos parámetros son la densidad de potencia, que depende del área del electrodo, la resistencia externa e interna, la corriente eléctrica y la eficiencia coulombica. Este último parámetro se define como la fracción de electrones recuperados frente a los electrones totales presentes en el sustrato, es decir una

relación de la energía eléctrica obtenida y la degradación de la materia orgánica medida como DQO (Fang et al., 2013; Wu et al., 2014).

Teóricamente, en una CCM la máxima potencia de salida se puede alcanzar cuando la resistencia interna es igual a la resistencia externa (Logan et al., 2006) y, en general, una R_{ext} menor induce un mayor flujo de electrones y un menor potencial anódico, lo que conduce a una mayor ganancia de energía para las bacterias y a un aumento significativo de la generación de corriente y la producción de energía (Aelterman et al., 2008).

La variación de la resistencia externa afecta no solamente a la generación de electricidad, sino también a la comunidad anódica, probablemente debido a la adaptación de los microorganismos (Jung y Regan, 2011; Lyon et al., 2010).

De acuerdo con lo reportado, al cambiar la resistencia eléctrica externa también es probable que cambie el potencial anódico. Por lo tanto, es más factible controlar las condiciones de proliferación de las bacterias electroquímicamente activas mediante la modificación de la resistencia eléctrica externa en lugar del ajuste del potencial anódico con la ayuda de equipos como un potencióstato en las aplicaciones de las CCM (Zhang et al., 2011; Zhu et al., 2014).

Se ha descrito que las diferencias observadas en los potenciales anódicos cuando la CCM es operada a diferentes cargas externas actúan como una fuerza de selección para los diferentes microorganismos electrogénicos (Schröder, 2007).

2.2.5. Microorganismos

Los microorganismos son el componente más importante en la tecnología de los CCM debido a que son los encargados de formar biopelículas conductoras en los electrodos para transferir electrones que son aprovechados para producir electricidad (cosechar energía) (Liu et al., 2014b).

Los principales mecanismos de los microorganismos electroquímicamente activos son las características metabólicas o fisiológicas y los fundamentos de las reacciones anódicas o

catódicas, ya que son los biocatalizadores clave implicados en la generación de electricidad en las CCM para que transfieran electrones a los electrodos (Schröder, 2007).

Se ha descubierto que un número creciente de microorganismos tienen electroactividad y éstos pueden dividirse en dos tipos: Exoelectrogénicos y los electrógenos. Los primeros transfieren a los ánodos los electrones generados por un sustrato a partir de su oxidación, mientras que los segundos capturan electrones de cátodos para el propio metabolismo fisiológico de la célula (Logan et al., 2019).

Se han propuesto varios mecanismos para la transferencia de electrones a los ánodos, entre ellos: La transferencia directa de electrones (TDE) a través de los citocromos de tipo C de la superficie exterior de la membrana celular, la transferencia de electrones de largo alcance a través de pili-conductores y nanocables microbianos que pueden lograr un largo rango de transferencia de electrones, así como la transferencia mediada de electrones, con la ayuda de sustancias (mediadores) que serán las que transporten a los electrones (TME) (Kumar et al., 2016; Logan et al., 2019).

Estos mecanismos de transferencia de electrones, así como la membrana externa de las bacterias que se considera comúnmente como una barrera menos permeable para el transporte de electrones, son los responsables de la producción de electricidad de la celda de combustible microbiana (Liu et al., 2012).

En general, si se mejora la permeabilidad de la membrana celular, se puede acelerar la transferencia de electrones. Esto se debe a que una mayor permeabilidad de la membrana celular puede permitir una mayor difusión de los electrones a través de la membrana, lo que facilita la transferencia de electrones entre los microorganismos y los electrodos (Yong et al., 2012). Esta mejora de la permeabilidad de la membrana es un poco más factible en bacterias Gram negativas que en las bacterias Gram positivas debido a que la membrana es más fina en las bacterias Gram negativas (Modestra y Mohan, 2014) y, por lo tanto, existe una mayor cantidad de bacterias Gram negativas que son exoelectrogénicas.

Muchos de los microorganismos exoelectrogénicos que pueden producir corriente en el ánodo provienen de tres dominios diferentes de la vida, los cuales son (Koch y Harnisch, 2016; Logan et al., 2019):

1. Bacterias (Gram positivas y Gram negativas) de los *phyla* Firmicutes, Actinobacterias y en todas las clases de Proteobacterias.
2. Arqueas como el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*.
3. Eucariotas del reino Fungi como *Saccharomyces cerevisiae*.

Sin embargo, en una comunidad microbiana mixta en las celdas de combustible microbianas, también se encuentran presentes algunos microorganismos no exoelectrogénicos, los cuales pueden facilitar el proceso de transferencia de electrones a los microorganismos exoelectrogénicos. Los microorganismos no exoelectrogénicos pueden ayudar en la producción y secreción de mediadores extracelulares para mejorar la transferencia de electrones entre las diferentes especies microbianas (Kim et al., 2007).

Por lo tanto, las mayores densidades de potencia se producen casi siempre inoculando el ánodo con una fuente rica y diversa de microorganismos. Debido a esta diversidad de microorganismos y a las condiciones en las que se desarrollan se brindan nuevas oportunidades para los dispositivos electroquímicos, como las celdas de combustible microbianas que generan electricidad (Logan, 2009; Logan et al., 2019).

2.3. Aplicaciones de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente

En la última década se ha producido un rápido desarrollo de la tecnología de humedales artificiales asistidos electroquímicamente (HAAE). La primera publicación sobre la combinación de humedales artificiales (HA) y celdas de combustible microbianas (CCM) fue reportada por Yadav et al. (2012). Posteriormente, la investigación sobre el tema ha crecido rápidamente para mejorar el rendimiento de los HAAE en su doble función de tratamiento de aguas residuales y generación de electricidad (Ebrahim et al., 2021).

Los HAAE reducen las concentraciones de contaminantes a través de un complejo mecanismo involucrando operaciones físicas, químicas y biológicas que se producen a través de interacciones entre el agua, el soporte, las plantas y los microorganismos (Chang et al., 2012). Al mismo tiempo, está conectada una celda de combustible microbiana donde la cámara anódica se encuentra en una zona anaerobia ubicada, generalmente, al fondo del humedal artificial y, una cámara catódica, que se encuentra en una zona aerobia ubicada en la rizosfera y/o en la superficie del humedal artificial (Yang et al., 2016). El ánodo y el cátodo están conectados entre sí mediante un circuito eléctrico externo, el cual sirve para medir la electricidad generada (Montenegro-Rosero et al., 2019).

En estos sistemas es posible aprovechar su capacidad ya conocida para la remoción de contaminantes provenientes de aguas residuales y la producción de electrones que pueden ser colectados generando una corriente eléctrica utilizable, lo que los convierte en sistemas sustentables (Salinas-Juárez, 2016; Salinas-Juárez et al., 2017).

Esta tecnología innovadora para la producción de electricidad aparte de ser sostenible puede ser ampliamente integrada en todo el mundo. Dicha tecnología permite la producción de electricidad en todos los sitios donde las plantas puedan crecer, ya que está basada en los procesos naturales y no daña a la planta o a su entorno (Salinas-Juárez et al., 2017).

A continuación, en el siguiente capítulo se presentará la metodología seguida en esta investigación.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

Se construyeron seis reactores simulando humedales artificiales de flujo subsuperficial de flujo vertical a escala de laboratorio empleando la especie vegetal *Phragmites australis* y agua residual sintética, los componentes de una celda de combustible microbiana se implementaron en los humedales.

3.1. Diseño experimental

En el diseño experimental se evaluó el efecto de cinco valores diferentes de resistencias eléctricas externas, una resistencia por reactor. También se evaluó un reactor en circuito abierto, siendo las variables de respuesta el rendimiento de producción de electricidad y la remoción de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno total, DQO. Las diferentes variables que se estudiaron en este proyecto se muestran a continuación:

Variable independiente:

- Resistencia eléctrica externa

Variables dependientes:

Variables de producción eléctrica:

- Voltaje en circuito abierto y cerrado (diario)
- Corriente eléctrica
- Potencia
- Resistencia eléctrica

Variables de remoción de contaminantes:

- DQO total
- Nitrógeno total Kjeldahl

- Nitrógeno amoniacal
- Nitratos y nitritos

3.2. Configuración de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente a escala de laboratorio

Los humedales fueron de flujo subsuperficial vertical ascendente, con un tiempo de residencia hidráulica de 2 días, con las condiciones de operación de temperatura y humedad ambiente, al aire libre, bajo sombra y se colocaron en la parte exterior del Laboratorio 303 de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAYQA, que se encuentra, en el Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM en la Ciudad Universitaria, Ciudad de México.

Los cálculos hidráulicos para la obtención del volumen y del caudal con un tiempo de residencia hidráulico de 2 días se realizaron con las siguientes ecuaciones.

La ecuación para determinar el volumen total es:

$$V_T = \pi * r^2 * h \quad (3-1)$$

$$V_T = 3.1416 * 64 \text{ cm}^2 * 40 \text{ cm}$$

$$V_T = 8.07 \text{ L}$$

donde:

$$V_T = \text{Volumen total del reactor (cilindro)} (\text{cm}^3) \quad 1 \text{ cm}^3 = 0.001 \text{ L}$$

$$\pi = \text{valor de pi } 3.1416$$

$$r^2 = \text{radio (cm}^2\text{)}$$

$$h = \text{altura (cm)}$$

La ecuación para determinar el caudal es:

$$Q = \frac{V}{t} \quad (3-2)$$

$$Q = \frac{4.20 \text{ L}}{2 \text{ días}}$$

$$(2.1 \text{ L/día}) \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) \left(\frac{1 \text{ día}}{1440 \text{ min}} \right) = 1.46 \text{ mL/min}$$

donde:

Q = caudal

V = Volumen

t = tiempo

Las dimensiones, componentes y configuración de los reactores fueron tomadas con base en los trabajos de tesis realizados anteriormente en los LIQAYQA (Miranda-Méndez, 2017; Orduña-Bustamante, 2012; Ortiz-Zamora, 2018). Los componentes para cada uno de los reactores se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Componentes de los reactores

Planta	Sustrato	Electrodos	Material de separación	Colector de corriente	Resistencias
<i>Phragmites australis</i>	Tezontle	Fieltro de carbón	Pellón	Placa de acero inoxidable	20 k Ω 10 k Ω 5 k Ω 1 k Ω 100 Ω Circuito abierto, CA

Nota: Todos los reactores tienen los mismos componentes y solamente difieren en el valor de la resistencia eléctrica externa conectada a cada reactor

Para la construcción de los HAAE se utilizaron como base tubos de PVC de 40 cm de altura y 16 cm de diámetro y se les hicieron dos orificios que funcionaron como soportes para introducir el influente por el borde inferior y sacar el efluente a 2 cm por debajo del borde superior del recipiente. En el interior de esta base se colocaron otros dos tubos de PVC con la misma altura, pero con 3.81 cm (1.5 in) y 1.27 cm (0.5 in) de diámetro. Se agregó el medio de soporte (tezontle⁴) desde la base hasta 30 cm de altura. Sobre el tezontle se colocó una película hecha con un material sintético no tejido, conocido comercialmente como ‘pellón’ del mismo diámetro que el tubo de PVC en el cual se colocó el ánodo de fieltro de carbón cosido a una placa de acero inoxidable (que funcionó como colector de corriente). Se agregó una cama o

⁴ Tezontle es una palabra de origen náhuatl o azteca que significa piedra ligera como los cabellos, de *tetl*=piedra y *tzontli*=cabellos (Cabrera, 2002) por ser una piedra de origen volcánico extrusivo que hace que entre aire durante su formación y tenga muchos poros haciendo que presente una gran área superficial para la formación y soporte de la biopelícula

lecho de grafito en polvo solamente para recubrir el ánodo (menos de 1 cm de espesor). Posteriormente, se colocó una planta acuática pre-acondicionada al agua residual sintética en el centro de cada reactor y a 10 cm arriba del ánodo se colocó el material de separación entre los electrodos, que era otra película de pellón. Los electrodos estaban conectados por una resistencia eléctrica externa con un valor diferente para cada uno de los reactores, utilizando un reactor en circuito abierto como control.

3.3. Construcción de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente

La especie de planta que se utilizó fue *Phragmites australis* debido a que su uso para el tratamiento de aguas es común, principalmente en los humedales artificiales de flujo subsuperficial, mostrando un buen rendimiento en la remoción de contaminantes (Calheiros et al., 2009; Köbbing et al., 2013). Las plantas fueron obtenidas del humedal artificial de la FES Zaragoza Campus 2 (**Figura 3.1**) y se pre-acondicionaron en cubetas de material plástico con agua residual sintética preparada con agua de la llave. El tiempo de adaptación de las plantas fue de 30 días.



Figura 3.1. Carrizos (*Phragmites australis*), fotografía cortesía de Fuerte-Martínez (2022)

El medio de soporte utilizado, como ya se mencionó arriba, fue tezontle. Este material es ampliamente utilizado debido a su bajo costo y fácil obtención (Castellanos-Z. y Vargas-T., 2009). El tezontle se adquirió en una tienda de materiales de construcción (**Figura 3.2**).



Figura 3.2. Tamizado y lavado del tezontle antes de su esterilización (fotografía cortesía de Pérez-González, 2017)

Se requiere tener un tamaño entre 5 y 10 mm para mejorar el flujo hidráulico. Por ello, se llevó a cabo un proceso de tamizado, lavado y esterilización a 125°C por 1 hora (Ortiz-Zamora, 2018).

Los tubos interiores de los reactores fueron para captar el líquido que se muestrearía y para introducir el electrodo de referencia y obtener los valores de potencial de los electrodos. El primero de los tubos estaba perforado con pequeños orificios para obtener los valores de caracterización del electrolito (**Figuras 3.3, 3.4**). El volumen total de cada reactor fue de 8.04 L y el volumen de trabajo medido fue de 4.20 L. Los HAAE utilizaron un sistema de 3 electrodos: Electrodo de trabajo (ánodo), electrodo de referencia (Ag/AgCl) y electrodo auxiliar (cátodo). El ánodo y cátodo fueron construidos, como ya se mencionó antes, con filtros de carbón y el ánodo contaba con una capa de carbón activado (Luken Tecnología Química, S.A. de C.V.). El electrodo de referencia únicamente se empleaba para obtener los

valores de potencial del ánodo y del cátodo. Por lo tanto, la CCM únicamente incluyó dos electrodos, el ánodo y el cátodo (**Figura 3.5**).

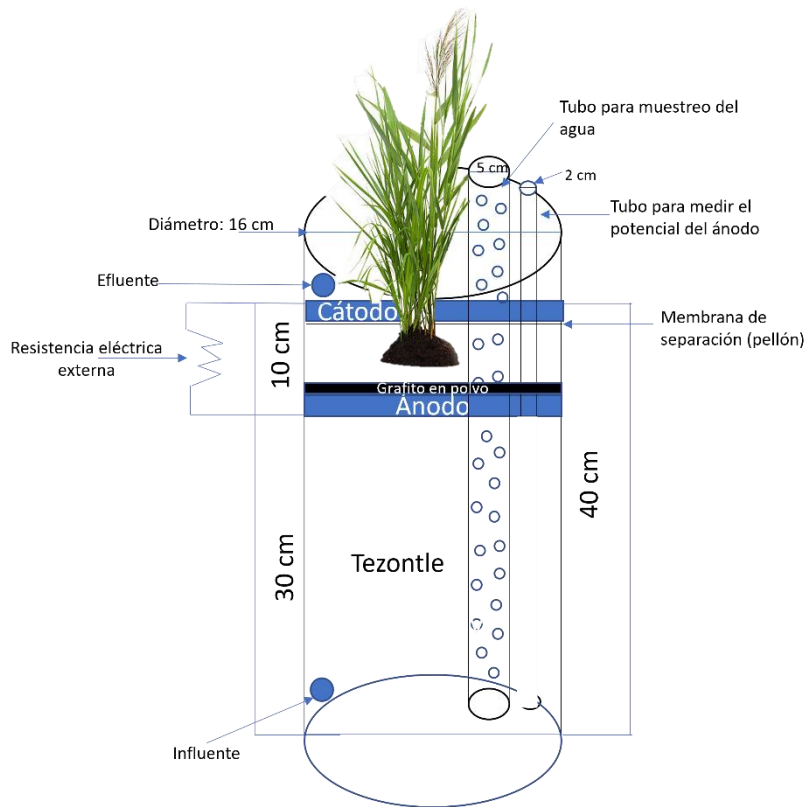


Figura 3.3. Esquema general del HAAE (reactor) [Alturas de muestreo para análisis fisicoquímicos: C=Cátodo; A=Ánodo; F=Fondo del reactor]



Figura 3.4. Materiales y construcción de la base de los reactores



Figura 3.5. Ánodos a la izquierda y cátodos a la derecha

Los materiales de carbono son los electrodos más utilizados debido a su estabilidad química, conductividad eléctrica, biocompatibilidad y costo relativamente bajo. Dichos electrodos fueron modificados por medio de un proceso de oxidación térmica que crea centros de activación para aumentar, tanto el área superficial específica (facilitando la formación de la biopelícula) como la cinética de transferencia de electrones. Este arreglo ha mostrado tener un mejor rendimiento del ánodo siendo más efectivo en comparación con un ánodo sin ningún tratamiento, aumentando la producción de electricidad en un 78% (Cercado et al., 2013; Cercado-Quezada et al., 2011). Estos electrodos fueron conectados a colectores de corriente los cuales constaron de una placa de acero inoxidable, la cual ha mostrado alta conductividad, buena resistencia mecánica, bajo costo y propiedad anticorrosiva (Guo et al., 2016; Luviano-Vigueras, 2020). Dado que se construyeron seis humedales, en cada humedal se conectó una resistencia eléctrica diferente que permaneció en conexión desde el día 55 hasta el fin del experimento. Los valores de resistencia eléctrica fueron: 20 k Ω , 10 k Ω , 5 k Ω , 1 k Ω , 100 Ω . Esto se definió de acuerdo con los artículos consultados en la revisión bibliográfica donde la mayor parte de los estudios utilizaron valores de resistencia entre 1 a 1000 Ω (Kim et al., 2019; Leininger et al., 2021; Rossi y Logan 2020; Zhang et al., 2011). Además, son pocos los estudios realizados con valores de resistencia eléctrica arriba de 5 k Ω . Algunos estudios han demostrado una alta producción de electricidad a valores de resistencia eléctrica externa entre 1 y 3 k Ω (Cai et al., 2020; Kim et al., 2019; Potrykus et al., 2021). Se reitera lo señalado arriba de que el reactor en circuito abierto era el control.

El material de separación seleccionado, la fibra sintética no tejida (pellón), ha demostrado ser eficiente, accesible y de bajo costo comparado con otros materiales para membranas (Ortiz-Zamora, 2018; Ortiz-Zamora et al., 2023). Se colocó, como ya se mencionó, entre la parte anódica y la catódica y se adquirió en una tienda de telas (Grupo Parisina, S.A. de C.V., Ciudad de México).

El inóculo consistió en lodos anaerobios, debido a que contienen un cultivo mixto rico en arqueas y bacterias anaerobias encargadas de oxidar la materia orgánica del agua residual y llegan a formar con éxito biopelículas anódicas electroquímicamente activas (Tutar et al., 2020). Los lodos provenían de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria de la UNAM y fueron proporcionados al Laboratorio L301 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.

Se utilizó agua residual sintética preparada en el laboratorio con el fin de simular un agua residual doméstica para mantener un control de las características del influente y, además, proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento adecuado de las plantas que se utilizaron en los reactores. Se tomó la fórmula de Orduña-Bustamante et al. (2012) modificando la cantidad de cloruros para favorecer las mediciones del electrodo de referencia y la de acetato de sodio para incrementar la cantidad de materia carbonosa biodegradable (**Tabla 3.2**).

Tabla 3.2. Concentración de nutrientes que contiene el agua residual sintética

Elemento	Compuesto adicionado	Cantidad en mg/L
Sulfato de magnesio	MgSO ₄	4.95
Cloruro de amonio	NH ₄ Cl	141.30
Cloruro de potasio	KCl	38.13
Cloruro de calcio	CaCl	1.00
Monofosfato de amonio ⁵	NH ₄ H ₂ PO ₄	26.22
Acetato de sodio	C ₂ H ₃ NaO ₂	128

De acuerdo con la modificación se adicionaron iones cloruro para medir el potencial de los electrodos (Luviano-Vigueras, 2020). Los potenciales de los electrodos se midieron

⁵ Es el nombre correcto de este compuesto químico [nota de la tutora]

con respecto de un electrodo de referencia, en este caso, un electrodo de plata-cloruro de plata (Ag/AgCl), que consiste en un alambre de plata recubierto por cloruro de plata sólido que permanece en contacto con la solución que contiene aniones de cloruro (KCl) (Spitzer y Wunderli, 2013). Este es uno de los electrodos de referencia más utilizado en la práctica electroquímica debido a la sencillez de su construcción, a que pueden ser muy compactos y, principalmente, a que por sus propiedades no contaminan el medio (Spitzer y Wunderli, 2013).

3.4. Operación de los reactores

Los recipientes conteniendo el agua residual sintética de alimentación y los reactores se conectaron mediante equipos tipo venoclisis originalmente porque no había disponibilidad de una bomba peristáltica para regular la distribución del agua hacia los reactores y tener un tiempo de residencia hidráulica de 2 días. El influente se depositó en recipientes de polietileno de alta densidad (PAD) con un volumen de 4.2 L. Este sistema se utilizó hasta el día 53 y fue remplazado por un solo recipiente de PAD de 30 L y de una bomba peristáltica marca Masterflex, modelo: 77521-40, alimentando a cada uno de los reactores.

3.5. Mediciones de parámetros de seguimiento

3.5.1. Medición de parámetros eléctricos

La lectura de la intensidad de corriente eléctrica y el voltaje en circuito abierto y cerrado se midieron todos los días de manera directa con un multímetro digital de la marca KNOVA modelo KN-8052. Para la determinación de la potencia eléctrica se utilizó una caja de resistencias eléctricas externas variables de la marca Extech instruments modelo 380400. Se utilizaron dos multímetros (KNOVA modelo KN-8052 y BK Precision, modelo 390 A) para medir la corriente producida y el voltaje generado, respectivamente. Posteriormente, se emplearon las ecuaciones mostradas abajo para obtener los cálculos de la potencia eléctrica, densidad de potencia y densidad de corriente producida por el sistema experimental.

La ecuación para determinar la potencia eléctrica fue:

$$P = VI \quad (3-3)$$

donde:

P = Potencia (Watt)

V = Voltaje (Volt)

I = Corriente eléctrica medida (Ampere)

La ecuación para determinar la densidad de potencia es:

$$P_d = \frac{P}{A_a} \quad (3-4)$$

donde:

P_d = Densidad de potencia (mW/m²)

P = Potencia obtenida (mW) en ecuación 3-3.

A_a = Área geométrica del ánodo (m²) (ver **Figura 3.6**)



Figura 3.6. Filtro de carbón correspondiente al ánodo. Área del ánodo = 0.020106 m²

La ecuación para determinar la de densidad de corriente es:

$$J = \frac{I}{A_a} \quad (3-5)$$

donde:

J = Densidad de corriente (mA/m²)

I = Corriente eléctrica medida (mA)

A_a = Área geométrica del ánodo (m²) (ver **Figura 3.6** arriba)

La ecuación para determinar el área geométrica del ánodo es:

$$A_a = (\pi) \left(\frac{D}{2}\right)^2 \quad (3-6)$$

donde:

A_a = Área geométrica del ánodo (m²) (ver **Figura 3.6** arriba)

D = Diámetro del ánodo

π = Pi

Posteriormente, se construyeron curvas de polarización y de potencia tres veces por semana para caracterizar el rendimiento y el comportamiento electroquímico en cada uno de los humedales artificiales asistidos electroquímicamente (Villaseñor et al., 2013).

Se midió el potencial del ánodo y del cátodo con un multímetro (KNOVA modelo KN-8052) y un electrodo de referencia de Ag/AgCl (construido en la FESZ, UNAM, México), como se mencionó anteriormente.

3.5.2. Análisis de parámetros fisicoquímicos

La medición de los parámetros de potencial de hidrógeno (pH), potencial redox (pOR), temperatura (T) y conductividad eléctrica (CE) se llevó a cabo mediante el uso de un equipo digital multiparamétrico marca Hanna Instruments Modelo HI-9828 (EE. UU.), el cual mide de manera simultánea dichos parámetros. Los sitios de muestreo se presentan en la Figura 3.3

(C=Cátodo; A=Ánodo; F=Fondo del reactor), empleando el tubo construido *ad hoc* para ese propósito.

3.5.3. Análisis de remoción de contaminantes del agua residual sintética

3.5.3.1. Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO se define como la cantidad de equivalentes de oxígeno consumidos en la oxidación química de la materia orgánica por un oxidante fuerte (por ejemplo, dicromato de potasio). Se utiliza como medida de los contaminantes en el agua, las aguas residuales y los residuos acuosos peligrosos. Una de las aplicaciones del ensayo de la DQO es en la medición de la materia orgánica en las aguas residuales, ya que su determinación es fundamental para la modelación precisa de la biotransformación en los procesos de tratamiento de aguas residuales (Hu y Grasso, 2005). Esta técnica fue aplicada según lo establecido por la norma mexicana NMX-AA-030-1-SCFI-2012 (DOF, 2012).

3.5.3.2. Nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos

En el agua residual, el nitrógeno puede estar presente en múltiples formas y son numerosas las transformaciones que puede sufrir debido a los procesos de nitrificación y desnitrificación (Metcalf y Eddy, 1995). El nitrógeno presente en cuerpos de agua naturales en niveles inadecuados puede provocar un crecimiento excesivo de las plantas (es rápidamente asimilado), aumentando la generación de sólidos en suspensión y la sedimentación, ejerciendo una demanda adicional de oxígeno molecular disuelto en el agua. Esto, a su vez, aumenta la velocidad de la eutrofización natural, limitando o minimizando el tiempo de vida de las masas de agua naturales. El amonio puede ser tóxico para los microorganismos, las plantas y la macrofauna cuando está presente en altas concentraciones (Metcalf y Eddy, 1995). Para determinar las concentraciones de nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos se aplicaron los métodos normalizados para el análisis de aguas residuales de las normas oficiales mexicanas NMX-AA-026-SCFI-2010 para nitrógeno total y nitrógeno amoniacal (DOF, 2010), NMX-AA-082-1986 para nitrógeno de nitratos (DOF, 2001), NMX-AA-099-SCFI-2006 para nitrógeno de nitritos (DOF, 2006).

3.5.3.3. Sulfatos

Los sulfatos después de los bicarbonatos son los principales aniones presentes en el agua, los cuales pueden presentarse de manera natural o como consecuencia de la contaminación con aguas residuales industriales (Graniel et al., 2009). Para determinar las concentraciones del ion sulfato en aguas naturales, residuales y residuales tratadas se aplicará la norma mexicana NMX-AA-074-SCFI-2014 (DOF, 2014).

La descripción detallada de estos análisis se encuentra en Anexo 1.

3.6. Seguimiento de las plantas acuáticas

A lo largo de la etapa de experimentación se observó el desarrollo de las plantas cumpliendo dos características, altura y número de hojas. Esto era importante ya que los reactores se encontraban prácticamente a la intemperie protegidas solamente de la lluvia y en una localización norte donde solamente en invierno les dio la luz solar directa pero estando localizado el lugar a más de 2000 metros sobre el nivel del mar la intensidad era baja. La investigación se inició en el verano y se terminó en el invierno por lo que estuvieron sujetas a tres estaciones (verano, otoño e invierno).

3.7. Análisis microbiológicos

Para las pruebas microbiológicas se tomaron diferentes muestras del ánodo: Al inicio (al momento de agregar el inóculo), a 2 meses de conectar las resistencias eléctricas (día 112) y al final de los experimentos (día 203). El objetivo fue conocer y comparar las comunidades de microorganismos presentes en cada una de dichas etapas para determinar el efecto que tienen los diferentes valores de R_{ext} en la producción de electricidad y en la misma comunidad microbiana.

3.7.1. Extracción de ADN

Se cortó un pedazo de aproximadamente 1cm^2 del fieltro de carbón correspondiente al ánodo en las tres etapas del experimento (al inicio, a la mitad y al final). Las muestras obtenidas

fueron procesadas en el Laboratorio de Genómica y Biotecnología del Instituto de Geología de la UNAM, en donde se utilizó el kit de *PowerSoil DNA Isolation Kit* (Qiagen, EE. UU.). Se usaron aproximadamente 250 mg de sedimento húmedo (fieltro de carbono) y fueron procesados siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN que se obtuvo fue cuantificado mediante fluorometría en el equipo Qubit Fluorometer 3.0 (Invitrogen, EE. UU.) utilizando el ensayo de alta sensibilidad *Qubit dsDNA HS Assay Kit* (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) para determinar su rendimiento (Aguilar-Rangel et al., 2020; Santillán et al., 2021).

3.7.2. Amplificación y secuenciación de los fragmentos de ADNr 16S

La amplificación de las secciones ADNr 16S se realizó según los protocolos de *Illumina Amplicon* descritos por *Earth Microbiome Project* (EMP, www.earthmicrobiome.org). En el análisis por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, *PCR* en inglés, se amplificaron las secuencias 16SARNr a partir de ADN metagenómico (dilución con 2 a 20 ng de ADN), utilizando los cebadores (llamados ‘*primers*’ en inglés) 515F (5’-GTG CCA GCM GCC GCG CGG TAA-3’) y 806R (5’ GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT -3’) para bacterias y arqueas (~290 pb). El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 95°C por 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 s, alineamiento a 52°C por 30 s y una extensión de 72°C por 30 s, seguido por un tiempo final de extensión de 72°C por 12 min. La purificación se realizó siguiendo los protocolos indicados por la *EMP*. Posteriormente, se comprobó la existencia de los amplicones por electroforesis en gel de agarosa (1%) y tinción con SYBR Safe 1x (invitrogen), sobre un amortiguador TAE 1X (Tris-Acetato 0.04M, EDTA 1mM) [90 V, 25 min] (Aguilar-Rangel et al., 2020; Santillán et al., 2021). Los productos de la *PCR* se secuenciaron por pares en la plataforma *Illumina MiSeq* de la Universidad de Yale (*Yale Center For Genome Analysis*), CT, Estados Unidos (~ 20 ng por muestra). El procedimiento bioinformático se realizó de acuerdo con lo descrito por Carrasco-Prieto (2022). Las secuencias se clasificaron en diferentes grupos taxonómicos bacterianos mediante la base de datos Silva y se procesaron mediante el software Quiime 2 y el lenguaje de programación R.

Se realizaron las gráficas de abundancia relativa y se calcularon los índices de diversidad de Shanon y de riqueza de Simpson, de acuerdo con la literatura al respecto (Ramos-Perez et al.,

2022; Santillán et al., 2021). Las diferencias de las estructuras de las comunidades entre muestras fueron observadas con un análisis de coordenadas principales con distancia UNIFRAC (PCoA) no ponderado (patrones de presencia / ausencia de los taxa encontrados) para conocer las diferencias en la estructura de la comunidad de microorganismos presentes en el ánodo de cada uno de los reactores a lo largo del tiempo. Se utilizaron todos los ASV encontrados con excepción de los correspondientes al inóculo (Lozupone y Knight, 2005; Santillán et al., 2021).

3.8. Análisis estadísticos

Para analizar los datos experimentales obtenidos se empleó el lenguaje de programación R (The R Project for Statistical Computing, versión 4.2.2. Año 2022).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la experimentación durante un periodo de 203 días. Se muestran las fechas y los días relevantes de las etapas de experimentación (**Tabla 4.1**): Los valores obtenidos de los parámetros eléctricos, microorganismos, parámetros fisicoquímicos del agua y de calidad de agua.

Tabla 4.1. Etapas relevantes de la experimentación

Etapas	Fecha	Día
Instalación de los reactores y de las hidrófitas	14-07-2022	1
Suministro del inóculo	18-07-2022	1
Primera extracción de material biológico del ánodo	19-07-2022	5
Inicio de medición del potencial del ánodo	29-07-2022	15
Inicio de medición de los parámetros fisicoquímicos del agua	17-08-2022	34
Instalación de los cátodos	18-08-2022	35
Se inició la medición del potencial del cátodo y el voltaje de la celda		
Conexión de las resistencias eléctricas externas	07-09-2022	55
Reemplazo de la sonda del multiparamétrico (para medir los parámetros fisicoquímicos) debido a una falla en el electrodo de pH	16-09-2022	64
Se elevaron los cátodos	04-10-2022	82
Segunda extracción de material biológico del ánodo	03-11-2022	112
Tercera extracción de material biológico del ánodo	02-02-2023	203
Caracterización final del agua residual tratada evaluando su depuración en función de las resistencias eléctricas externas estudiadas	02-02-2023	203
Producción final de electricidad en función de las resistencias estudiadas	02-02-2023	203

En la **Figura 4.1** se muestran los 6 reactores tipo humedal artificial asistido electroquímicamente (HAAE) conectados a las resistencias eléctricas externas. De izquierda a derecha en la fotografía se tienen los reactores conectados a las resistencias con los valores: 100 Ω , 1, 5, 10 y 20 k Ω y terminando con el reactor en circuito abierto (CA).

Los reactores están conectados al sistema de alimentación (bomba peristáltica) la cual succiona el agua residual sintética del pequeño tanque azul y su descarga va al grande.



Figura 4.1. Humedales artificiales en operación

4.1. Parámetros eléctricos

Las mediciones de los parámetros eléctricos se realizaron diariamente de lunes a viernes. Se comenzó a medir el potencial del ánodo el día 15 posterior al inicio de la experimentación que fue después de la etapa de recirculación del agua de alimentación. Es decir, el efluente se volvía a utilizar como influente para favorecer el crecimiento bacteriano (Miranda-Méndez, 2017). Posteriormente, se instalaron los cátodos el día 35 y, a partir de entonces, se comenzó a medir el potencial del ánodo, del cátodo y el voltaje de la celda. A partir del día 55 se conectaron las resistencias eléctricas externas correspondientes a cada reactor y el día 62, se comenzó a medir la intensidad de corriente. Con estos parámetros y el área geométrica del ánodo se calculó la densidad de potencia de acuerdo con lo mencionado en el apartado 3.4 de la metodología.

4.1.1. Potencial de los electrodos y voltaje de la celda

Los valores de los potenciales de ánodo y cátodo normalmente se encuentran referidos al electrodo normal de hidrógeno (ENH). Sin embargo, en esta experimentación se utilizó un electrodo de referencia de Ag/AgC. Por tanto, para expresar los valores en términos del electrodo normal de hidrógeno se realizó la conversión sumando el valor del potencial del

electrodo de Ag/AgCl, que es de 0.222 V (a condiciones estandar) (Bard et al., 1985), al valor de los potenciales de ánodo y cátodo obtenidos.

Es importante señalar que desde que se instalaron los cátodos los valores de voltaje de las celdas fueron muy bajos, alrededor de 0.5 mV. Buscando maneras de mejorar el voltaje se dedujo que probablemente el cátodo era el responsable de los valores tan bajos. Esto fue porque el cátodo se encontraba inundado, por debajo de la salida de agua y se veía limitado de oxígeno, el cual es un factor muy importante en este sistema, ya que en el cátodo se realiza la reacción de reducción de oxígeno. Por lo tanto, el día 82 se elevó la posición de los cátodos por encima de la salida de agua para que estuvieran en contacto directo con el oxígeno y, de esta manera, se favorecieran las condiciones aerobias necesarias para que se lleve a cabo la reacción de reducción del oxígeno en el cátodo y se propicie una diferencia de potencial positiva. A partir de ese momento los valores de voltaje e intensidad de corriente se elevaron, confirmando así que el problema era la falta de oxígeno en el área del cátodo.

En las **Figuras 4.2a-f** se observa el comportamiento de los valores obtenidos de voltaje de la celda, potencial de ánodo y de cátodo. Se aprecia la inestabilidad de los valores de los potenciales de los electrodos entre el día 15 y el día 55 con variabilidad de voltaje en el mismo periodo. Cuando se conectaron las resistencias eléctricas en el día 55 los valores de los potenciales y del voltaje se mantuvieron más o menos estables aunque permanecían muy bajos. Como ya se mencionó anteriormente, estos valores de voltaje reflejaron un aumento a partir del día 82 en el que se elevó el nivel de los cátodos con respecto a la salida del efluente líquido, acercándose incluso a valores de 1 volt en algunos casos.

El valor de voltaje de celda más alto registrado es de 918 mV, que se obtuvo en el día 196 y corresponde al reactor de 1 k Ω , seguido por un valor de 884 mV, medido en el reactor en CA el día 201 de la etapa de experimentación. Esto quiere decir que en este lapso existió una mayor diferencia entre los potenciales ánódico y cátdico, la cual puede estar influenciada por un aumento en la oxidación de los compuestos orgánicos por parte de los microorganismos.

Por otro lado, los valores de las **Figuras 4.2a-f** muestran que las variaciones observadas en el voltaje están relacionadas con las variaciones del potencial del cátodo, ya que el potencial del ánodo permanece estable a partir de la conexión de las resistencias eléctricas (línea naranja), mientras que el voltaje de la celda varía con la misma tendencia del potencial del cátodo.

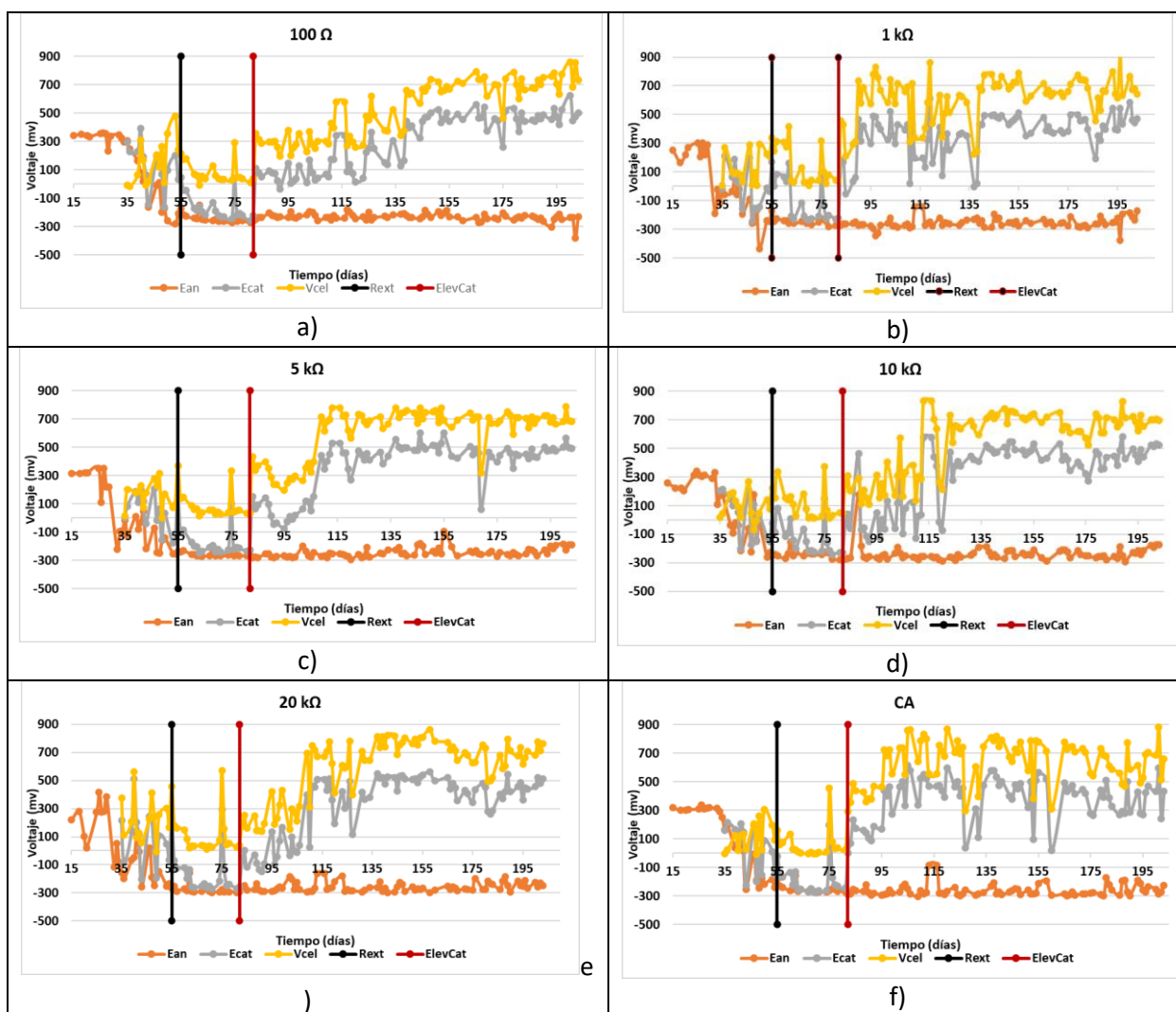


Figura 4.2. Potencial de ánodo, cátodo y voltaje de celda en cada uno de los reactores a) 100 Ω , b) 1 k Ω , c) 5 k Ω , d) 10 k Ω , e) 20 k Ω , f) Circuito abierto (CA). Ean: potencial de ánodo, Ecat: potencial de cátodo, Vcel: Voltaje del reactor (celda). La línea negra corresponde al día que se conectaron las resistencias externas, Rext (55 días) y la línea roja al día que se elevaron los cátodos, ElevCat (82 días)

Los datos completos de la **Figura 4.2** se encuentran en el Anexo A.2 donde se señala que la información está en un archivo en formato excel (**Tabla A.2.1**).

A partir del día 110 se observa una menor inestabilidad en el potencial del cátodo en el reactor de 5 k Ω obteniendo una menor desviación estándar 459.14 ± 76.48 mV, en comparación con el resto de los reactores que presentan una desviación alrededor de 150 mV. El reactor de 1 k Ω presentó una mayor inestabilidad 376 ± 153.13 mV a partir del día ya mencionado alcanzando una mayor estabilidad $463.93 \pm 61.84.37$ mV a partir del día 139. La menor inestabilidad en el reactor de 10 k Ω se obtiene el día 123, en el reactor de 100 Ω a partir del día 139 al igual que el reactor de 20 k Ω .

Observando la **Tabla A.3.1 y A.3.2** del Anexo A.3 se determinó que sí existen diferencias significativas en los valores de potencial de ánodo entre reactores ($\alpha=0.95$) a partir de que se conectó la resistencia eléctrica externa. Por lo tanto, las resistencias sí tienen una relación directa con los valores de potencial del ánodo.

De igual manera que para el ánodo, se realizó un análisis de varianza (**Tablas A.3.3 y A.3.4**) para los valores de potencial del cátodo entre reactores el cual determinó que existen diferencias significativas de los valores de potencial de cátodo entre reactores. Esto concuerda con lo reportado por Zhang et al. (2011) en donde los potenciales de ánodo y cátodo fueron significativamente afectados por la resistencia externa (10, 50, 250, 1000 Ω). Por ello, se deduce que las resistencias eléctricas utilizadas en este experimento sí influyen en los valores de los potenciales.

De acuerdo con lo reportado en estudios previos (Torres et al., 2009), se espera que el potencial del ánodo se ubique en -150 mV (vs. ENH) y el potencial del cátodo en valores positivos. Un potencial de -150 mV favorece el crecimiento de una biopelícula de microorganismos electroquímicamente activos y, por tanto, una mayor producción de corriente. El potencial catódico positivo es un indicador de que la reacción de reducción del oxígeno se está llevando a cabo. Cuando existen otras reacciones electroquímicas en la celda

con un potencial diferente, estas restan energía al potencial esperado y conducen a potenciales diferentes, generalmente con voltajes menores.

El potencial del ánodo en los seis reactores siguió la misma tendencia. El potencial anódico inició con valores positivos y en las **Figuras 4.2a-f** se observa cómo, al pasar los días, este potencial se fue haciendo cada vez más negativo aunque con variaciones.

Fue a partir del día 55, cuando se conectó la resistencia eléctrica externa, que empezó a notarse una estabilidad en los potenciales anódicos. Fueron los reactores de 1 k Ω , 5 k Ω y 20 k Ω los que presentaron el mismo rango de inestabilidad de acuerdo con los valores de desviación estándar observados en la **Tabla 4.2**. El reactor con menor inestabilidad fue el de 100 Ω y el reactor más inestable a partir de la conexión de las resistencias externas fue el de 10 k Ω seguido por el reactor en CA. Estos datos experimentales completos se encuentran listados en la **Tabla A.2.1**.

Tabla 4.2. Valores promedio del potencial del ánodo en mV a partir de la conexión de las resistencias el día 55

Reactor	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
Promedio	-235 \pm 27.43	-254 \pm 32.64	-248 \pm 30.41	-238 \pm 50.56	-261 \pm 33.20	-260 \pm 39.36

El potencial anódico se mantuvo en un promedio aproximado de -250 mV (vs. ENH) (**Tabla 4.2**). Estos valores de potencial anódico indican condiciones de anaerobiosis necesarias para el desarrollo de microorganismos electroquímicamente activos.

Por otro lado, estos resultados contrastan con hallazgos previos en los que los potenciales anódicos más bajos resultaron en densidades de corriente ligeramente más altas (Torres et al., 2009; Zhu et al., 2014). Esto podría deberse a que en los experimentos de Torres et al. (2009) utilizaron potenciales anódicos fijos mediante un potenciostato. Y, Zhu y colaboradores (2014) también utilizaron potenciales fijos de ánodo, pero controlaron la temperatura a 30°C.

Es importante señalar que en estos resultados todos los valores del potencial anódico son negativos. De ellos, el promedio del potencial anódico menos negativo se presentó en el reactor con una resistencia eléctrica de 100Ω (-235 mV), el cual fue el más eficiente en la producción de electricidad.

De acuerdo con lo reportado por Zhang et al. (2013), los valores de los potenciales anódicos que normalmente se desarrollan en CCM operadas con resistencias fijas alcanzaron potenciales muy negativos (-260 mV con una resistencia externa de $1 \text{ k}\Omega$) durante su mejor funcionamiento lo que indica que los resultados de esta investigación tuvieron un buen rendimiento y también se demostró que no solamente con una resistencia fija de $1 \text{ k}\Omega$ se obtienen potenciales muy negativos.

Cabe mencionar que otro factor que influye en que el potencial anódico sea más negativo es la cantidad de sustrato oxidado por los microorganismos. De igual forma las variaciones en el pH y la temperatura (de acuerdo con la ecuación de Nernst) y el tipo de microorganismos presentes en la superficie del ánodo (biopelícula) también afectan el potencial anódico (Jadavh y Ghangrekar, 2009).

Con base en los resultados de remoción de materia orgánica obtenidos, el sistema de $20 \text{ k}\Omega$ pudo ser el reactor con mayor cantidad de sustrato oxidado, pero al estar conectado a una resistencia externa de mayor valor el flujo de corriente a través del circuito fue menor por la limitación impuesta por la resistencia eléctrica.

El potencial del cátodo empezó a aumentar como resultado del reacomodo de este electrodo en las celdas. A partir de entonces se observa una tendencia de incremento hasta que se registraron los valores más altos (desde el día 95). Los reactores que registraron los potenciales catódicos mayores fueron los de $1 \text{ k}\Omega$ ($275 \pm 144.3 \text{ mV}$) y en circuito abierto ($277 \pm 146.8 \text{ mV}$) (**Tabla 4.3**). Estos datos experimentales completos se encuentran listados en la **Tabla A.2.1**.

Tabla 4.3. Valores promedio del potencial en milivolts del cátodo

Reactor	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
Promedio	212 \pm 190.5	275 \pm 144.3	262 \pm 186.2	237 \pm 222.6	235 \pm 215.2	277 \pm 146.8

Comparando los promedios de los voltajes para cada reactor (**Tabla 4.4**) se determina que la CCM en CA es la que tiene el promedio más alto seguido por la de 1 k Ω y la CCM de 100 Ω es la que tiene el promedio más bajo. El voltaje mayor en el sistema en CA es un resultado lógico al registrarse en este reactor el potencial de ánodo más negativo y el potencial de cátodo más positivo. Estos datos experimentales se encuentran listados en la **Tabla A.2.1**.

Tabla 4.4. Valores promedio de voltaje de todos los reactores

Promedios voltaje (mV)						
Reactor	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
Promedio	536 \pm 197.8	622 \pm 151.1	613 \pm 173.4	561 \pm 215.7	590 \pm 215.3	647 \pm 146.2

Estos valores de voltaje parecen estar relacionados directamente con el potencial del cátodo, ya que así como el voltaje promedio para los reactores de 1 k Ω y en circuito abierto son similares, también lo son en cuanto al potencial del cátodo. Además, como se observa en las **Figuras 4.2a-f**, la línea que indica el potencial del cátodo (línea gris) es casi paralela a la del voltaje (línea amarilla). En este caso es importante resaltar que el potencial del ánodo permanece estable, influido entre otras cosas, por la resistencia eléctrica que, de acuerdo con lo reportado por Lyon et al. (2010), es la que selecciona a la comunidad microbiana en esa zona. Además, es importante considerar que las condiciones en las que se encuentra el ánodo influyen en el valor del potencial, aún estando en circuito abierto. Esto ocurre tomando en cuenta que, igualmente, los valores de potencial de ánodo para el reactor en circuito abierto permanecieron negativos y estables (**Figura 4.2**). Esto último podría ser consecuencia de las condiciones de estabilidad en las que permaneció el ánodo como pudieran ser pH, temperatura, concentración de materia orgánica, de aceptores de electrones así como las comunidades microbianas.

De acuerdo con lo anterior, las variaciones en el potencial del cátodo pueden estar influenciadas por los cambios en el porcentaje de saturación del oxígeno en el sistema, lo que

indicaría que este factor es el que propicia los cambios en el voltaje, teniendo una mayor variación en comparación con los valores obtenidos en el potencial del ánodo. Las condiciones del cátodo no se mantuvieron con la misma estabilidad que en el ánodo porque estaban expuestos a la intemperie sometidos con mayor frecuencia a cambios de temperatura, variación en la disponibilidad de oxígeno y a la posible acción microbiana que podría haber ocasionado los potenciales mixtos o parasíticos (Salinas-Juárez, 2016).

Es interesante observar que en el lapso del día 110 al día 139, cuando se midió la corriente en serie con la resistencia eléctrica, se muestra una mayor variación en los valores medidos y al cambiar esta forma de medir haciéndolo en paralelo, se observó una menor variación en los valores obtenidos. Esto fue una lección aprendida para que en un futuro se hagan las mediciones en paralelo con la resistencia.

También, observando la **Figura 4.3**, especialmente a partir del día 140, se puede deducir que el aumento o disminución en la corriente es proporcional a las variaciones en el potencial del cátodo, lo cual está relacionado con lo observado por Ter-Heijne et al. (2010). En esa investigación se observó una mayor corriente a mayor porcentaje de saturación. Estos datos se encuentran en la **Tabla A.2.2**.

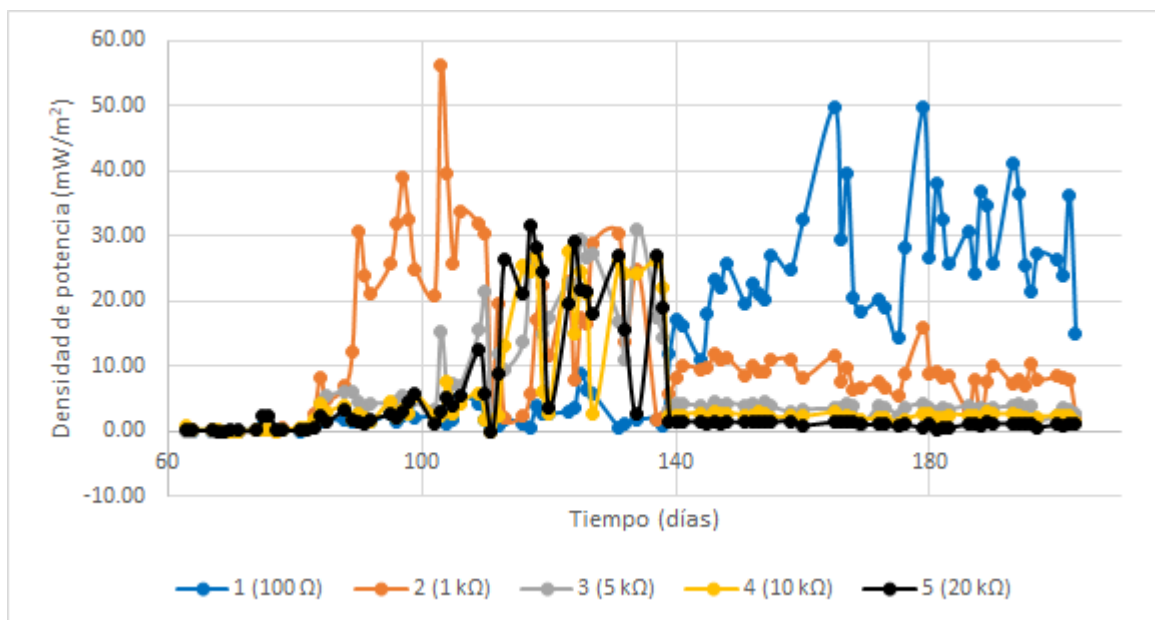


Figura 4.3. Densidad de potencia

Se puede decir que la disponibilidad de O₂ debido a la presencia de la especie vegetal por medio de las raíces promueve un gradiente de potencial redox. Tal presencia de oxígeno mejora los flujos de electrones y también las tasas de eliminación de contaminantes de acuerdo con lo observado por Peñacoba-Antona et al. (2010).

Por otro lado, el promedio de intensidad de corriente más alto corresponde al reactor de 100 Ω (Tabla 4.5) que, a su vez, es el reactor con el promedio más bajo de voltaje. El valor promedio de intensidad de corriente más bajo corresponde al reactor de 20 kΩ. Los datos de la Tabla 4.5 se encuentran en la Tabla A.2.2.

Tabla 4.5. Valores promedio de la intensidad de corriente para todos los reactores excepto CA

Promedios intensidad de corriente (μA)					
Reactor	100 Ω	1 kΩ	5 kΩ	10 kΩ	20 kΩ
Promedio	486.7±339.1	432.1±297.2	281.3±298	264.4±358.2	220±318.5

Esto indicaría que en la celda de 100 Ω aunque el promedio de voltaje (la fuerza impulsora detrás del movimiento de los electrones) fue el más bajo, la cantidad de corriente generada fue mayor. Esto indicaría que al ser un valor pequeño de resistencia eléctrica externa permitió un mayor flujo de corriente eléctrica y/o que la biopelícula favoreció una mayor transferencia de electrones.

De acuerdo con estos resultados, el reactor con mejor desempeño es la celda con resistencia de 100 Ω, en donde hubo un mejor aprovechamiento del voltaje y una mejor actividad de la comunidad microbiana en cuanto a la transferencia de electrones. Esto concuerda con los resultados microbiológicos en donde se observa que a pesar de tener una menor abundancia relativa de microorganismos electrogénicos también tiene una casi nula abundancia relativa de microorganismos que compiten con estos (Figuras 4.20, 4.21 y 4.24). Además la baja resistencia favorece la transeferencia de electrones.

En cuanto a los valores de densidad de potencia, en la Figura 4.3 se observa que al inicio del experimento siempre se mantuvieron cerca de cero. A partir del día 82 que ocurrió la

elevación de los cátodos en los reactores se comienza a observar un incremento en los valores principalmente con la resistencia de 1 k Ω . Después del día 124, la densidad de potencia aumentó drásticamente en las resistencias de 5 k Ω , 10 k Ω y 20 k Ω . Posteriormente como ya se mencionó, del día 139 en adelante se midió desconectando la resistencia del lado del ánodo y se observó un cambio en los valores de densidad de potencia, siendo el humedal con la resistencia de 100 Ω el que tuvo un mayor incremento, llegando a su valor máximo de 49.84 mW/m² en el día 165. Los demás reactores disminuyeron drásticamente sus valores de densidad de potencia. Esta tendencia se mantuvo así desde el día 139 hasta el final del experimento (día 203).

También, observando la **Tabla 4.6** se aprecia que el reactor de 100 Ω fue el que registró la mayor densidad de potencia con un promedio de 15.47 mW/m² en comparación con los demás reactores, siendo el que le sigue el reactor de 1 k Ω con un promedio de 14.63 mW/m² y, por último, el reactor de 20 k Ω fue el que registró el menor promedio de densidad de potencia con un valor de 6.19 mW/m². El listado completo de datos se encuentra en la **Tabla A.2.2**.

Tabla 4.6. Valores promedio de densidad de potencia durante la etapa de experimentación

Promedios densidad de potencia (mW/m ²)					
Reactores	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω
Promedio	15.47 \pm 13.66	14.63 \pm 12.62	8.65 \pm 11.43	7.25 \pm 11.73	6.19 \pm 10.74

Al ver los valores de voltaje, así como los de densidad de potencia y corriente, puede apreciarse que existen diferencias entre los reactores. Por su configuración, los reactores son similares y la única diferencia que presentan es el valor de resistencia eléctrica externa, la cual modifica las condiciones del sistema. En contraste con lo reportado por Kim et al. (2019) y Potrykus et al. (2021), en donde las CCM analizadas mostraron la mayor densidad de potencia máxima y la mayor recuperación de energía con los valores de resistencia externa más elevados (1 k Ω y 2.2 k Ω , respectivamente). En este experimento, el reactor que corresponde a la resistencia eléctrica de 100 Ω presenta los valores más altos de densidad de potencia. A pesar de no contar con la mayor abundancia relativa de microorganismos electrogénicos en la superficie del ánodo (**Figuras 4.20 y 4.21**). Esto podría deberse a varios factores:

- (1) A la competencia con los microorganismos metanógenos por los donantes de electrones
- (2) Podría estar relacionado con la eficiencia coulombica, con una menor eficiencia de la biopelícula en la oxidación de la materia orgánica y, por lo tanto, menor transferencia de electrones al ánodo, así como a una posible resistencia interna alta
- (3) Que una resistencia externa baja daría lugar a un voltaje de celda bajo y una corriente alta
- (4) Por el porcentaje de saturación del oxígeno en la cámara anódica

Por último es importante señalar que no se cuenta con los datos de abundancia relativa del reactor de 100 Ω del día 112 (mitad del experimento) los cuales podrían afirmar o modificar las explicaciones de lo sucedido.

4.1.2. Curvas de polarización

Las curvas de polarización sirven para caracterizar el comportamiento electroquímico de las celdas electroquímicas (se reporta el voltaje en función de la corriente). Estas curvas se obtienen variando el valor de la resistencia eléctrica externa aplicada observando una caída de voltaje y el incremento de la corriente en esa resistencia de acuerdo con la ley de Ohm.

Se realizaron curvas de polarización de todos los reactores (un reactor por día) utilizando una serie de resistencias eléctricas diferentes (caja de resistencias) en el circuito, midiendo el voltaje en cada resistencia a partir del día 62 cuando se comenzó a medir la corriente eléctrica como se muestra en la **Figura 4.4**. Estos datos están listados en las **Tablas A.2.3 a A.2.8**.

En las curvas de polarización generalmente existen tres regiones características de disminución del voltaje (1) una rápida caída de voltaje a medida que la corriente fluye a través del circuito (con un alta resistencia eléctrica externa); (2) una disminución casi lineal del voltaje; (3) una segunda disminución rápida del voltaje a altas densidades de corriente.

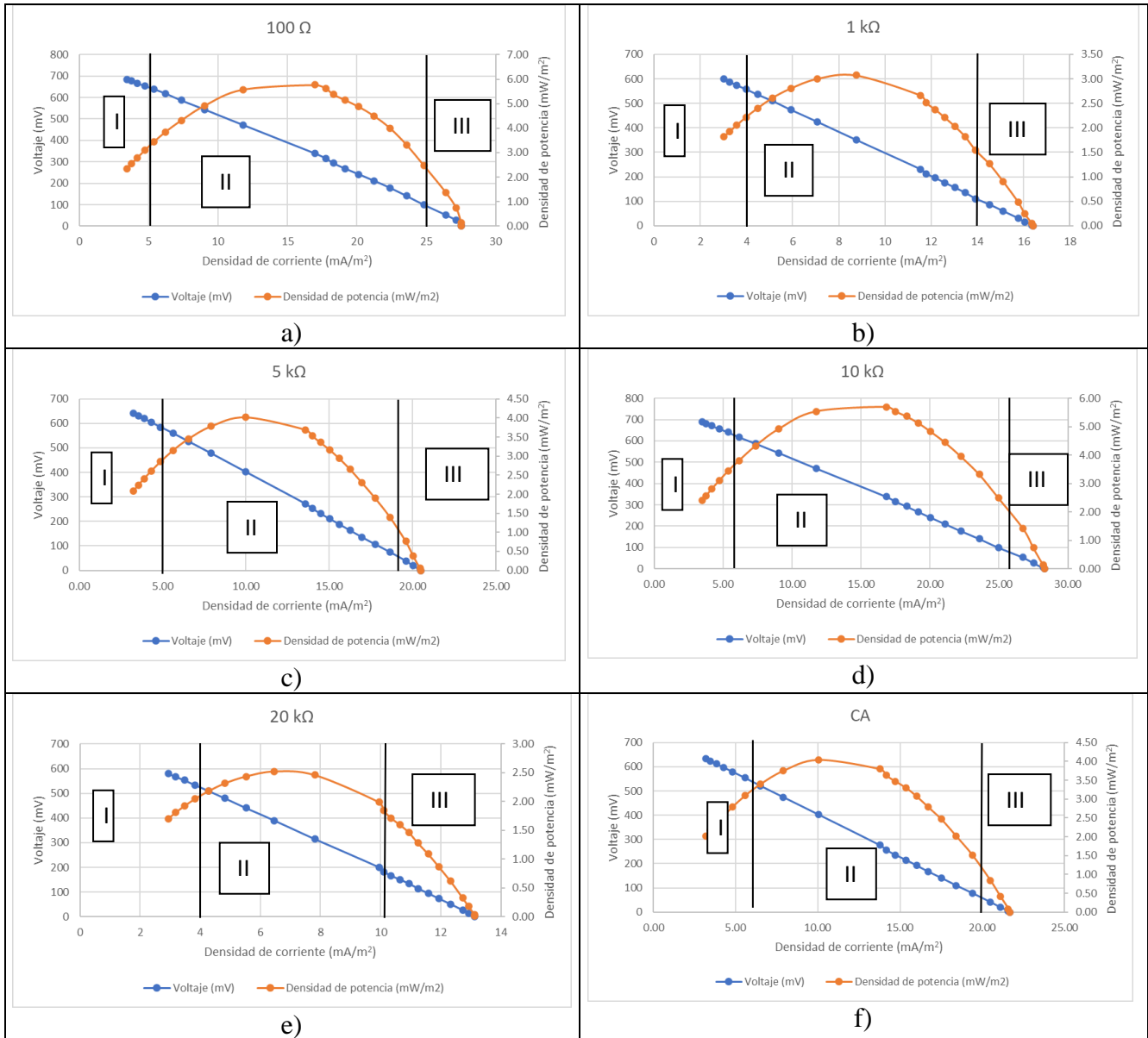


Figura 4.4. Valores máximos de las curvas de polarización de cada reactor correspondientes a la máxima densidad de potencia, a) 100Ω (5.77 mW/m^2), b) $1 \text{ k}\Omega$ (3.07 mW/m^2), c) $5 \text{ k}\Omega$ (4.02 mW/m^2), d) $10 \text{ k}\Omega$ (5.70 mW/m^2), e) $20 \text{ k}\Omega$ (2.52 mW/m^2), f) CA (4.05 mW/m^2)

De acuerdo con Logan (2008), los sobrepotenciales de los electrodos (polarización) surgen de tres pérdidas básicas: (I) por activación; (II) pérdida óhmica y por metabolismo bacteriano y (III) por efecto del transporte de masa. A continuación se describen cada una de ellas.

- (I) Las pérdidas de activación se deben a la energía que se pierde (en forma de calor) para iniciar las reacciones de oxidación o reducción y a la energía que se pierde por la transferencia de un electrón desde la proteína o enzima terminal de la célula a la superficie del ánodo (es decir, el nanocable, el mediador o el citocromo terminal en la superficie de la célula)

- (II) Las pérdidas óhmicas corresponden a la suma de las pérdidas de voltaje en los electrolitos, el separador de la celda, los electrodos y en las conexiones de la fuente de alimentación a los electrodos, debido a la resistencia eléctrica propia de estos componentes. Las pérdidas debidas al metabolismo bacteriano son inevitables, ya que estas pérdidas son una consecuencia de que las bacterias obtienen energía de la oxidación del sustrato (fuente carbonosa)

- (III) Las pérdidas de concentración o de transferencia de masa surgen cuando el flujo de reactivos hacia el electrodo o el flujo de productos desde el electrodo son insuficientes (agotamiento de los sustratos oxidados en la zona anódica) y, por tanto, limitan la velocidad de reacción

Los diferentes tipos de pérdidas afectan el voltaje y pueden llegar reducir la corriente útil (Logan, 2008).

En la **Figura 4.4** se observó que los datos obtenidos de voltaje (mV), densidad de corriente (mA/m^2) y densidad de potencia (mW/m^2) de cada reactor se tradujeron en curvas de polarización y de potencia, en las cuales se observan las tres diferentes zonas de polarización (pérdidas). Estos fueron los valores máximos obtenidos a lo largo de la etapa de experimentación, los cuales sirven para representar el mejor desempeño en el sistema. Estas mediciones se realizaron una vez al día por reactor durante toda la etapa experimental, teniendo datos de 25 semanas tabulados en la **Tabla A.2.9**.

En todos los reactores la zona II, perteneciente a las pérdidas óhmicas, es mayor comparada con las zonas I y III (**Figura 4.4**). Esto puede atribuirse también a la configuración del sistema (materiales, solución, distancia entre electrodos).

En las curvas de polarización (**Figura 4.4**) se observa que la densidad de potencia máxima en los reactores disminuyó en el orden siguiente: $100\ \Omega > 10\ \text{k}\Omega > \text{CA} > 5\ \text{k}\Omega > 1\ \text{k}\Omega > 20\ \text{k}\Omega$. Hubo incrementos de corriente en las cercanías de la densidad de potencia máxima. Esos incrementos de corriente ocurrieron alrededor de los $10\ \text{mA}/\text{m}^2$ para el caso de los reactores de $1\ \text{k}\Omega$, $5\ \text{k}\Omega$, $20\ \text{k}\Omega$ y CA. En los reactores de $100\ \Omega$ y $10\ \text{k}\Omega$ el rendimiento en las curvas de polarización fue similar.

En las **Figuras 4.5a-b** se presentan los valores de voltaje y densidad de potencia de cada uno de los reactores, respectivamente. En estas curvas se observa que los reactores de $100\ \Omega$ y de $10\ \text{k}\Omega$ fueron los que mejor desempeño presentaron en la producción de electricidad con una amplia diferencia con respecto a los demás reactores. Presentaron los valores de densidad de potencia máxima de $5.77\ \text{mW}/\text{m}^2$ ($100\ \Omega$) y $5.70\ \text{mW}/\text{m}^2$ ($10\ \text{k}\Omega$), densidad de corriente máxima de $16.97\ \text{mA}/\text{m}^2$ ($100\ \Omega$) y $16.86\ \text{mA}/\text{m}^2$ ($10\ \text{k}\Omega$), voltaje de $340\ \text{mV}$ ($100\ \Omega$) y de $338\ \text{mV}$ ($10\ \text{k}\Omega$). Estos datos se encuentran en la **Tabla A.2.10**. Los demás reactores (1 , 5 , y $20\ \text{k}\Omega$) presentaron una disminución notable en los valores de densidad de potencia, y densidad de corriente (**Figura 4.5a**). También se observa que no existen diferencias en los valores de densidad de corriente con respecto de los reactores operando a $100\ \Omega$ y $10\ \text{k}\Omega$ (**Figura 4.5b**).

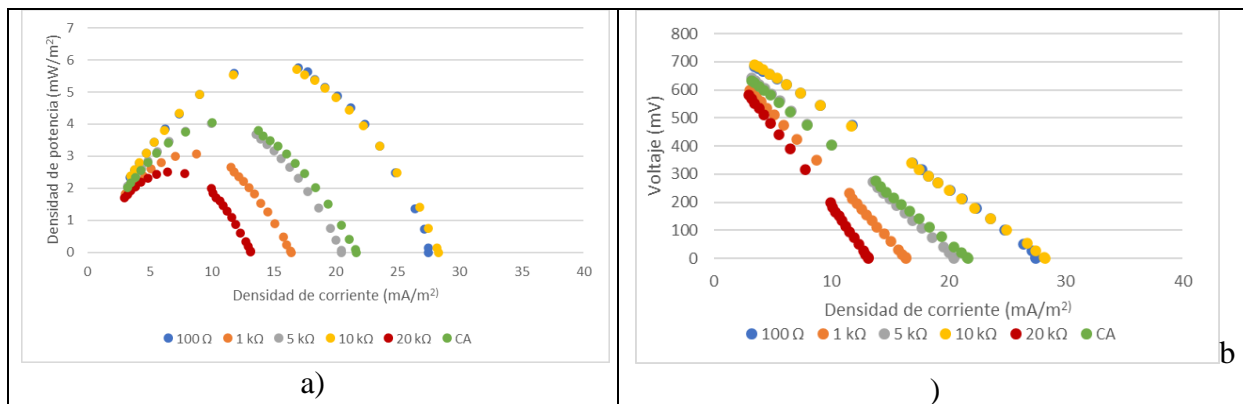


Figura 4.5. a) Curvas de polarización, b) curvas de potencia de cada reactor

Los reactores de 100 Ω y de 10 k Ω tiene valores muy similares en cuanto a densidad de potencia, densidad de corriente y voltaje en las curvas de polarización. Esto se puede explicar debido a que la resistencia eléctrica externa de 10 k Ω a pesar de que favoreció una mayor abundancia relativa de microorganismos exoelectrógenos también favoreció a los metanogénicos que compiten entre sí por el hidrógeno. Aunado a esto, la resistencia (10 k Ω) es demasiado grande para dejar pasar la corriente generada. Por lo tanto, al momento que se desconectaron las resistencias para realizar las curvas de calibración, mejoró el rendimiento del reactor de 10 k Ω .

En cambio, en los demás reactores, con diferentes resistencias eléctricas externas, puede suceder este mismo fenómeno (resistencias muy altas que limitan el paso de la corriente) aunado a que las abundancias relativas de los microorganismos exoelectrógenos es menor en todos los reactores comparándolo con el de 10 k Ω (**Figuras 4.20 y 4.21**) lo que se traduciría en una menor eficiencia en la producción de electricidad.

Se tomaron los valores máximos de densidad de potencia para cada celda a partir de las curvas de polarización para cada reactor. Con estos valores se construyó la gráfica de la **Figura 4.6** que muestra la densidad de potencia obtenida aplicando los mismos valores de resistencia externa a cada reactor.

Con estos datos se confirma que el reactor con el mejor desempeño eléctrico fue el que operó con la resistencia de 100 Ω , seguido del reactor con la resistencia de 10 k Ω . Se observa que, aunque al inicio, los reactores en CA y con una resistencia de 1 k Ω presentaron valores altos de densidad de potencia, después de varias semanas tuvieron una disminución.

Al parecer, después de la elevación del cátodo, todos los reactores tuvieron cierta estabilidad con valores promedio entre 2.78 y 5.35 mW/m².

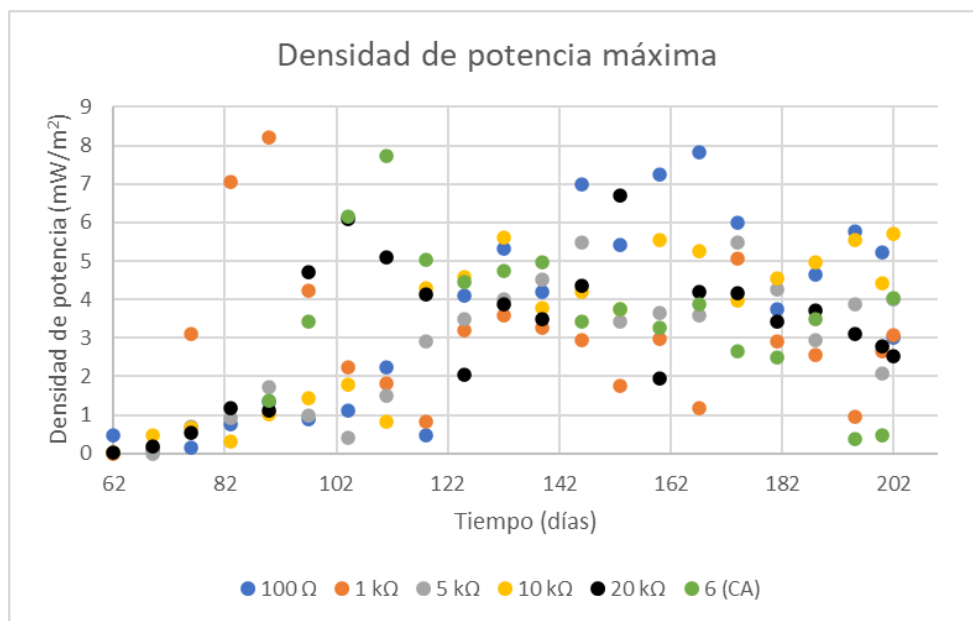


Figura 4.6. Valores de densidad de potencia máximos obtenidos a partir de las curvas de polarización

En la **Tabla 4.7** se muestran los valores promedio de densidad de potencia obtenidos para cada reactor. Estos valores son el resultado de haber aplicado los mismos valores de resistencia eléctrica a cada reactor, por lo que el punto de comparación es el mismo. Estos datos se encuentran en la **Tabla A.2.10**.

Tabla 4.7. Valores promedio de densidad de potencia a partir de las curvas de polarización

Densidad de potencia obtenidas a partir de las curvas de polarización (mW/m ²)						
Reactores	100 Ω	1 kΩ	5 kΩ	10 kΩ	20 kΩ	CA
Promedio	5.35±1.37	2.78±1.02	3.91±0.89	4.76±0.69	3.56±1.18	3.23±1.38

4.2. Parámetros fisicoquímicos del agua en los reactores

La medición de los parámetros fisicoquímicos (pH, potencial redox, temperatura y conductividad eléctrica) se llevó a cabo desde el día 34, que fue el momento en que se instalaron los cátodos en los reactores. Las mediciones de los parámetros se realizaron diariamente en tres puntos distintos de cada reactor: A en la superficie donde se encuentra el cátodo, C, en el ánodo a 10 cm de profundidad desde la superficie, A, y al fondo del reactor a 40 cm de profundidad desde la superficie, F (**Figura 3.3**).

4.2.1. Temperatura y valores de pH

Temperatura

Las mediciones de la temperatura de los reactores (**Figura 4.7**) se realizaron todos los días entre las 13:00 y las 14:00.

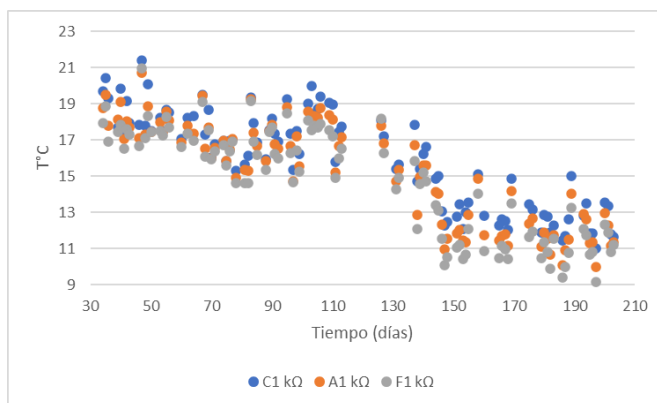


Figura 4.7. Temperatura de los reactores a las tres profundidades establecidas

Se observa que la temperatura se comporta de manera similar para cada reactor en cada una de las profundidades. Se realizó un análisis estadístico multifactorial con un intervalo de confianza del 95% (**Tabla A.3.5** del Anexo 3) donde se observa que no existen diferencias significativas entre las temperaturas de los reactores y en la interacción de ambos factores. Sin embargo, sí existen diferencias significativas entre las muestras tomadas a diferente profundidad. Esto significa que a mayor profundidad existe una disminución en la temperatura y que esta no depende de las resistencias eléctricas presentes en cada reactor. Es importante mencionar que la temperatura de los reactores depende de la temperatura ambiental y, por lo tanto, los días en los que la temperatura ambiental fue más baja (día 110 en adelante, desde el inicio del invierno, hasta el final de la etapa experimental), los reactores presentaron una disminución en su temperatura para cada una de las profundidades en las que se midió (**Figura 4.7**).

La temperatura es un factor que está relacionado con la actividad microbiana y de acuerdo con lo reportado por Huang et al. (2012) la temperatura en una CCM de ambiente marino también disminuyó durante la temporada invernal y redujo la actividad de las comunidades

microbianas anódicas lo cual se vio reflejado en el rendimiento de la producción de electricidad, contrario a lo observado en esta investigación en donde el rendimiento no se vio afectado por la temperatura. Sin embargo, esta temperatura de funcionamiento más baja (8-22°C) es similar a los resultados obtenidos por Jadhav y Ghangrekar (2009) en los cuales las bacterias exoelectrógenas podían permanecer activas incluso a temperaturas menores. Es importante señalar que los cambios de la temperatura no modificaron el sistema a largo plazo. Todos los valores de temperatura se encuentran en la **Tabla A.2.11**.

Valores de pH

Los valores de pH fueron muy similares en cada una de las muestras tomadas en los tres puntos considerados de los reactores. Por tanto, se utilizaron los valores del ánodo para poder representarlos (**Figura 4.8**). De igual manera los valores de pH entre reactores presentan un comportamiento similar. Sin embargo, pudo observarse que a partir del día 55 en que se conectaron las resistencias eléctricas, se presentó una menor variabilidad en los datos, aunque también en el reactor en circuito abierto se presentó este cambio en el comportamiento de los valores indicando que tal vez exista otra razón para ello.

También se observa que los valores de pH tuvieron el mayor incremento en un rango de temperatura de 17-22°C alcanzando un valor máximo de 8.8 mientras que en un rango de temperatura de 9-15°C a partir del día 147 en adelante los valores de pH se mantuvieron en un rango de 7.5-8.5. Esto indicaría que la temperatura pudo haber influido en la cantidad de protones producidos en el sistema.

Aunado a esto, la corriente producida tiene un comportamiento similar a los valores de pH obtenidos por lo que a partir del día 140 el consumo de protones pudo haber sido mayor durante el rango de temperatura más bajo (7.5-8.5) sobre todo en el reactor de 100 Ω , lo que se podría relacionar con la elevada corriente producida. Por lo tanto, se refuerza la observación de que la producción de corriente en una CCM está vinculada con el valor de pH (Jadhav y Ghangrekar, 2009). Todos los valores se encuentran en la **Tabla A.2.12**.

Al hacer el análisis de varianza entre factores (resistencias y puntos de muestreo), con un intervalo de confianza del 95% (**Tabla A.3.6**), se determinó que sí existen diferencias significativas en los valores de pH entre reactores (resistencias). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los valores de pH a diferentes puntos de muestreo y entre la interacción de ambos factores.

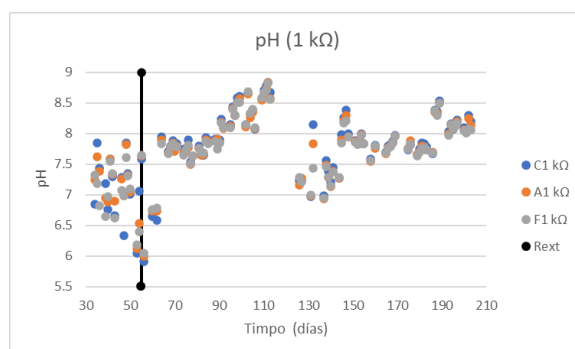


Figura 4.8. Valores de pH, a) entre alturas en el reactor de 1 kΩ

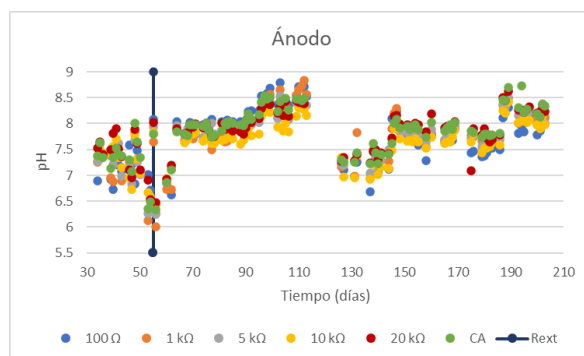


Figura 4.8. Valores de pH, b) entre reactores a la altura del ánodo

Esto indicaría que los protones producidos en la cámara anódica podrían ser consumidos en el cátodo a la misma velocidad para la reacción catódica y que el valor de la resistencia externa podría influir en los cambios de los valores de pH. A su vez, esto puede ser un factor en la adaptación de la biopelícula en la superficie del ánodo, lo cual concuerda con lo encontrado por Margaria et al (2017), en donde las biopelículas en las CCM se desarrollan cuando el pH del ánodo se encuentra en la neutralidad y que las biopelículas en las CCM conectadas con resistencias eléctricas externas que se encontraban en un rango neutro a ligeramente básico de pH, era un factor clave para la producción de electricidad.

4.2.3. Conductividad eléctrica y potencial redox

Conductividad eléctrica

En las **Figuras 4.9a-b** se observan los valores de conductividad eléctrica de cada reactor a las tres diferentes profundidades. Las mediciones mostraron valores similares de conductividad eléctrica con un promedio de 1.26 ± 0.03 mS/cm para el cátodo. Los valores tomados en el ánodo (**Figura 4.9a**) a partir del día 64 se muestran estables y muy similares entre cada reactor con un valor promedio de 1.25 ± 0.05 mS/cm.

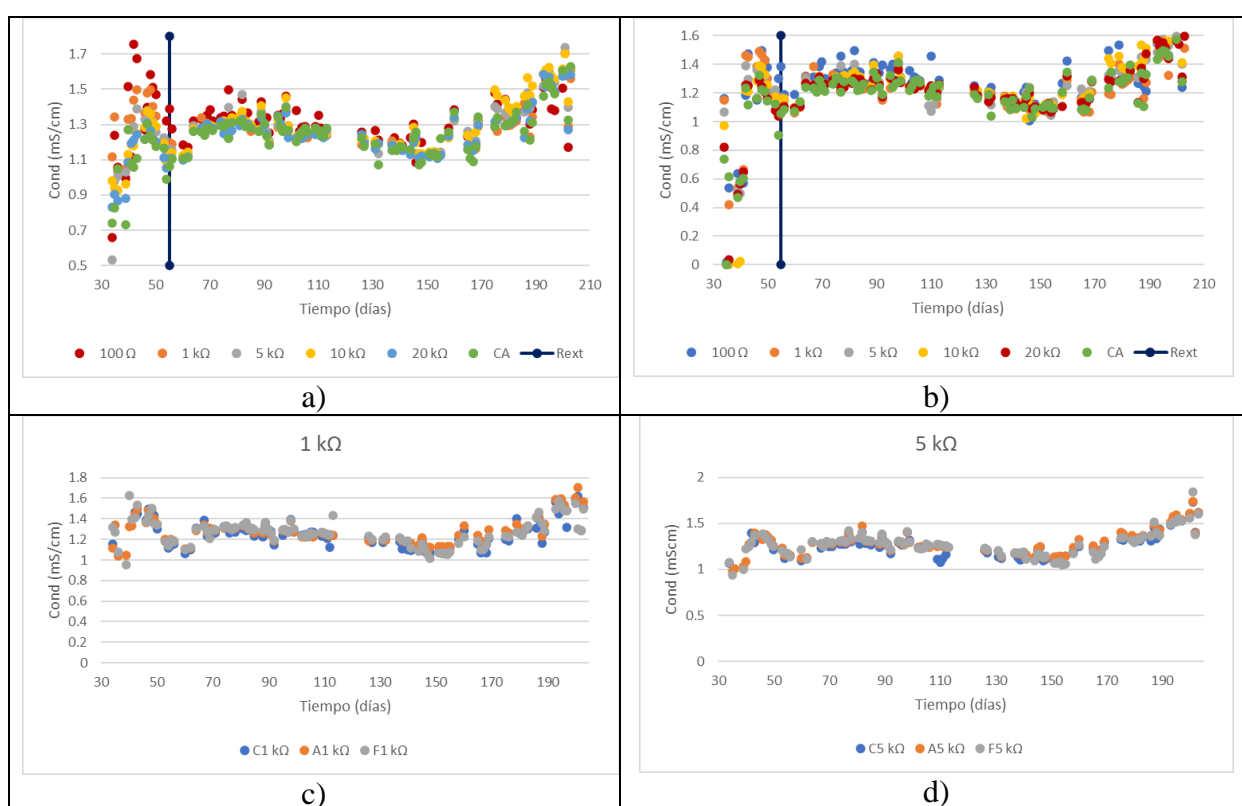


Figura 4.9. Valores de las mediciones de conductividad eléctrica de cada reactor: a) Datos para el ánodo, b) datos para el cátodo, c) valores del reactor de 1 kΩ en los tres puntos A, C y F y d) valores del reactor de 5kΩ en los tres puntos A, C y F

En la **Tabla A.3.7** del Anexo 3 se observa que sí existen diferencias significativas entre reactores con respecto de las diferentes resistencias eléctricas externas y entre las diferentes muestras tomadas en los tres puntos de cada reactor ($p < 0.05$), mientras que para la interacción de ambos factores (resistencias y profundidades) no existen diferencias significativas. Para esta prueba se utilizó un intervalo de confianza del 95%.

Esto puede deberse a que la conductividad eléctrica depende de la cantidad de sales disueltas en un líquido. González-del-Campo et al. (2013) señalan que existe una variabilidad en la cantidad de sales y que depende de la temperatura. Ortiz-Zamora (2018) en experimentos similares encontró que la temperatura varía dependiendo de la profundidad en los reactores, y que existe esta diferencia entre la conductividad eléctrica de los iones debido a esa variable.

En la **Figura 4.9** se observa el comportamiento de los valores de conductividad eléctrica a la altura del a) ánodo y del b) cátodo, donde a pesar de que se aprecia una mayor variabilidad en comparación con las tres diferentes muestras a las profundidades A, C, F (ver **Figura 3.3** del capítulo anterior) de las **Figuras 4.9 c y d**, al final los resultados del análisis de varianza multifactorial demuestran que ambos factores tienen diferencias. Es importante mencionar que a partir de que se conectaron las resistencias eléctricas en el día 55 disminuyó la variabilidad en los valores de conductividad, pero siguieron siendo diferentes.

Potencial redox

El potencial redox es una forma de medir la energía química de oxidación-reducción mediante un electrodo, convirtiéndola en energía eléctrica. El potencial redox es positivo cuando se produce una oxidación y negativo cuando se produce una reducción, indicando la presencia de sustancias químicas que confieren al medio un carácter oxidante o reductor. De esta forma, también es un indicador indirecto de la presencia de oxígeno. Si el potencial redox es positivo existe un ambiente aerobio y, por el contrario, si el potencial redox es negativo existe un ambiente anaerobio o anóxico (Villaseñor et al., 2013).

La mayor parte del reactor (desde la base hasta la altura del ánodo) requiere de un ambiente reductor, que garantice ambientes anóxicos o anaerobios, los cuales son adecuados para la presencia de microorganismos reductores de Fe^{3+} los cuales tienen la habilidad de realizar el proceso de transferencia de electrones hacia el ánodo.

En la **Figura 4.10a** se observan los valores de pOR del reactor a 1 k Ω ejemplificando el comportamiento a las tres profundidades muestreadas en la primera de ellas. Los datos

completos están en la **Tabla A.2.14** del Anexo 2. Queda claro que las condiciones del reactor tomado como ejemplo y de los demás fueron siempre anaerobias.

En la **Figura 4.10b** se toman solamente los datos del punto A para todos los reactores. Al inicio del experimento se obtuvieron valores positivos que fueron volviéndose negativos conforme avanzó la etapa de experimentación. También se vio una disminución en los valores a partir del día 55 cuando se realizó la conexión de la resistencia eléctrica pero también se realizó un cambio de sonda a partir del día 64 donde se observa una disminución más pronunciada. A partir de ese día en adelante los valores fueron disminuyendo hasta el día 145 que alcanzaron su valor más negativo y de ahí comenzaron a volverse menos negativos llegando a un valor aproximado de -200 mv. Los resultados a partir del día 170 comenzaron a volverse menos negativos drásticamente incluso llegaron a reportarse valores positivos, por lo cual, los valores ya no fueron confiables y no se tomaron en cuenta.

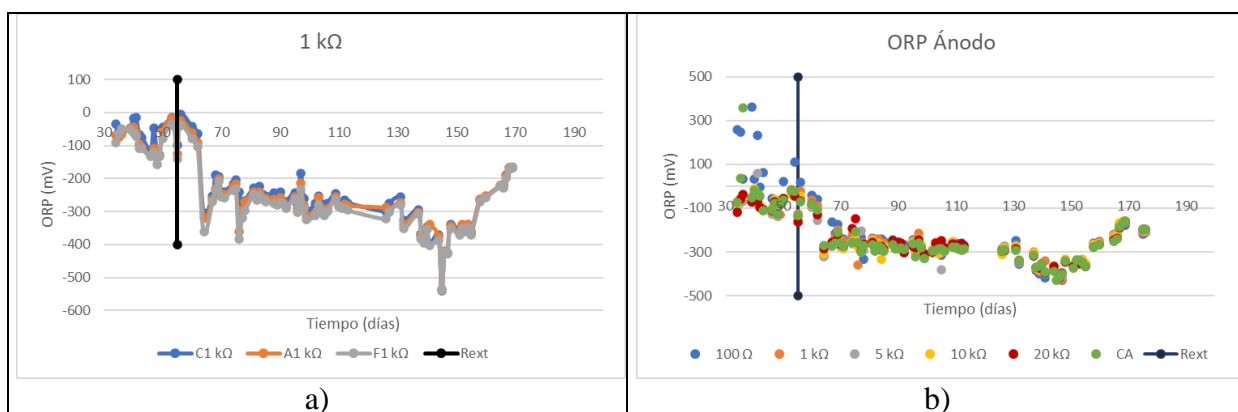


Figura 4.10. a) Valores de pOR del reactor de 1 kΩ a diferentes profundidades (C, A, F), b) ORP a la altura del ánodo en cada reactor

Al hacer el análisis estadístico comparativo entre reactores y entre altura del muestreo (**Tabla A.3.8** del Anexo 3) se rechazó la hipótesis nula y, por lo tanto, se determinó que sí existen diferencias significativas entre resistencias y entre altura de la muestra ($p < 0.05$) entre los cinco reactores. La interacción entre ambos factores no presentó diferencias significativas. Esto sugiere que la colocación de las resistencias eléctricas externas en el circuito externo sí influyó en este parámetro. Estos resultados refuerzan lo descrito por Zhu et al. (2014) de que los

microorganismos se benefician por las diferencias de potencial del ánodo y el potencial redox del sustrato (Zhu et al., 2014).

El comportamiento del potencial redox que se presentó en esta investigación es similar a lo reportado por Corbella et al. (2014) en que las condiciones redox bajo flujo continuo se situaban entre -160 mV y -200 mV (25 cm de profundidad).

Ojeda et al. (2008) mencionan que en estos sistemas pueden tener lugar diferentes mecanismos microbiológicos en función del potencial redox en las diferentes zonas y en este caso el potencial redox en la zona del ánodo fue influenciado por las resistencias eléctricas externas.

Aunado a esto el reactor en circuito abierto presentó el mismo comportamiento que los demás reactores. A pesar de esto, el análisis estadístico confirma que sí existen diferencias entre reactores, por lo cual, el comportamiento del potencial redox también puede estar influenciado por otros factores como la cantidad de oxígeno disuelto, la fotosíntesis que provoca la generación de oxígeno a través de las raíces de las plantas, la temperatura, el pH, entre otros (Corbella et al., 2014; Villaseñor et al., 2013).

4.3. Remoción de contaminantes

Se realizaron análisis de los parámetros de calidad del agua (DQO, NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-}) tanto para el influente como para el efluente después de la etapa de recirculación del agua en los reactores y de la instalación del cátodo. Al inicio del experimento se empleó un sistema de alimentación (SA) por gravedad utilizando recipientes de plástico de 5 L forrados de aluminio, uno para cada reactor y se colocaron por encima de los mismos. Los recipientes y los reactores se conectaron mediante equipos tipo venoclisis originalmente porque no había disponibilidad de una bomba peristáltica para regular la distribución del agua hacia los reactores y tener un tiempo de residencia hidráulica de 2 días (**Figura 4.11a**). El efluente se depositó en recipientes de polietileno de alta densidad (PAD) con un volumen de 4.2 L. Este sistema se utilizó hasta el día 53 y fue remplazado por un solo recipiente de PAD de 30 L y de una bomba peristáltica alimentando a cada uno de los reactores (**Figura 4.11b**).



Figura 4.11. Sistemas de alimentación, a) por gravedad, b) mediante bomba peristáltica

4.3.1. Materia orgánica medida como DQO

En la **Tabla 4.8** se observa que, en promedio, el reactor $1\text{ k}\Omega$ fue el que presentó mayor remoción de materia orgánica medida como DQO (79.51%). Todos los datos de los reactores se encuentran en la **Tabla A.2.15**. En contraste, el reactor que operó a una resistencia de $100\ \Omega$ presenta el valor de remoción más bajo con un 64.74%, representando catorce puntos porcentuales por debajo del reactor de $1\text{ k}\Omega$. Se realizó el análisis estadístico comparativo de la remoción de materia orgánica de los reactores por etapa (**Tabla A.3.9**) concluyendo, con un 95% de confianza, que sí existen diferencias significativas en los reactores correspondientes a las resistencias de 1000-CA, 5000-CA, 1000-100 y 5000-100 (**Tabla A.3.10**).

Tabla 4.8. Promedio de remoción de materia orgánica, valores mínimo y máximo, medidos en porcentaje de la demanda química de oxígeno, DQO

	$100\ \Omega$	$1\text{ k}\Omega$	$5\text{ k}\Omega$	$10\text{ k}\Omega$	$20\text{ k}\Omega$	CA
Promedio	64.74 ± 19.62	79.51 ± 16.66	79.01 ± 16.87	74.33 ± 18.10	71.64 ± 18.19	65.83 ± 22.32
% Mínimo y máximo	12-98.9	36.1-99.6	30.1-97.7	9-99.1	20.1-99.3	8.03-99.2

Los resultados obtenidos no se relacionan con la producción de electricidad debido a que el reactor de $100\ \Omega$ que, en promedio, presentó altos valores de densidad de potencia, los resultados de remoción de materia orgánica obtenidos en este mismo reactor fueron menores que para los demás. Katuri et al. (2011) observaron la mayor eficiencia coulombica en un reactor operado con una resistencia de $100\ \Omega$, que fue el que tuvo una mayor generación de electricidad y tampoco encontraron una relación significativa entre la eficiencia coulombica y

las tasas de remoción de DQO lo que sugiere que el sustrato puede ser utilizado para diferentes procesos y no solamente para la generación de electricidad. Será importante en investigaciones futuras buscar condiciones de operación en los reactores que permitan obtener tanto producción de energía eléctrica como eliminación de materia orgánica.

Se puede decir que la especie vegetal y la configuración de cada reactor (con diferentes resistencias) sí influyen en la remoción de materia orgánica. Estos resultados contrastan con los resultados obtenidos por Miranda-Méndez (2017) y Ortiz-Zamora (2018) donde no se encontraron diferencias significativas en la remoción de materia orgánica entre cada valor de resistencia eléctrica externa. Sin embargo, cabe mencionar que, en estos estudios previos, la resistencia eléctrica externa se fue cambiando cada 20 días y, entre 20 y 30 días, respectivamente, lo que indicaría que si se fija una resistencia eléctrica se selecciona una comunidad de microorganismos por cada valor de resistencia, lo cual tiene un efecto en la remoción de materia orgánica.

Por lo tanto, en esta investigación la actividad microbiana seleccionada por las resistencias eléctricas externas tuvo un fuerte impacto en las concentraciones (consumo) de material biodegradable y en la eficiencia del tratamiento.

4.3.2. Concentraciones de nitrógeno, amoniacal, nitratos, nitritos y sulfatos

Nitrógeno amoniacal

En la eliminación de amonio se observó que la concentración de NH_4^+ del efluente osciló entre 3.40 y 61.33 mg/L entre 10.22 y 57.92 mg/L entre 3.41 y 81.47 mg/L entre 85.18 y 6.81 mg/L entre 71.55 y 13.63 mg/L y entre 13.63 y 61.33 mg/L para los reactores de 100 Ω , 1 k Ω , 5 k Ω , 10 k Ω , 20 k Ω y en CA.

En la **Figura 4.12** se observa que, a partir de la primera medición, antes de que se conectaran los cátodos, los reactores de 1 k Ω y CA obtuvieron concentraciones mayores en comparación con el influente. Este comportamiento se repitió hasta el día 55 donde, a partir de que se conectaron las resistencias eléctricas externas, las concentraciones de los efluentes de todos

los reactores se mantuvieron por debajo del valor de influente indicando que hubo remoción de nitrógeno amoniacal en todos los reactores.

La disminución de la concentración del efluente en los reactores pudo deberse a los procesos de nitrificación y desnitrificación, ya que coincide con los valores de aumento de las concentraciones de nitrito (**Figura 4.14**) en los últimos días de la etapa de experimentación

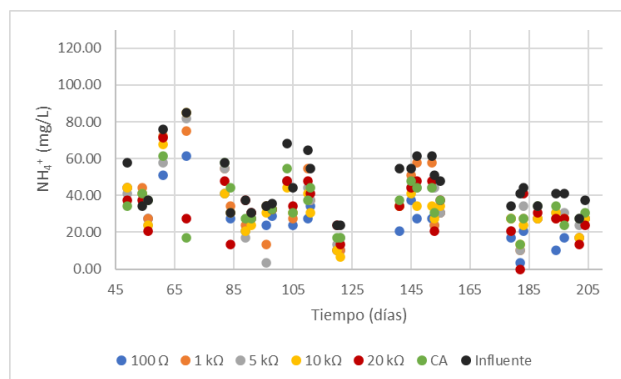


Figura 4.12. Concentraciones de nitrógeno amoniacal durante la etapa experimental

Observando el promedio de los porcentajes de remoción (**Tabla 4.9**), el reactor de 100 Ω es el que muestra una mayor remoción y los reactores de 1 k Ω y CA una menor remoción.

Tabla 4.9. Valores promedio de los porcentajes de remoción de nitrógeno amoniacal entre reactores

Reactor	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
Promedio	41.29±18.82	27.90±18.99	28.28±19.27	32.15±16.61	28.06±20.20	23.95±18.66

Mediante el análisis estadístico realizado (**Tabla A.3.11**) se determinó que no existen diferencias significativas en las concentraciones del efluente de nitrógeno amoniacal entre reactores. Por tanto, se puede suponer que la presencia de las resistencias eléctricas no influye en este parámetro. Esto contrasta con los resultados obtenidos por Miranda-Méndez (2017) en donde sí existieron diferencias significativas en la remoción de nitrógeno al utilizar diferentes valores de resistencia externa lo cual podría deberse a que existía una cantidad similar de

bacterias nitrificantes en las diferentes biopelículas reafirmando lo mencionado por González et al. (2021), de que los electrodos a base de carbono propician el desarrollo de estas bacterias gracias a su superficie compatible y rugosa.

Nitratos

Los valores de nitratos encontrados en todos los reactores oscilaron entre 9.18 y 11.35 mg/L para el influente y entre 0.51 y 5.26 mg/L para el efluente y de nitritos entre 0.002 y 1.247 mg/L para el influente y entre 0.008 y 2.29 para el efluente.

En la **Figura 4.13** se observa que, a partir del inicio de los análisis de nitratos en adelante, todos los efluentes de los reactores presentaron concentraciones por debajo de las del influente. A pesar de que todos los reactores mostraron remoción, existen diferencias en las concentraciones de nitratos entre cada uno de ellos.

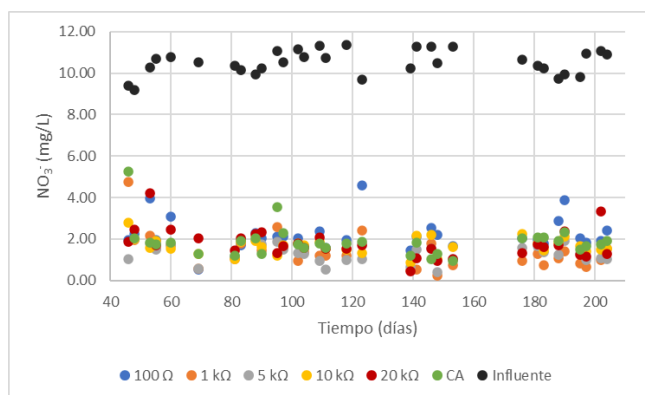


Figura 4.13. Concentración de nitratos del efluente de los reactores y del influente

La disminución en la concentración de nitratos puede estar relacionada con la reducción de NO_3^- a N_2 debido a que, en condiciones anaerobias o anóxicas, las bacterias pueden utilizar oxígeno procedente de NO_3^- , convirtiéndolo en N_2 . La disminución de NO_3^- , es detectable en el efluente, pero la presencia del amoníaco en la influente muestra una fuerte evidencia del proceso de nitrificación.

Del análisis estadístico para nitratos, presentado en la **Tabla A.3.12**, se determinó que si existen diferencias significativas en la concentración de nitratos en los reactores de 1000-CA,

5000-CA, 1000-100, 5000-100 y 10000-100 (**Tabla A.3.13**) lo que indica la resistencia externa influyó en la remoción de nitratos siendo la de 100 Ω la que tuvo más diferencias.

Nitritos

Los nitritos que se observan en la **Figura 4.14** se pueden formar por la oxidación incompleta del amoníaco en el medio acuoso o por la reducción bacteriana del nitrato (en un ambiente anaerobio). El aumento en la concentración de nitritos en los reactores sugiere que se presentaron procesos de desnitrificación. La presencia de nitratos y nitritos pudo favorecer el desarrollo de las bacterias desnitrificantes presentes en los reactores, las cuales utilizan los nitratos y nitritos como aceptores de electrones en ausencia de oxígeno para su proliferación. Los nitritos son el producto intermedio en el proceso de nitrificación, por lo que dentro de los reactores pudieron existir ambos procesos de nitrificación y desnitrificación.

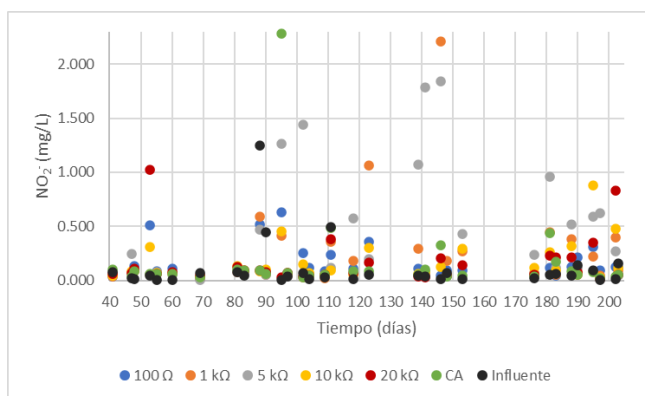


Figura 4.14. Concentración de nitritos del influente y del efluente de los reactores

Al hacer el análisis de varianza (**Tabla A.3.14**) se determinó, con un intervalo de confianza del 95%, que sí existen diferencias significativas en las concentraciones de nitritos. La prueba de Tuckey (**Tabla A.3.15**) indicó que el reactor de 5 k Ω es el que presenta diferencias con el resto de los reactores.

Lo que significa que la concentración de nitritos en el efluente puede tener una influencia de esta resistencia eléctrica externa.

La resistencia eléctrica externa puede influir en el desarrollo de una biopelícula que puede estar conformada por bacterias nitrificantes o desnitrificantes, lo que explicaría la influencia de la resistencia externa en los resultados obtenidos.

Por otro lado, en una CCM, el nitrito y el nitrato pueden utilizarse como aceptores finales de electrones en el cátodo mediante reducción electroquímica compitiendo con el O_2 o por desnitrificación autotrófica (González et al., 2021) lo cual disminuiría o inhibiría la generación de electricidad. Sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que la presencia de estas especies químicas no inhibió ni interfirió con el proceso de generación de electricidad al punto de que la corriente fuera cero, pero probablemente estas especies químicas disminuyeron la generación eléctrica.

Sulfatos

En la **Figura 4.15** se observa que las concentraciones de sulfatos de cada reactor se mantienen estables a excepción del día 69 donde presentaron una mayor remoción.

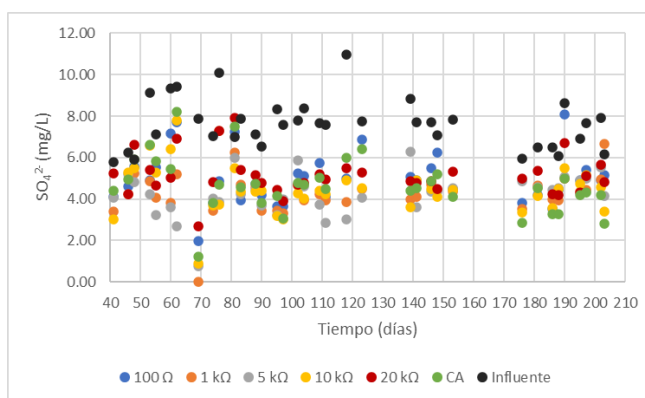


Figura 4.15. Concentración de sulfatos a lo largo de la etapa experimental

El reactor de $5\text{ k}\Omega$ presentó un promedio de $4.23 \pm 1.03\text{ mg/L}$ en el efluente que fue el más bajo seguido por el reactor de $1\text{ k}\Omega$ con un valor promedio de $4.32 \pm 1.15\text{ mg/L}$ lo que indicaría una mayor eficiencia en la remoción de sulfatos. Por otro lado, el reactor de $20\text{ k}\Omega$ presentó un valor promedio de $5.13 \pm 0.98\text{ mg/L}$ seguido del reactor de $100\ \Omega$ y, con un valor de $5.01 \pm 1.27\text{ mg/L}$, fueron los que presentaron valores de concentración más altos y, por lo tanto, una menor remoción. Al realizar el análisis estadístico (**Tabla A.3.16**), se determinó con un

intervalo de confianza del 95% que sí existen diferencias significativas en la concentración de sulfatos entre reactores a partir de la conexión de las resistencias eléctricas externas, siendo los reactores de 5000-100, 20000-1000 y 20000-5000 los que presentaron diferencias (**Tabla A.3.17**).

Lo anterior indica que los sulfatos pudieron ser removidos por la oxidación de sulfuros para formar azufre elemental de acuerdo por lo descrito por Salinas-Juarez (2016) el proceso de re-oxidación del sulfuro de hidrógeno a azufre elemental o sulfatos, pudo aportar energía adicional a los microorganismos.

Todos los datos experimentales de nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos, así como de sulfatos se encuentran en las **Tablas A.2.16** a la **A.2.19**.

4.4. Desarrollo de las plantas acuáticas

Como se mencionó en la metodología, las plantas fueron obtenidas del humedal artificial del Campus II de la FES Zaragoza. Fueron pre-acondicionadas en cubetas de plástico con el agua residual sintética que fue utilizada para alimentar los reactores. El tiempo de adaptación fue de 30 días. Posteriormente se realizó un seguimiento fotográfico y se midió la altura y el número de hojas de las plantas para observar su crecimiento (**Tablas A.2.20 y A.2.21** del Anexo 2).

La **Figura A.4.1** del Anexo 3 muestra el seguimiento fotográfico de las especies vegetales desde el inicio de la etapa experimental. Se observa que tuvieron un crecimiento adecuado, principalmente las de los reactores de 100 Ω , 1 k Ω , 5 k Ω , 10 k Ω . En los reactores de 20 k Ω y en el que operaba a CA las plantas mostraron amarilleamiento a partir del día 33. Sin embargo, a partir del día 83 se comenzó a notar una recuperación en la planta del reactor de 20 k Ω y a partir del día 112 se aparecieron nuevos brotes en cada reactor. Esto indica que las plantas de los reactores de 100 Ω a 10 k Ω se adaptaron bien al medio y no se vieron afectadas por la disminución en la temperatura (en la FESZ la altitud es casi 150 metros menos que en la Ciudad Universitaria). A las plantas de los reactores de 20 k Ω y en CA les costó más trabajo

adaptarse al medio y, posiblemente, sí les afectaron las fluctuaciones en las temperaturas registradas.

En la **Figura 4.16** se observa el desarrollo de las plantas en cuanto a la altura con respecto del tiempo. Se notó que para el reactor de 10 k Ω una de las plantas alcanzó una altura máxima de 119 cm. Las alturas de las plantas muestran una pendiente positiva con la excepción de las plantas de los reactores de 20 k Ω y en CA, en los cuales las plantas finalmente murieron y se colocaron nuevas plantas a partir del día 104, sin tener éxito ya que en el día 145 volvieron a morir y se volvieron a colocar nuevas plantas las cuales volvieron a morir en el día 195. Esto se debió a que las plantas no pudieron terminar de adaptarse a las condiciones de los reactores. Se observa en las fotografías que están en el extremo derecho de la mesa y probablemente allí haya un mayor efecto de las corrientes de aire porque allí termina el edificio y se hace un túnel de viento (SMN, 2023).

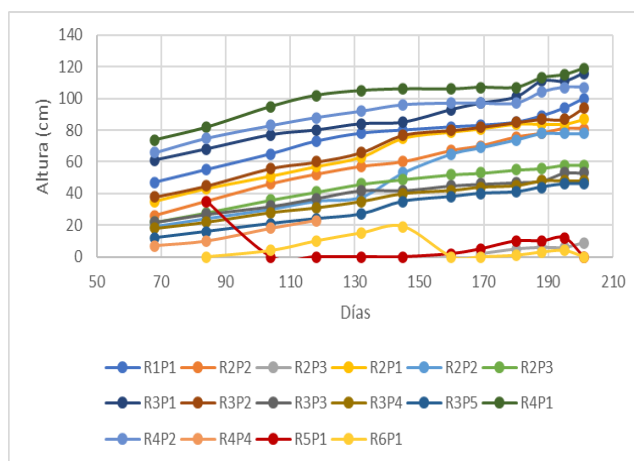


Figura 4.16. Vitalidad de algunas de las plantas con respecto a la altura y al reactor.

Las líneas en la gráfica indican el número de reactor y de planta. R1: reactor uno (100 Ω), R2: reactor dos (1 k Ω), R3: reactor tres (5 k Ω), R4 reactor 4 (10 k Ω), R5: reactor cinco (20 k Ω), R6: reactor seis (CA), P1: planta uno, P2: planta dos, P3: planta tres, P4: planta 4 y P5: planta cinco.

Estos resultados difieren de los obtenidos en un estudio anterior (Ortiz-Zamora, 2018) en la misma localización y estación del año. La vitalidad de las plantas en ese experimento probablemente se vio afectada por el cambio de resistencias ya que en 3 de los 4 reactores que

utilizaron se les murieron las plantas y tuvieron que ser remplazadas constantemente a lo largo de la etapa de experimentación. Cabe mencionar que en esa investigación se utilizaron especímenes de la especie vegetal *Typha latifolia* lo cual podría indicar que la especie vegetal *Phragmites australis* tiene una mejor adaptación a este tipo de sistemas o que las condiciones en las que se encontraban los experimentos fueron distintas ya que en estos casi cinco años transcurridos el cambio climático ha hecho que las temperaturas promedio anuales en la zona sur de la Ciudad de México (en las faldas de la Sierra del Chichinautzin) se hayan alterado en varios grados centígrados (SMN, 2023).

Esta situación también se vio reflejada en el rendimiento de la producción de electricidad, en donde los reactores que tuvieron un crecimiento constante de las plantas y el nacimiento de nuevos brotes presentaron mayor rendimiento en comparación con los reactores en los cuales las plantas no pudieron adaptarse y por ello tal vez los reactores a 20 k Ω y en CA presentaron un comportamiento eléctrico y depurativo con menor rendimiento.

Esto indicaría que la vitalidad de las plantas pudo haber favorecido la potencia generada debido a que las plantas producen parte del sustrato para los microorganismos a través de la raíz, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Salinas-Juárez (2016). Además, las plantas proporcionan oxígeno que podría ser aprovechado en la zona del cátodo como aceptor de electrones.

Se realizó un análisis estadístico para la diferencia de medias entre los reactores con respecto al crecimiento (excluyendo los reactores de 20 k Ω y en CA). De este análisis se observa que sí hay diferencia entre el crecimiento de las plantas en los reactores (**Tabla A.3.18**).

Los datos completos de esta figura se encuentran en las **Tablas A.2.20 y A.2.21**.

4.5. Análisis microbiológicos

En la **Tabla 4.10** se muestra la cantidad de ADN correspondiente a los días 5 (al inicio), 112 (a la mitad) y 203 (al final) de la etapa experimental. Es importante señalar que al momento de

la obtención de la primera muestra todos los reactores operaban en circuito abierto. El ADN se obtuvo al a partir de un fragmento (1 cm²) del fieltro de carbón correspondiente al ánodo de cada uno de los reactores. Posteriormente se llevó a cabo la amplificación, purificación, secuenciación y el análisis bioinformático.

Tabla 4.10. Cuantificación de ADN (ng/ μ L)

Reactores	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA	Inóculo
Día 5 ng/μL	20.3	35.6	1.36	1.36	13.7	4	0.155
Día 112 ng/μL	Muy bajo	Muy alto	6.44	3.56	2.07	Muy bajo	Muy alto
Día 203 ng/μL	Muy bajo	Muy bajo	0.510	Muy bajo	24	Muy bajo	Muy alto

La amplificación de las secciones ADNr 16S se realizó según los protocolos de *Illumina Amplicon* descritos por *Earth Microbiome Project (EMP)*, www.earthmicrobiome.org. La presencia de *amplicones* se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa y posteriormente se enviaron para su secuenciación a una entidad fraterna en los EE. UU.

4.5.1. Análisis de la secuenciación

Se obtuvieron un total de 1,328,012 ADNr 16s crudas, que tras el primer filtrado resultaron 683,930 y después de otro filtrado resultaron 618,258 de secuencias no quiméricas (secuencias de ADN de la misma especie). Esto presentó una eficiencia de recuperación de aproximadamente 46.55% (**Tabla 4.11**). De las secuencias filtradas la que obtuvo la máxima cantidad fue la muestra t0R. CA con 86418 y la mínima fue la muestra t1.CA con 7599. Esta cantidad de secuencias se debe principalmente a tres factores: ADN ambiental que se logró infiltrar, calidad de la secuenciación, error de PCR que haya generado quimeras (mezcla de ADN de diferentes especies, una hebra de una especie unida a una hebra de otra especie).

Por otro lado, dos muestras mostraron prácticamente porcentajes nulos de recuperación tras un filtrado (inóculo y t1R.100). Esto se debió a la baja cantidad del ADN que se logró extraer en estas muestras por la propia naturaleza del sistema (difícil extracción). Debido a esto, se decidió retirar estas muestras para no interferir en la interpretación de los resultados obtenidos, ya que no se consideraron representativas del sistema siendo el porcentaje de recuperación menor probablemente debido a una contaminación de ADN ambiental.

Estas secuencias se agruparon en 11877 variantes de secuencia del amplicón o ASV por sus siglas en inglés (*Amplicon Sequence Variants*) (**Tabla 4.11**) y algunas de estas se compartieron entre las diferentes muestras. Todos los ASV fueron procesados para su clasificación taxonómica empleando la base de datos Silva v.138.

Tabla 4.11. Número de secuencias obtenidas de las muestras

Muestras	Secuencias obtenidas	Secuencias filtradas y no quiméricas	Porcentaje de recuperación (%)	ASVs
Inóculo	1098	1	0.09	1
Inóculo. 1	78170	42137	53.9	877
Inóculo. 2	47596	24169	50.78	629
t0R. 100Ω	69722	43652	62.61	729
t0R. 1 kΩ	22242	13516	60.77	329
t0R.5 kΩ	19956	12925	64.77	325
t0R. 10 kΩ	99582	64060	64.33	763
t0R. 20 kΩ	30683	21503	70.08	423
t0R.CA	132347	86418	65.3	912
t1R.100	7	1	14.29	1
t1R.1 k	64840	33423	51.55	356
t1R.5 k	41704	23747	56.94	559
t1R.10 k	64446	35740	55.46	629
t1R.20k	54987	30798	56.01	720
t1.CA	152522	7599	4.98	290
t2R.100	88030	25932	29.46	495
t2R.1 k	76937	37733	49.04	1340
t2R.5 k	83210	45636	54.84	934
t2R.10 k	60113	24245	40.33	645
t2R.20k	75574	36812	48.71	713
t2.CA	64246	8211	12.78	207
Secuencias totales	1,328,012	618,258	46.55	11877

La diversidad alfa, que es una medida de la variabilidad de especies dentro de un área determinada, se utiliza para cuantificar la biodiversidad en un lugar particular. Para ello, se estimaron los índices de diversidad de Shannon y de riqueza de Simpson (**Figura 4.17a,b**). El índice dio como resultado que las muestras tuvieron valores de diversidad alfa que fluctuaron entre 4.71 - 6.21, lo que sugiere una alta diversidad de bacterias en la biopelícula del ánodo de cada reactor (**Figura 4.17a**). Además, en los inóculos (solamente dos repeticiones debido a que la primera muestra no se obtuvo suficiente cantidad de ADN en la extracción). En los reactores en circuito abierto, el índice de diversidad de Shannon se mantuvo entre 5 y 6, en los

tres tiempos analizados, lo que sugiere que la diversidad en estos reactores no varió a pesar del tiempo (**Figura 4.17a**).

En los reactores de 0.1, 1, 5, 10 y 20 k Ω sí se presentaron diferencias en cuanto a la diversidad de especies a lo largo del tiempo. En el reactor de 0.1 k Ω se observa un incremento entre el tiempo t0 (día 5) y t2 (día 203). Cabe mencionar que en este reactor se perdió la información del tiempo t1 debido a la baja cantidad de ADN extraído implicando que no se obtuvieran secuencias. Para el reactor de 1 k Ω hubo una disminución de la diversidad del tiempo t0 al tiempo t1 pero, a pesar de esto, se observó un incremento para el tiempo t2. El reactor de 5 k Ω presentó un aumento de la diversidad a lo largo de los tres tiempos, caso contrario a lo que sucedió con el reactor de 10 k Ω en el cual la diversidad disminuyó del tiempo t1 al t2. Por último, el reactor de 20 k Ω presentó un aumento de la diversidad del tiempo t1 a t2 y luego una disminución del t2 al t3 (**Figura 4.17a**). Estos resultados sugieren que en los reactores conectados a las diferentes resistencias sí hay una selección de microorganismos influenciada por el tiempo y por las mismas resistencias.

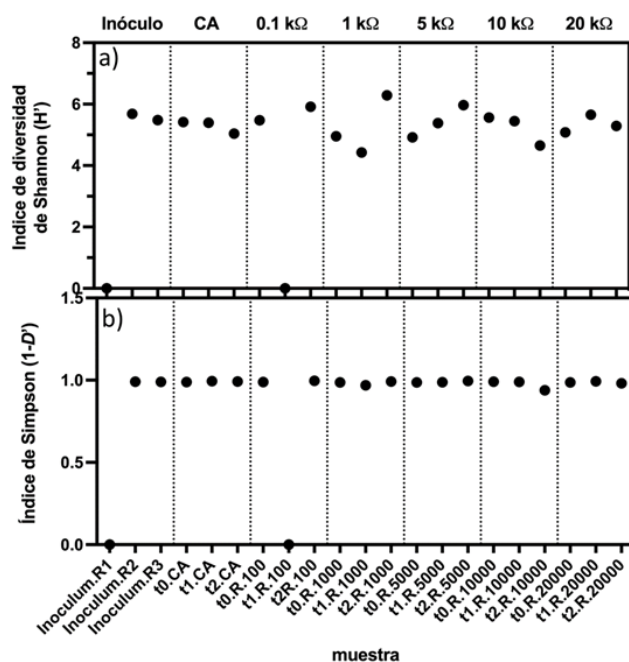


Figura 4.17. Índices de diversidad a) de Shannon y b) de riqueza de Simpson comparando cada inoculum y reactor, CA, 0.1, 1, 5, 10, 20 k Ω a los diferentes tiempos t0 (5 días), t1 (112 días), t2 (203 días)

El índice de Simpson se enfoca en la dominancia de especies, es decir, es la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar de la comunidad pertenezcan a la misma especie. En el análisis de este índice se encontró que todos los reactores reflejan valores cercanos a 1 (0.99), lo que sugiere una gran riqueza de especies sin tener unas muy dominantes (**Figura 4.17b**). El reactor de 10 k Ω presentó una disminución en el índice de Shannon y en el de Simpson en el tiempo t2, lo que sugiere que un número de ASV presentaron una alta dominancia de algunas especies.

Análisis de coordenadas principales

Se realizó un análisis de coordenadas principales con distancia UNIFRAC (PCoA) no ponderado (patrones de presencia / ausencia de los taxa encontrados) para conocer las diferencias en la estructura de la comunidad de microorganismos presentes en el ánodo de cada uno de los reactores a lo largo del tiempo. Se utilizaron todos los ASV encontrados con excepción de los correspondientes al inóculo. En la **Figura 4.18** se presentan en las abscisas y ordenadas se tienen los porcentajes de variabilidad de la abundancia relativa de los taxa encontrados que, sumados dieron 27.8%, un valor bajo para este tipo de análisis.

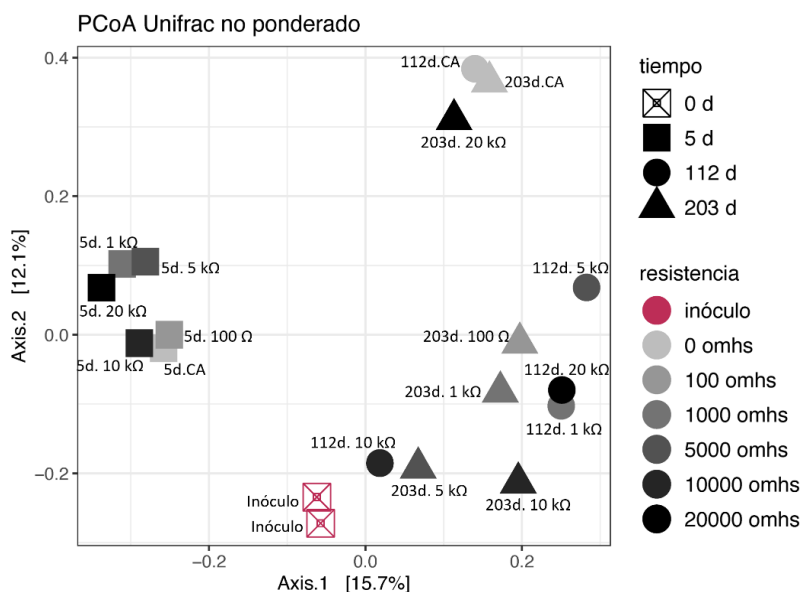


Figura 4.18. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) con distancia UNIFRAC no ponderado de las secuencias ADNr 16s

El reactor R1 y al t1.R100, donde se observaron diferencias entre las muestras analizadas el día 5 (etapa 1), en comparación con las muestras analizadas los días 112 (etapa 2) y 203 (etapa 3), obteniendo el valor señalado arriba, 27.8% (**Figura 4.18**). Este análisis sugiere un cambio más marcado en la composición microbiana en cuanto al tiempo, principalmente en la etapa 1 que es diferente a las demás. Sin embargo, en los días 112 y 203 las especies que no se parecen entre reactores son de muy baja abundancia a excepción de los reactores en circuito abierto en los días 112, 203 y el reactor de 20 kΩ en el día 203 los cuales difieren del resto. Esto último quiere decir que hay más especies diferentes en los reactores anteriormente mencionados y, por lo tanto, esto sugiere que si existe un efecto de las resistencias eléctricas externas en la composición microbiana en la superficie del ánodo a lo largo del tiempo.

Principales *Phyla*⁶

En las muestras analizadas se detectaron varios *phyla* y se seleccionaron los diez *phyla* principales los cuales representan el 90% de la abundancia relativa ADNr 16s del ánodo de los reactores. Proteobacteria (37.43%), Bacteroidota (13.78%), Firmicutes (7.82%), Actinobacteriota (6.56) %, Chloroflexi (5.66%), Desulfobacterota (5.21%), Halobacterota (4.12%), Verrucomicrobiota (3.70%), Planctomycetota (3.08%) y, finalmente, Myxococcota (2.70%) (**Figura. 4.19**). En la clasificación taxonómica SILVA v.138 se reportaron Desulfobacterota y Myxococcota como nuevos phylas, que anteriormente pertenecían al phylum Proteobacteria y a la extinta clase Deltaproteobacteria.

Se pueden observar las fluctuaciones de estos *phyla* a lo largo del tiempo y entre reactores (**Figura 4.19**), teniendo tres categorías principales:

- 1) El incremento de las especies pertenecientes a ciertos *phyla* a lo largo del tiempo (Desulfobacterota, Firmicutes, Chloroflexi y Halobacterota)
- 2) La disminución de dichas especies (Bacteroidota, Myxococcota y Proteobacteria),
- 3) y por último cuando se mantienen relativamente constantes (Actinobacteriota, Planctomycetota y Verrucomicrobiota).

⁶ Del griego antiguo *φύλον* ("raza"). En latín *phylum*, singular, *phyla*, plural (nota de las tutoras)

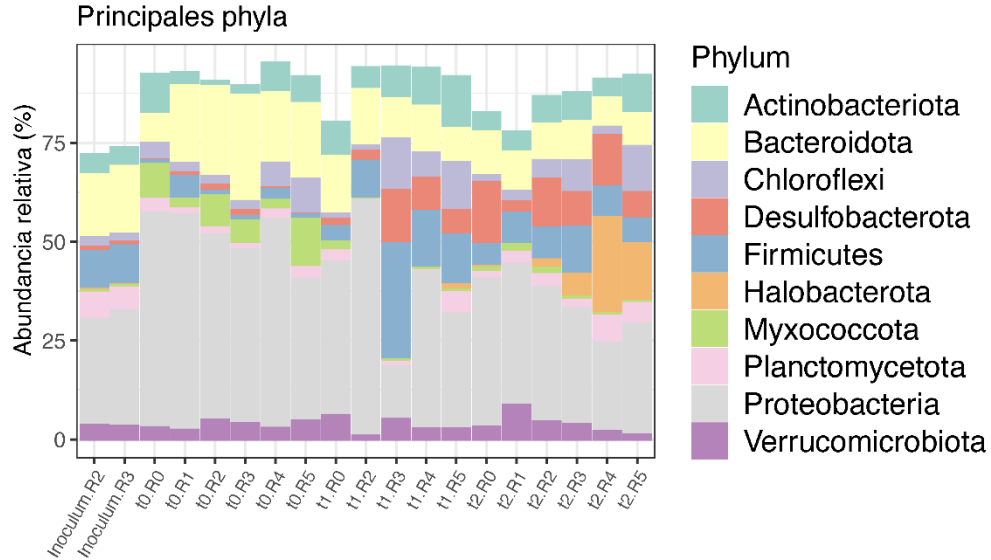


Figura 4.19. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s a nivel *Phylum*. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 k Ω), R3 (5 k Ω), R4 (10 k Ω), R5 (20 k Ω), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

Los resultados señalaron que los microorganismos con actividad electroquímica como Actinobacteriota, Bacteroidota, Desulfobacterota, Firmicutes, Halobacterota y Proteobacteria estuvieron presentes en mayores proporciones (fueron los *phyla* con mayores abundancias relativas). Se ha informado en investigaciones anteriores sobre microorganismos exoelectrogénicos similares (Logan, 2009; Logan et al., 2019; Torres et al., 2009; Wang et al., 2016).

Principales géneros

Las secuencias relacionadas con los *phyla* anteriores se dividieron en ocho principales géneros (más abundantes) con un >1% de promedio de abundancia relativa incluyendo *Mycobacterium* (2.67%) (Actinobacteriota), *Methanosarcina* (2.40%) (Halobacterota), *Dokdonella* (1.79%) (Proteobacteria), *Christensenellaceae* (1.76%) (Firmicutes), *Geobacter* (1.61%) (Desulfobacter), *Flavobacterium* (1.52%) (Bacteroidota), *Dechloromonas* (1.27%) (Proteobacteria), *Pseudomonas* (1.04%) (Proteobacteria) (**Figura 4.20**). Estos géneros, a

excepción de *Christensenellaceae*, se han encontrado en estudios similares (Kim et al., 2019; Logan et al., 2019; Torres et al., 2009; Wang et al., 2016)

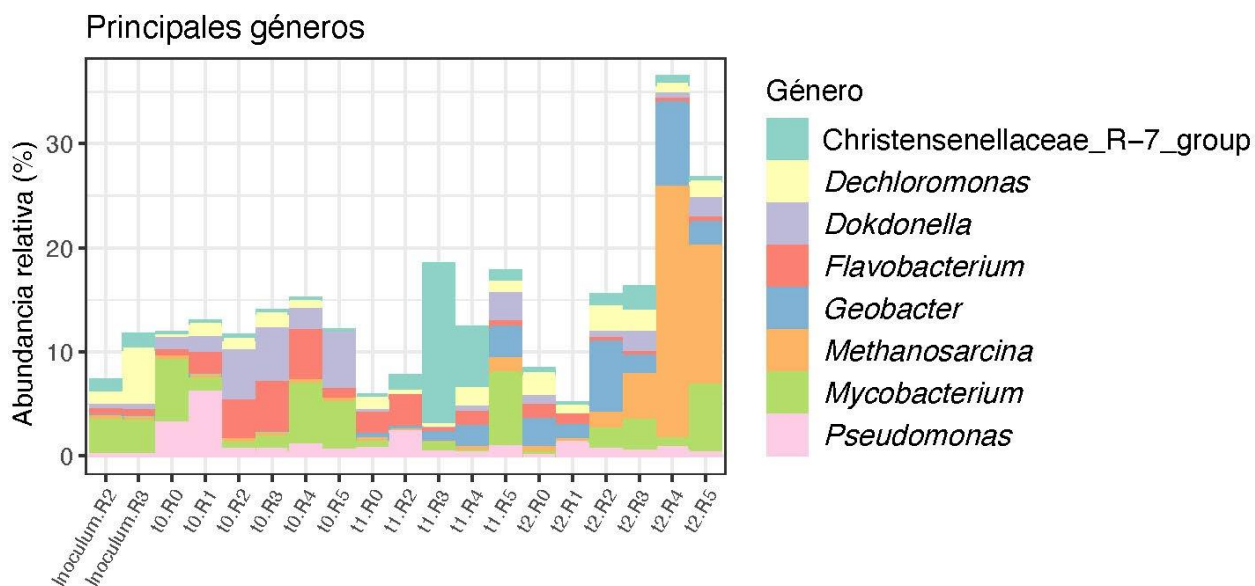


Figura 4.20. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s a nivel Género. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 k Ω), R3 (5 k Ω), R4 (10 k Ω), R5 (20 k Ω), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

A lo largo de la etapa experimental las abundancias relativas de estos géneros fueron cambiando. En términos generales, la abundancia relativa de los géneros *Flavobacterium*, *Dokdonella*, *Pseudomonas* disminuyó a lo largo del tiempo. Los géneros *Mycobacterium* y *Christensenellaceae* fluctuaron a lo largo del tiempo, teniendo una abundancia relativa en el tiempo t0 para *Christensenellaceae* muy baja, para el tiempo t1 esta abundancia relativa aumentó en todos los reactores, pero para el tiempo t2 volvió a disminuir drásticamente. Para el género *Mycobacterium* sucedió lo contrario ya que en el tiempo t0 la abundancia relativa fue mayor comparada con el tiempo t1; sin embargo, en el tiempo t2 volvió a aumentar (con excepción del reactor R5 (20 k Ω) el cual se mantuvo constante). La abundancia relativa del género *Dechloromonas* se mantuvo constante a lo largo de la etapa experimental. Por último, hubo una mayor selección de los géneros *Geobacter* y *Methanosarcina* los cuales se vieron

favorecidos y aumentaron a partir del tiempo t1 y, para el tiempo t2, la abundancia relativa aumentó drásticamente (**Figura 4.20**).

En particular, los diferentes valores de resistencia eléctrica externa dieron lugar a la formación de una distinta distribución de la comunidad microbiana aparentemente diversa. Por ejemplo, la abundancia relativa de los géneros electrogénicos varió con respecto a los diferentes reactores en el tiempo (**Tabla 4.12**).

Tabla 4.12. Abundancia relativa (%) de los principales géneros electrogénicos en la superficie de los ánodos. Día 5 (t0), día 112 (t1), día 203 (t2)

Tiempo/Reactor	<i>Geobacter</i>	<i>Pseudomonas</i>
Inoculum.R2	0.05	0.1
Inoculum.R3	0.04	0.1
t0. R0. CA	0	3.15
t1. R0. CA	0.40	0.66
t2. R0. CA	2.70	0
t0.R1.100 Ω	0.07	6.10
t2.R1.100 Ω	1.34	1.24
t0.R2.1000 Ω	0.39	0.64
t1.R2.1000 Ω	0.31	2.27
t2.R2.1000 Ω	6.91	0.62
t0.R3.5000 Ω	0.15	0.59
t1.R3.5000 Ω	1.15	0.32
t2.R3.5000 Ω	1.89	0.44
t0.R4.10000 Ω	0	1.03
t1.R4.10000 Ω	2.01	0.27
t2.R4.10000 Ω	8.20	0.75
t0.R5.20000 Ω	0	0.47
t1.R5.20000 Ω	3.04	0.81
t2.R5.20000 Ω	2.3	0.27

Pseudomonas

La abundancia realtiva de este género varió dependiendo del reactor. El de CA pasó de 3.15% en el día 5 (t0) a 0.66% en el día 112 (t1) para, finalmente, terminar en 0%. En el reactor de 100 Ω disminuyó su abundancia relativa de 6.10% en el día 5 (t0) a 1.24% en el día 203 (t2). La abundancia relativa del reactor de 1 k Ω fue diferente ya que del día 5 (t0) al día 112 (t1) pasó de 0.64 a 2.27% lo cual refleja un claro incremento, pero para el día 203 (t2) disminuyó a

0.62%. Un fenómeno distinto ocurrió en el reactor de 10 k Ω en el cual la abundancia relativa disminuyó del día 5 (t0) de 1.03% al día 112 (t1) (0.27%) y volvió a aumentar en el día 203 (t0) 0.75%. Esto demostraría que la abundancia relativa de este género es diferente entre reactores y el tiempo transcurrido (no tienen un patrón similar). Las bacterias representantes de este género son anaerobias facultativas, Gram-negativas y algunas producen mediadores de transferencia de electrones, como fenazinas, piocianina y sustancias relacionadas que contribuyen a la generación de corriente (pudiendo ser utilizadas por otros microorganismos) en una celda de combustible microbiana (Schmitz y Rosenbaum, 2018).

En trabajos previos se observó que la presencia de este género se debe a diferentes factores. En el trabajo de Torres et al. (2009) se observó que el género *Pseudomonas* está adaptado para crecer a altos potenciales de ánodo (+0.02 y +0.37 V), contrario a lo que se observó en esta investigación, donde los potenciales de ánodo tuvieron un promedio alrededor de -250 mV, lo cual indicaría que este no fue un factor limitante en cuanto al desarrollo de este género.

Por otro lado, Kim et al. (2019) reportaron una abundancia relativa de *Pseudomonas* del 0.03% en un ánodo de fieltro de grafito y del 0.004% en un ánodo de acero inoxidable revestido con una malla de nanotubos de carbono. Estos valores son diferentes a los obtenidos en este estudio y esto podría deberse a que Kim et al. (2019) los obtuvieron al momento de arrancar el experimento y no hicieron una comparación a diferentes tiempos.

Logan et al. (2019) mostró que un cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* puede generar hasta 53 mW/m² de densidad de potencia, lo que demuestra que su presencia o ausencia en la comunidad microbiana de la superficie del ánodo influye en la producción de electricidad.

Por lo tanto, la presencia de este género en estudios similares es un indicador de producción de electricidad debido a que es un género de bacterias electrogénicas y al estar presente en los resultados de este estudio indica que pudo colaborar en la generación de corriente.

Geobacter

El género *Geobacter* es reconocido por ser uno de los grupos de bacterias exoelectrogénicas modelo. Algunos representantes de este grupo son capaces de reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} como parte de su metabolismo y gracias a este proceso pueden generar corriente en las celdas de combustible microbianas (los electrones producidos durante la degradación de compuestos orgánicos son transferidos a un electrodo) (Logan et al., 2019; Lovley, 2008; Malvankar y Lovley, 2014).

Debido a lo anterior, la presencia de este género es importante en la superficie del ánodo a lo largo del experimento ya que se relaciona directamente con la generación de corriente. Las abundancias relativas en el inóculo y en todos los reactores al día 5 (t_0) fueron $<1\%$, lo que indica que antes de conectar las resistencias eléctricas la presencia de estos microorganismos fue casi nula.

Para el día 112 (t_1) ya se observó un incremento en la abundancia relativa de este género, aunque fue diferente para cada reactor (no se pudo obtener la abundancia relativa del reactor de $100\ \Omega$ debido a la falta de ASV) CA (0.40%), $1\ \text{k}\Omega$ (0.31%), $5\ \text{k}\Omega$ (1.15%), $10\ \text{k}\Omega$ (2.01%) y $20\ \text{k}\Omega$ (3.04%) (**Tabla 4.12**). También se puede observar que entre más alto era el valor de la resistencia eléctrica externa mayor fue la abundancia relativa siendo la más alta la que correspondió al reactor de $20\ \text{k}\Omega$ (3.04%).

A pesar de este patrón, la abundancia relativa en el día 203 (t_2) fue completamente diferente en todos los reactores: CA (2.70%), $100\ \Omega$ (1.34%), $1\ \text{k}\Omega$ (6.91%), $5\ \text{k}\Omega$ (1.89%), $10\ \text{k}\Omega$ (8.20%) y $20\ \text{k}\Omega$ (2.3%). Esto indicaría que hubo un incremento relativo en cuanto a la abundancia relativa de especies pertenecientes a este género en todos los reactores, excepto el de $20\ \text{k}\Omega$ (la cual disminuyó), pero este ya no siguió el mismo patrón del día 112 (t_1) ya que los reactores de $1\ \text{k}\Omega$ y $10\ \text{k}\Omega$ fueron los que tuvieron un mayor incremento comparado con el resto, lo que sugeriría que existe una influencia de la resistencia eléctrica externa en la proliferación de estas bacterias (**Figura 4.21**). En estudios similares se observó la presencia de este género bacteriano en celdas de combustible microbianas.

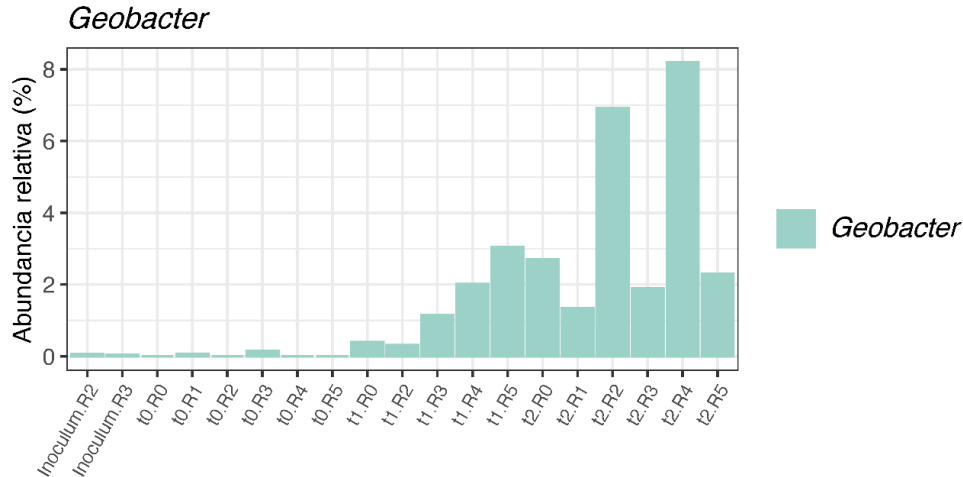


Figura 4.21. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s del Género *Geobacter*. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 k Ω), R3 (5 k Ω), R4 (10 k Ω), R5 (20 k Ω), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

Las celdas de combustible microbianas acopladas a humedales artificiales presentaron variaciones significativas en las comunidades de microorganismos, dependiendo de los materiales utilizados en el ánodo (Wang et al., 2016). Estos investigadores observaron que, en una celda de combustible microbiana que empleaba fieltro de fibra de carbono como ánodo, la presencia de Proteobacterias (en las cuales en ese momento pertenecía la clase Deltaproteobacteria, que ahora es el *phylum* Desulfobacterota) era considerablemente mayor (71%) en comparación con una celda que usaba malla de acero inoxidable como ánodo (63.1%). A nivel de género, *Geobacter* tuvo el mismo o incluso mayor enriquecimiento en el ánodo de fieltro de fibra de carbono en comparación con la malla de acero inoxidable, varilla de grafito y de níquel espumado. Cabe mencionar que, para la comparación de Wang et al. (2016), todos los reactores operaron con una resistencia eléctrica externa de 1 k Ω . A pesar de que en esta investigación se obtuvo una menor abundancia relativa promedio del *phylum* Protobacteria (37.43%), el género *Geobacter* tuvo su mayor abundancia relativa en el reactor operado a 10 k Ω en el día 203 (t2) lo que indica que, en este estudio, a pesar de utilizar una combinación de fieltro de fibra de carbono con una placa de acero inoxidable como ánodo, el género *Geobacter* fue influenciado debido al valor de la resistencia eléctrica externa.

Por otro lado, la diferencia en las poblaciones microbianas dominantes fue distinta en el género *Geobacter* dependiendo del material utilizado como ánodo. El fieltro de grafito tuvo una mayor abundancia relativa (0.89%) comparado con la malla de acero inoxidable (0.26%), aunque este análisis se llevó a cabo en el momento de la puesta en marcha. Sin embargo, la mayor densidad de potencia se obtuvo en el reactor con el ánodo de malla de acero inoxidable, a una resistencia eléctrica externa de 1 k Ω que estuvo funcionando durante 80 días (Kim et al., 2019). Contrario a esto, lo que se observó en esta investigación es que la mayor densidad de potencia se obtuvo a una resistencia eléctrica externa de 100 Ω pero fue la que presentó la menor abundancia relativa del género *Geobacter* siendo el reactor con la resistencia de 10 k Ω la que obtuvo una mayor abundancia relativa de este género.

Este comportamiento concuerda con las observaciones de Katuri et al. (2011) en sus estudios con diferentes resistencias eléctricas externas. Con las distintas resistencias que utilizaron, sus reactores se sometieron a diferentes rangos de densidades de corriente a medida que se desarrollaban las comunidades bacterianas. Se notó que, a medida que la densidad de corriente aumentaba, la composición de la comunidad microbiana disminuía y se observaban rendimientos de biomasa más bajos debido a que las densidades de corriente más altas mejoraron el grado de utilización del sustrato. Esto está relacionado con lo mencionado por Aelterman et al. (2008) indicando que, en general, una resistencia eléctrica externa más baja induce un mayor flujo de electrones y un menor potencial anódico, lo que conduce a una mayor ganancia de energía para las bacterias y, con otros factores como sustrato disponible, por ejemplo, a un aumento significativo de la densidad de potencia. Además, la densidad de potencia también puede estar influenciada por los valores de las resistencias internas y externas ya que, teóricamente, para obtener una máxima densidad de potencia el valor de la resistencia interna y el valor de la resistencia externa deben ser similares (Logan et al., 2006).

Aunado a esto, Zhang et al. (2011) demostraron que la ganancia de energía de la comunidad microbiana disminuyó con el aumento de la resistencia externa de 10 a 1000. Los microorganismos presentes en la CCM con menor resistencia tuvieron una mayor ganancia de energía, pero una biomasa activa menor que la CCM con una resistencia mayor. Esto concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación donde se puede observar que la

abundancia relativa del género *Geobacter* fue mayor en el reactor de 10 k Ω , pero la ganancia energética fue mayor en el reactor con la resistencia eléctrica más baja 100 Ω . Esto sugeriría que se consumió una mayor proporción de energía para la síntesis de sustancias poliméricas extracelulares en la comunidad microbiana desarrollada en el reactor de 100 Ω .

Géneros asociados con los compuestos clorados

Las bacterias representantes de los géneros relacionados a compuestos clorados son conocidas por su capacidad para realizar la reducción de compuestos dichos compuestos, lo que significa que pueden eliminar átomos de cloro, de ciertos compuestos químicos como el acetato (De Wever et al., 2000; Liebensteiner et al., 2016). La **Figura 4.22** muestra los resultados.

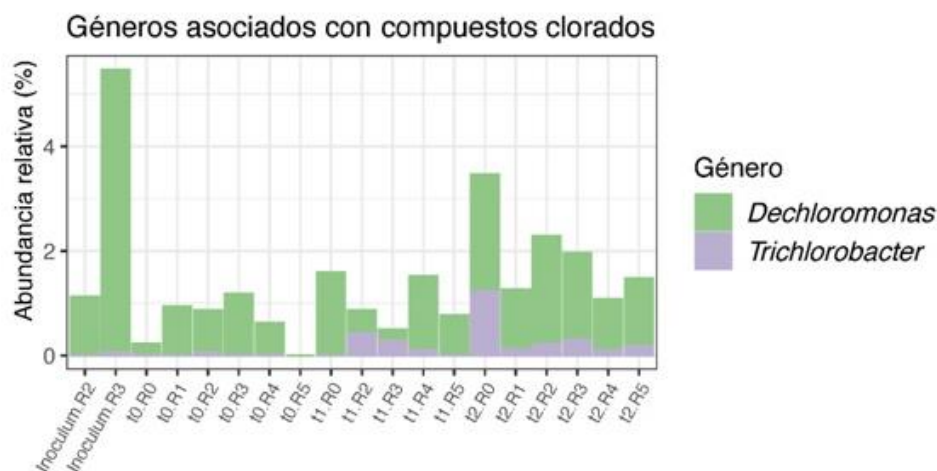


Figura 4.22. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los géneros *Dechloromonas* y *Trichlorobacter*. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 k Ω), R3 (5 k Ω), R4 (10 k Ω), R5 (20 k Ω), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

En esta investigación se observó la presencia de dos géneros. *Dechloromonas* prácticamente en todos los reactores a lo largo de la etapa experimental y *Trichlorobacter* presente a partir del día 112 en todos los reactores a excepción de CA y 20 k Ω indicando que se llevó a cabo la eliminación de los átomos de cloro de los compuestos de materia orgánica.

Trichlorobacter comparte similitudes con cepas relacionadas a *Geobacter* y tiene la capacidad de desclorar compuestos de materia orgánica utilizando acetato e hidrógeno (H₂) como fuente de electrones (Sung et al., 2006). Además, *Dechloromonas* tiene la capacidad de desnitrificación y ‘respiración’ anódica (Wang et al., 2016); por lo tanto, su presencia puede estar relacionada con el ciclo del nitrógeno y con la generación de corriente.

Géneros asociados con la sulfatoreducción

Según la última clasificación taxonómica SILVA v.138 (2020), el *phylum* Desulfobacterota está compuesto principalmente por microorganismos que tienen la capacidad de llevar a cabo la reducción de sulfatos y suelen encontrarse en ambientes anaerobios. A lo largo de la etapa experimental (días 5, 112, 203) se observó la presencia de cinco géneros (principales) pertenecientes a este grupo (sulfato-reducción) en todos los reactores, aunque las abundancias relativas son distintas (**Figura 4.23**).

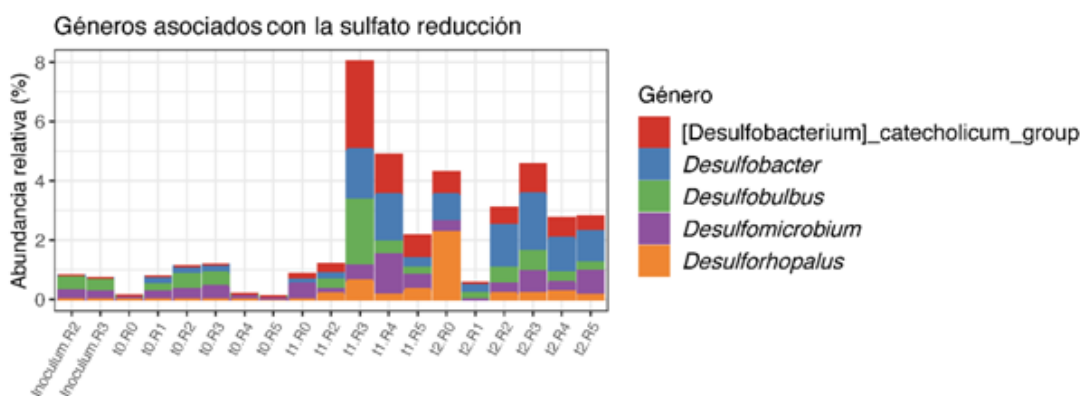


Figura 4.23. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los géneros asociados con la sulfato-reducción. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 kΩ), R3 (5 kΩ), R4 (10 kΩ), R5 (20 kΩ), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

De manera general existió un incremento en la abundancia relativa de todos estos géneros (a excepción del reactor de 100 Ω) a partir de las muestras observadas en el día 112 (t1) en comparación con el día 5. Para el día 203 los reactores en CA y 20 kΩ aumentaron su abundancia relativa a diferencia del resto de los reactores en los cuales esta disminuyó.

Estos géneros han sido encontrados en investigaciones similares donde se utilizaron celdas de combustible microbianas. Se ha reportado que el género *Desulfobacterium* es capaz de transferir electrones directamente desde sus sistemas metabólicos a un electrodo conductor (Agostino y Rosenbaum, 2018) y, por lo tanto, influye en la transferencia de electrones (generación de corriente). El género *Desulfobacter* se ha descrito como un grupo que utiliza acetato como su fuente de carbono para su crecimiento y metabolismo (Dyksma et al., 2018), lo cual pudo haber ayudado con la degradación del acetato. El género *Desulfobulbus* puede utilizar una variedad de aceptores de electrones diferentes, como nitrato, nitrito, además de hierro férrico, cuando los sulfatos son escasos (Purdy et al., 2001; Rossi et al., 2014) y, por lo tanto, puede estar involucrado en los procesos de desnitrificación y en la transferencia extracelular de electrones. Con frecuencia, *Desulfomicrobium* se encontraba en simbiosis con bacterias desnitrificadoras en el mismo entorno (Yamashita et al., 2011). Estos géneros son importantes en el proceso de sulfato-reducción, así como auxiliares en procesos como la desnitrificación, degradación de materia orgánica y la transferencia de electrones extracelulares.

Géneros asociados con la metanogénesis

Al igual que el *phylum* Desulfobacterota, que es uno nuevo, según la última clasificación taxonómica SILVA v.138, el *phylum* Halobacterota también es nuevo y su relevancia radica en que en el se produce la reorganización de grupos de microorganismos metanotróficos que previamente estaban agrupados en el *phylum* Euryarchaeota, perteneciente al dominio de las arqueas. Los principales representantes del *phylum* Halobacterota en esta investigación fueron *Methanosaeta* y *Methanosarcina*, los cuales presentaron una abundancia relativa prácticamente nula el día 5 en todos los reactores y a partir del día 112 ya se observa la presencia de dichos géneros. Pero es hasta el día 203 en el cual se observa un desarrollo repentino debido al aumento de la abundancia relativa en todos los reactores excepto en el reactor de 100 Ω , en el cual se tiene una abundancia relativa prácticamente nula del género *Methanosarcina* (0.09%) y nula para *Methanosaeta* (**Figura 4.24**).

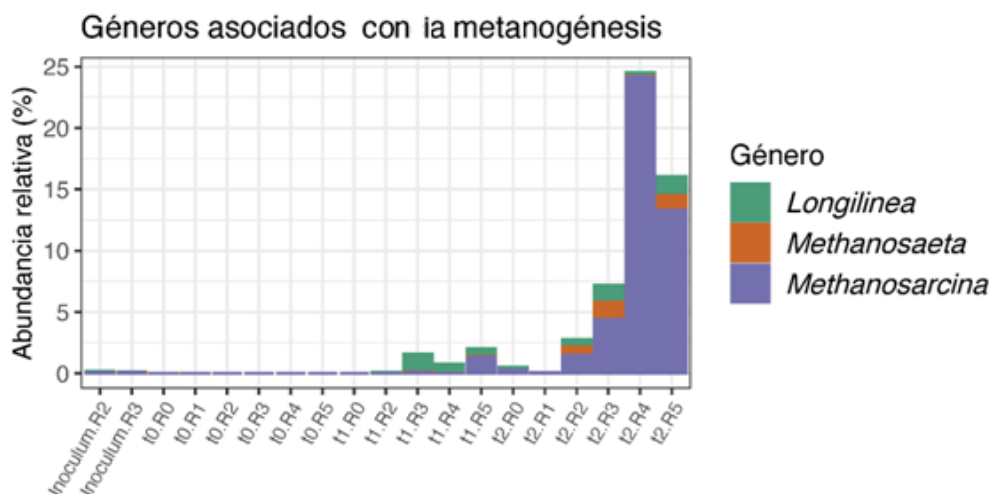


Figura 4.24. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16s de los géneros asociados con la metanogénesis. Las barras corresponden a los reactores R0 (CA), R1 (100 Ω), R2 (1 k Ω), R3 (5 k Ω), R4 (10 k Ω), R5 (20 k Ω), Inoculum R2 (primera repetición), Inoculum R3 (segunda repetición) y a los tiempos t0 (día 5), t1 (día 112), t2 (día 203)

Estos géneros han sido reportados en sistemas similares y se ha demostrado que la competencia entre bacterias electroquímicamente activas y metanógenos que utilizan hidrógeno como donante de electrones tiene un impacto significativo en la densidad de corriente debido a que aprovechan los equivalentes reductores producidos por las bacterias electrogénicas para la producción de metano y también de otros metabolitos (Demirel y Scherer, 2008; Lu et al., 2015).

Por otro lado, los representantes del género *Longilinea* pertenecen al *phylum* Chloroflexi que crecen en condiciones anaerobias estrictas y su proliferación se mejora en presencia de metanógenos hidrogenotróficos (Yamada et al., 2007), como los anteriormente mencionados. Por lo tanto, su abundancia relativa está relacionada con los organismos metanogénicos.

4.6. Resumen final de los datos experimentales

Por último, en la **Tabla 4.13** se muestra un resumen de los datos experimentales obtenidos en esta investigación.

Tabla 4.13. Resumen de los datos experimentales obtenidos durante la investigación

Parámetro	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
Promedio de densidad de potencia, mW/m ^{2*}	15.22	13.77	7.67	5.89	5.69	n.p.
Promedio de densidad de corriente, mA/m ^{2*}	20.54	18.53	12.06	11.60	9.93	n.p.
Promedio de los potenciales del ánodo, mV	-235	-254	-248	-238	-261	-260
Promedio de los potenciales del cátodo, mV	212	275	262	237	235	277
Promedio de voltaje, mV	536	622	613	561	590	647
Promedio de remoción de DQO, %	64.74	79.51	79.01	74.33	71.64	65.83
Promedio de conductividad eléctrica, mS/cm	1.31	1.27	1.28	1.29	1.25	1.25
Promedio de valores de pH	7.76	7.76	7.76	7.65	7.83	7.85
Promedio de valores de temperatura, °C	15.76	15.30	15.45	15.63	15.42	15.43
Promedio de valores del pOR (ORP), mV	-185	-193	-203	-196	-193	-184
Promedio de remoción de nitratos, %	79.03	86.50	87.38	84.01	83	81.94
Concentración promedio de nitritos en el efluente, mg/L	0.158	0.246	0.414	0.162	0.158	0.166
Promedio de remoción de nitrógeno amoniacal, %	41.29	27.92	28.28	32.15	28.06	23.95
Promedio de remoción de sulfatos, %	13.28	42.10	42.57	40.92	31.44	38.18

*Estos valores de densidad de potencia y de corriente eléctrica se obtuvieron con la medición directa de la corriente eléctrica con cada una de las resistencias eléctricas externas que le correspondía a cada reactor
n.p. No procede

En el siguiente y último capítulo se presentan las conclusiones derivadas de esta fase de la investigación.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1. Conclusiones

- Existieron diferencias en cuanto a la producción de electricidad entre cada reactor, lo que podría indicar que existe el efecto de los dos factores en estudio: Un efecto de la resistencia eléctrica sobre el desempeño eléctrico y un efecto de la comunidad microbiana presente en el ánodo
- El reactor de 100 Ω es el que presenta los valores más altos de corriente y máxima densidad de potencia y, por lo tanto, es el reactor más eficiente en el proceso de generación de electricidad
- Se deduce que las resistencias eléctricas utilizadas en este experimento sí influyen en los valores de los potenciales.
- El reactor con conexión de 20 k Ω es el que ha presentado la menor eficiencia en el proceso de producción de electricidad, lo que indica que para este caso una resistencia muy alta no favoreció la producción de electricidad
- El valor de resistencia externa de 10 k Ω mostró un buen rendimiento en los valores de producción eléctrica cuando se realizaron las curvas de polarización, lo que indicaría que esta resistencia favoreció la formación de microorganismos electrogénicos. Es importante mencionar que, al parecer, de acuerdo con la Ley de Ohm, la corriente generada fue menor debido a una alta resistencia eléctrica y también a la competencia entre especies por los donantes de electrones
- Los reactores estudiados son capaces de remover materia orgánica medida como DQO y reducir las concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitratos y sulfatos
- El valor de la resistencia eléctrica externa no influyó en la remoción de nitrógeno amoniacal, pero sí influyó en los demás contaminantes medidos (materia orgánica, nitratos, nitritos y sulfatos)

- La remoción de nitrógeno amoniacal y nitratos es se debe a la presencia de bacterias nitrificantes y desnitrificantes en los reactores, lo cual se confirma con la presencia de los nitritos en el efluente
- De acuerdo con el análisis de PCoA, la comunidad microbiana fue diferente después del día 5 (inicio del experimento). Los días 102 y 203 muestran la existencia de microorganismos que son semejantes entre sí. En ese análisis el reactor de 20 k Ω en el día 203 y el de CA en los días 112 y 203, de manera general, tuvieron una comunidad microbiana diferente con respecto de los demás reactores ubicándose en el extremo superior derecho de la **Figura 4.18**.
- El reactor de 10 k Ω fue el que tuvo una mayor abundancia relativa de los microorganismos electrogénicos, pero también fue el que tuvo una mayor abundancia relativa de los que compiten por los donantes de electrones, principalmente los metanogénicos
- Debido a las variaciones observadas en los valores de los parámetros eléctricos, la eliminación de contaminantes y la composición de la comunidad microbiana en la superficie del ánodo entre los distintos reactores, es plausible considerar que haya una influencia de la resistencia eléctrica externa en estos sistemas.

Con base en estas conclusiones, a continuación, se señalan algunas perspectivas para la investigación futura.

5.2. Perspectivas

- Para investigaciones futuras se recomienda estudiar más a fondo el valor de la resistencia interna, para que sea evaluada junto con la resistencia externa
- De igual manera, se recomienda tener en cuenta todas las pérdidas de energía presentes en el sistema y buscar la manera de reducirlas al máximo para que no interfieran con los valores de producción eléctrica, como reducir la distancia entre los electrodos y mejorar la configuración de la celda electroquímica
- Aunado a esto, se recomienda utilizar materiales que favorezcan la transferencia de electrones y las reacciones bio-electroquímicas de los sistemas

- Garantizar que las condiciones iniciales de todos los reactores sean iguales
- Realizar las mediciones de corriente y potencia con el mismo valor de resistencia eléctrica en todos los reactores
- Probar un sistema sin celda electroquímica para la remoción de contaminantes
- Probar tres sistemas con una resistencia de 0.1, 1 y 10 k Ω cada uno y después de un periodo de aclimatación de los microorganismos electrogénicos (se sugiere a partir de 200 días) reducir las resistencias eléctricas externas con lo cual se esperaría un aumento en la generación de corriente y por lo tanto en la densidad de potencia principalmente en los reactores de 1 k Ω y 10 k Ω
- Replicar el experimento obteniendo los datos de abundancia relativa del reactor de 100 Ω del día 112 (mitad del experimento) que pudieran afirmar o modificar las explicaciones de lo sucedido
- Medir la eficiencia coulombica de los sistemas

ANEXOS

ANEXO 1

Métodos analíticos

A.1.1. DQO total

Diagrama de flujo de la técnica para la determinación de materia orgánica medida como DQO (DOF, 2012)

La prueba de la demanda química de oxígeno es ampliamente utilizada como una forma de medir la concentración de materia disuelta y en suspensión, tanto de las aguas naturales como residuales. Se emplea un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para lograr la determinación del equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse (Metcalf y Eddy, 1995). A continuación, se muestra un diagrama del método de la medición de la demanda química de oxígeno (DQO) para aguas naturales, residuales y residuales tratadas (DOF, 2012).

Equipos y material

- 2 cápsulas de porcelana
- 3 matraces aforado de 1 L
- 24 tubos de ensayo
- 1 gradilla
- Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AG245 (precisión de 0.0001 g)
- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1800
- Micropipeta BRAND Transferpette S de 100 a 1000 μ L
- Horno de secado o estufa Felisa (México)
- Agitador Vortex Science MED modelo MX-S

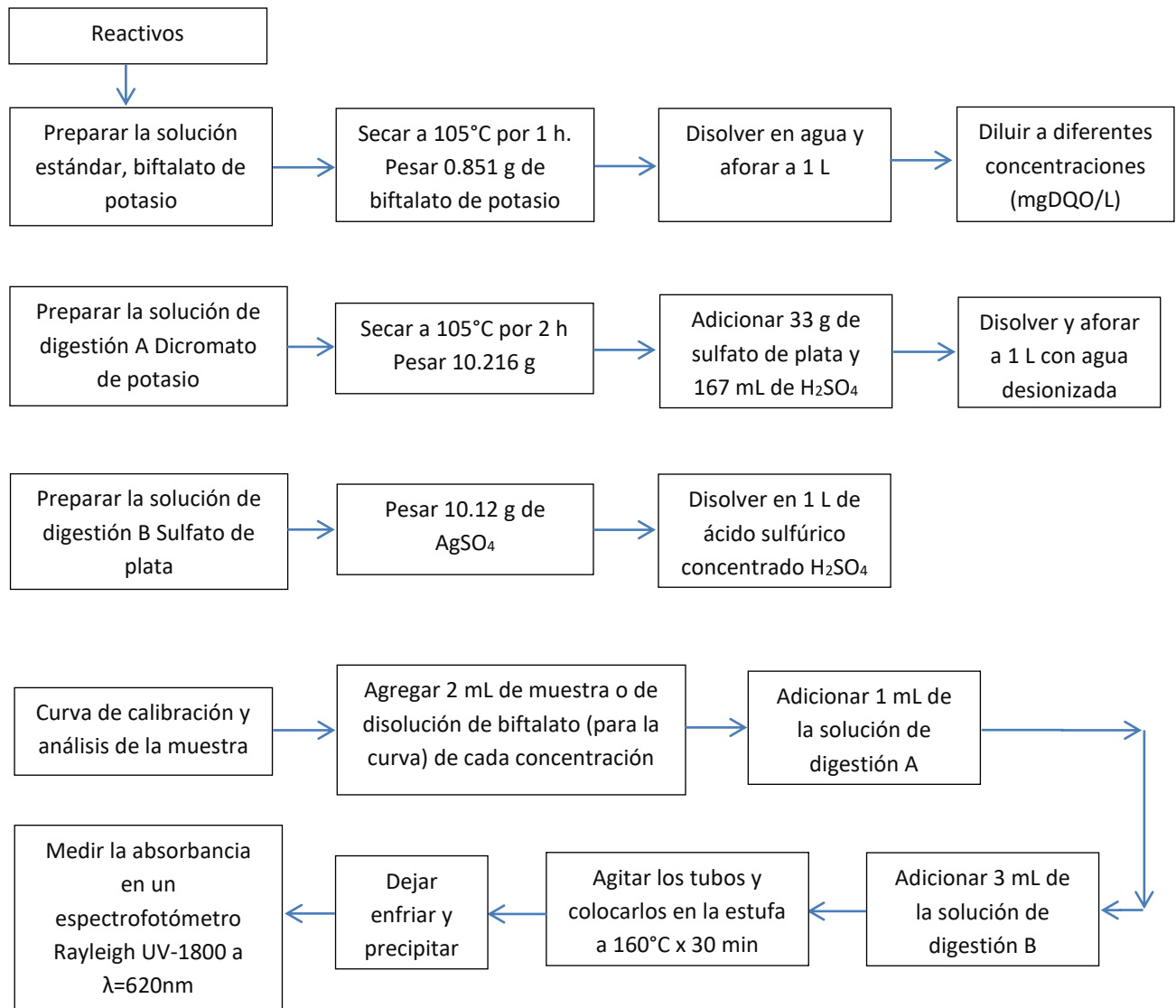


Tabla A.1.1. Valores obtenidos para curva de calibración de DQO

Puntos	Concentración mg/L	Absorbancia
1	0	0
2	100	0.006
3	200	0.012
4	300	0.020

Puntos	Concentración mg/L	Absorbancia
5	400	0.025
6	500	0.034
7	600	0.039
8	700	0.042
9	800	0.046
10	1000	0.059

R= 0.9955 Abs = 0.0012 + 0.0001 * C

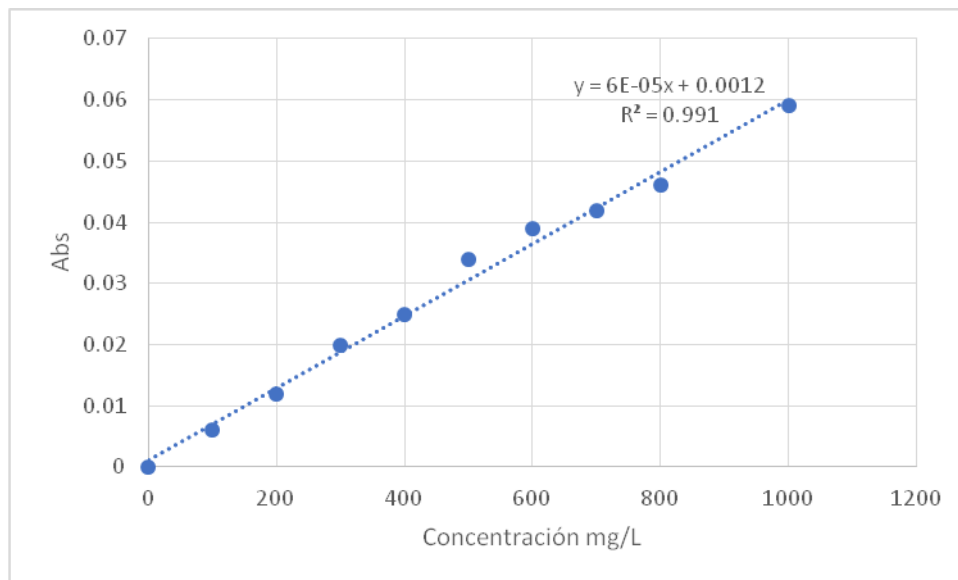


Figura A.1.1. Curva de calibración de DQO

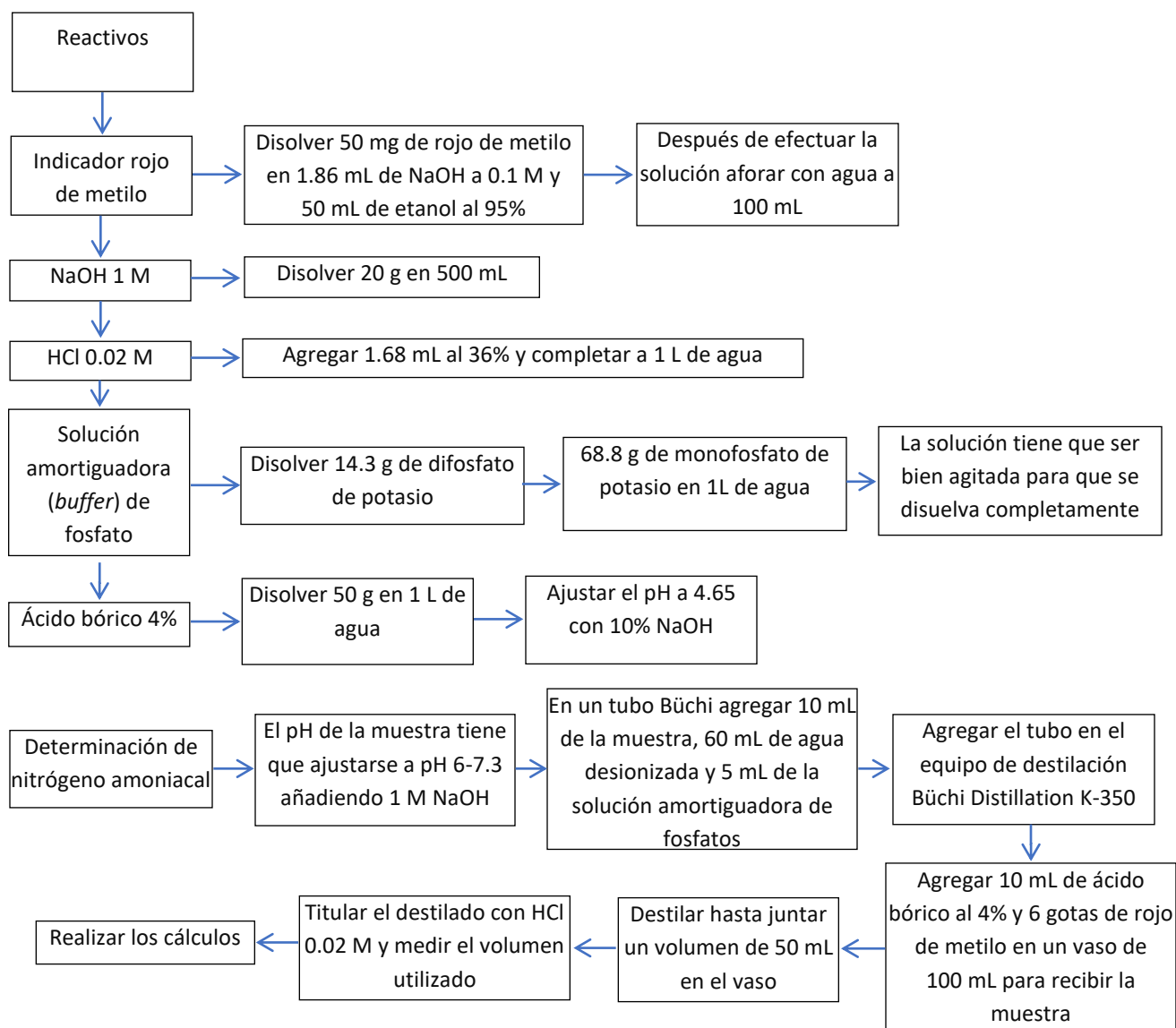
A.1.2. Nitrógeno amoniacal

Diagrama de flujo de la técnica para la determinación de nitrógeno amoniacal en agua residual (Büchi, 2007; Büchi, 2016; DOF, 2010)

El amoniaco es uno de los componentes transitorios en el agua, ya que es parte del ciclo del nitrógeno y se ve influido por la actividad biológica. Es un producto natural de la descomposición de los compuestos orgánicos nitrogenados. Las aguas superficiales no deben contener normalmente amoniaco (Sardiñas-Peña y Pérez-Cabrera, 2004).

Equipos y material

- 1 matraz aforado de 100 mL
- 1 matraz aforado de 500 mL
- 3 matraces aforado de 1 L
- 3 tubos Büchi
- 3 vasos de precipitado de 100 mL
- 1 gradilla para tubos Büchi
- 2 probetas de 100 mL
- 1 probeta de 10 mL
- 1 bureta con soporte
- 1 gotero
- Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AG245 (precisión de 0.0001 g)
- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1800
- Equipo de destilación Büchi Distillation K-350
- Potenciómetro HANNA instruments modelo HI 4522
- Micropipeta BRAND Transferpette S de 100 a 1000 μ L



Para realizar el cálculo correspondiente se utiliza la siguiente ecuación:

$$NH_3 = \left(\frac{(V_1 - V_2)}{V_0} * c * 14.01 * 1000 \right) (1.216) \quad \text{Ec. A.1.4}$$

donde:

NH_3 : Concentración de nitrógeno amoniacal en mg/L

V_1 : Volumen en mL de ácido clorhídrico usado para la titulación de la muestra

V_2 : Volumen en mL de ácido clorhídrico usado para la titulación del blanco

V_0 : Volumen en mL de la muestra

c: molaridad del ácido clorhídrico (en este caso 0.02 mol/L)

14.01: masa atómica relativa del nitrógeno

1.216: Factor de conversión para el nitrógeno amoniacal

A.1.3. Nitrógeno de nitratos

Diagrama de flujo de la técnica para la determinación de nitrógeno de nitratos (DOF, 2001)

Análisis de aguas – determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas – método de prueba. Esta norma mexicana establece el método para la determinación de nitrógeno de nitratos en agua, y es aplicable para agua potable que no presente turbiedad, color y con bajo contenido de materia orgánica (DOF, 2001).

Equipos y material

- Desecador de vidrio
- 1 cápsula de porcelana
- 2 matraces aforado de 1 L
- 1 matraz aforado de 500 mL
- 20 tubos de ensayo
- 1 gradilla
- Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AG245 (precisión de 0.0001 g)
- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1800
- Horno de secado o estufa Felisa (México)
- Micropipeta BRAND Transferpette S de 100 a 1000 μL

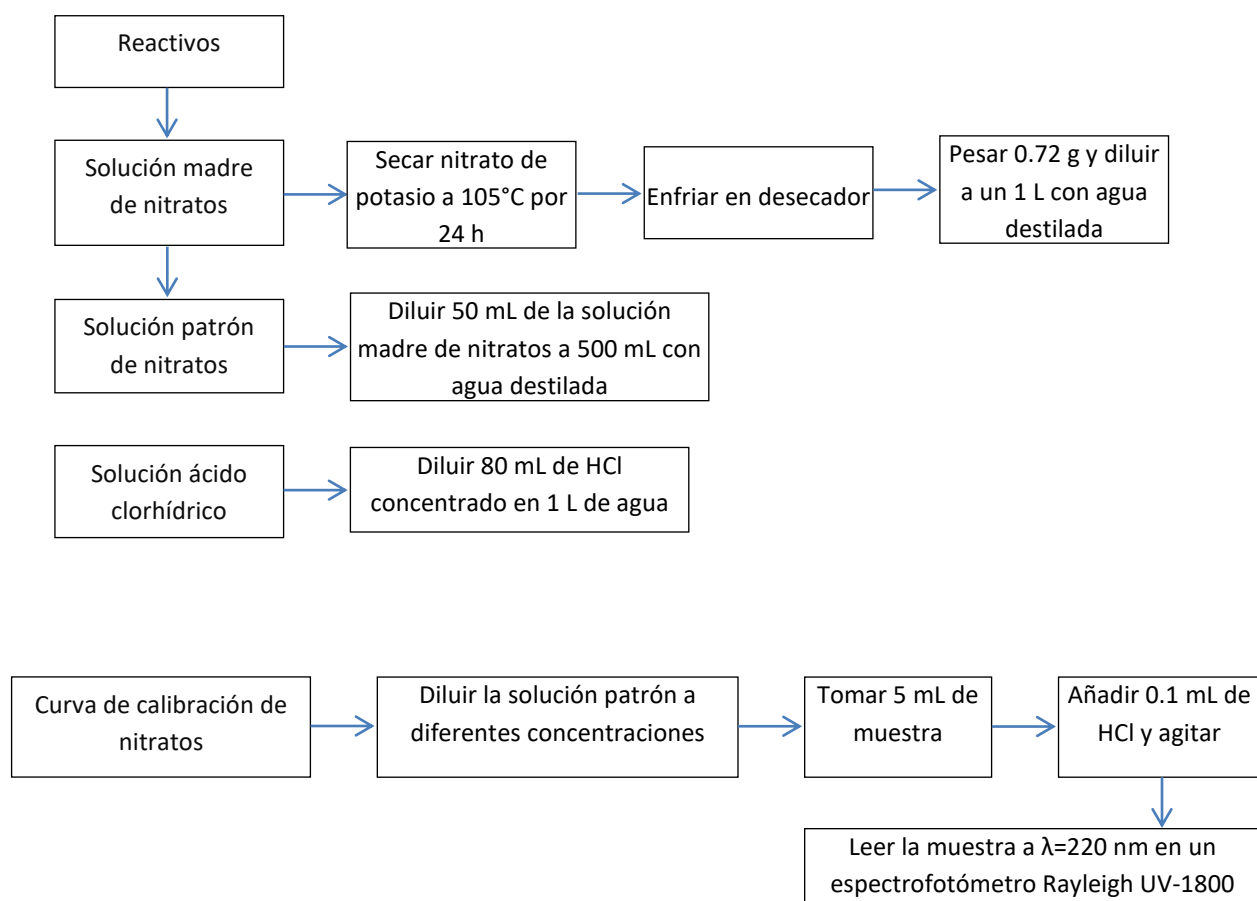


Tabla A.1.2. Valores obtenidos de la curva de calibración de nitratos

Puntos	Concentración mg/L	Absorbancia $\lambda=220\text{nm}$
1	0	0
2	0.20	0.086
3	0.60	0.183
4	1.40	0.447
5	2.00	0.619
6	3.00	0.822
7	4.00	1.095
8	6.00	1.627
9	7.00	1.887

$$R=0.999191$$

$$\text{Abs}=0.0380 + 0.26655 * C$$

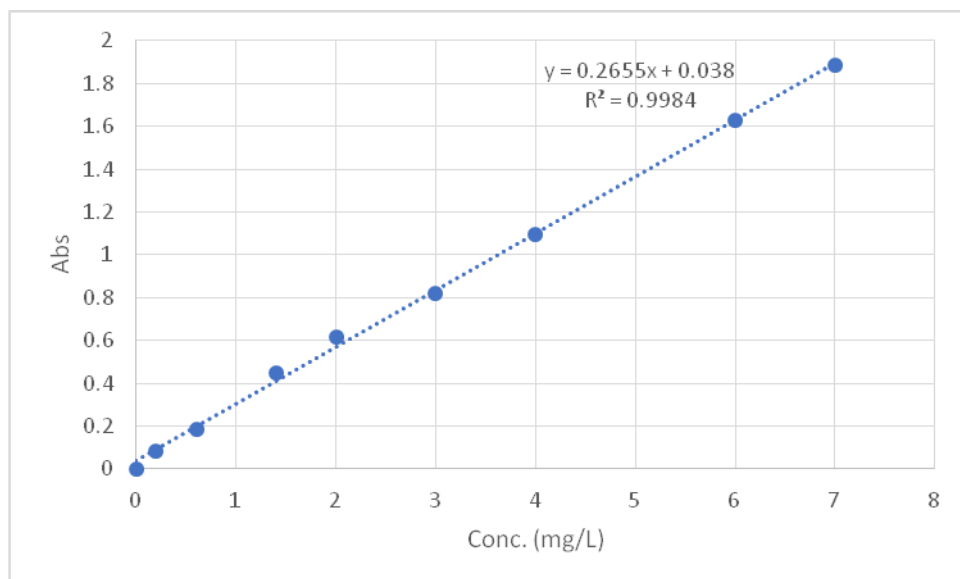


Figura A.1.2. Curva de calibración de nitratos

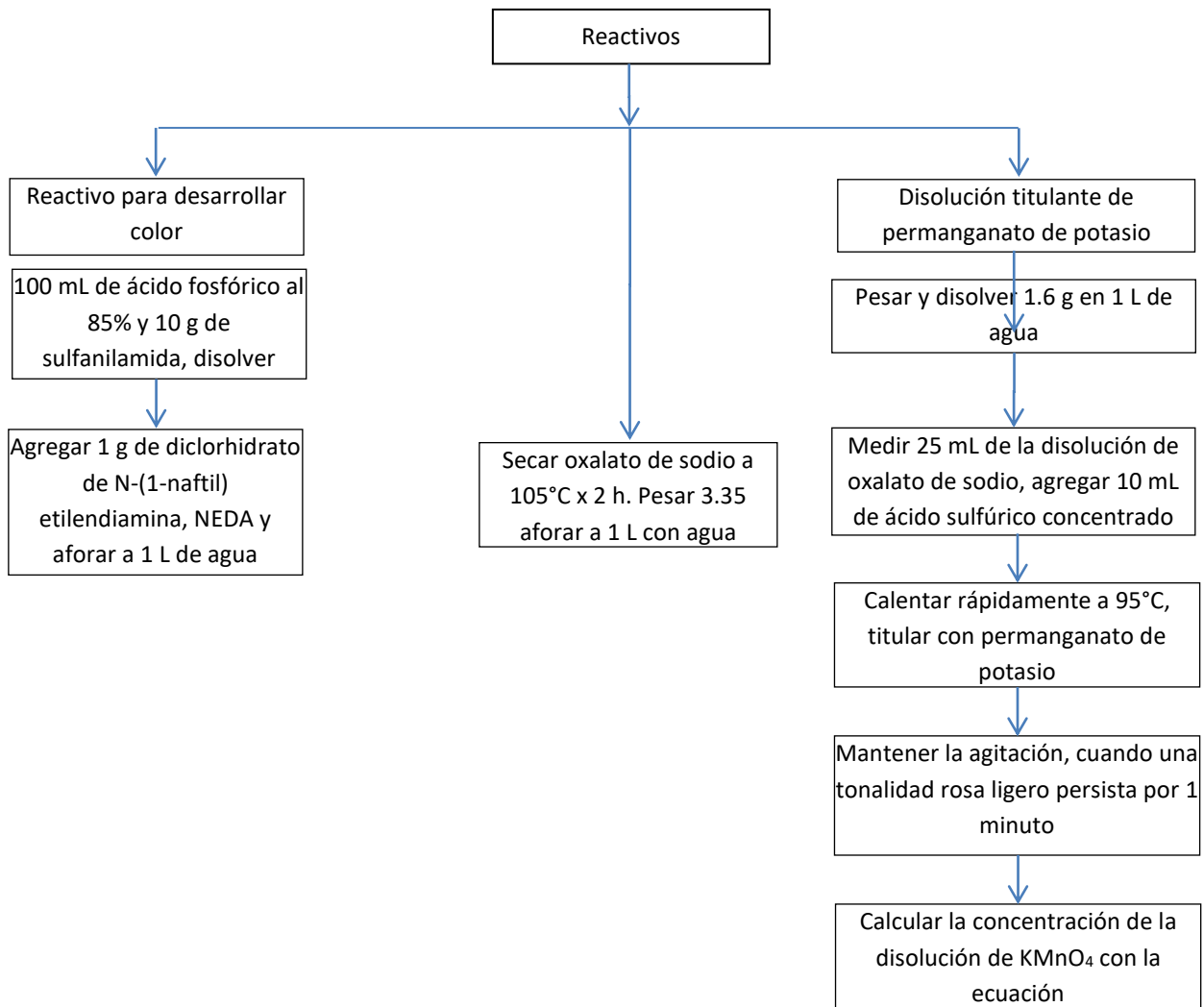
A.1.4. Nitrógeno de nitritos

Diagrama de flujo para la determinación de nitrógeno de nitritos (DOF, 2006)

Análisis de agua- Determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales- Método de prueba. Esta norma mexicana especifica un método de prueba espectrofotométrico para la determinación de nitrógeno de nitritos, en agua natural, residual y residual tratada, en un intervalo de 0.01 mg/L a 1 mg/L de N-NO₂ (DOF, 2006)

Equipos y material

- 2 cápsulas de porcelana
- 4 matraces aforados de 1 L
- 1 matraz aforado de 250 mL
- 3 probetas de 50 mL
- 2 probetas de 10 mL
- 1 agitador (mosca)
- 1 bureta con soporte
- Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AG245 (precisión de 0.0001 g)
- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1800
- Horno de secado o estufa Felisa (México)
- Parrilla de calentamiento Thermo Scientific modelo CIMAREC⁺
- Micropipeta BRAND Transferpette S de 100 a 1000 µL



Para realizar el cálculo correspondiente se utiliza la siguiente ecuación:

$$c_{KMnO_4} = \frac{(V_2 * c_{Na_2C_2O_4})}{V_1} * G \dots\dots\dots \text{Ec. A.1.5.}$$

donde:

c_{KMnO_4} = Concentración de permanganato de potasio en mol/L

$c_{Na_2C_2O_4}$ = Concentración de oxalato de sodio en mol/L

V_1 = Volumen de la disolución de $KMnO_4$ gastado en la titulación, en mL

V_2 = Volumen de la disolución del $Na_2C_2O_4$ empleado para la titulación

$G = 0.4$ (coeficiente estequiométrico de la reacción)

Se debe realizar la valoración por triplicado y el resultado de la concentración de KMnO_4 será el promedio de las valoraciones

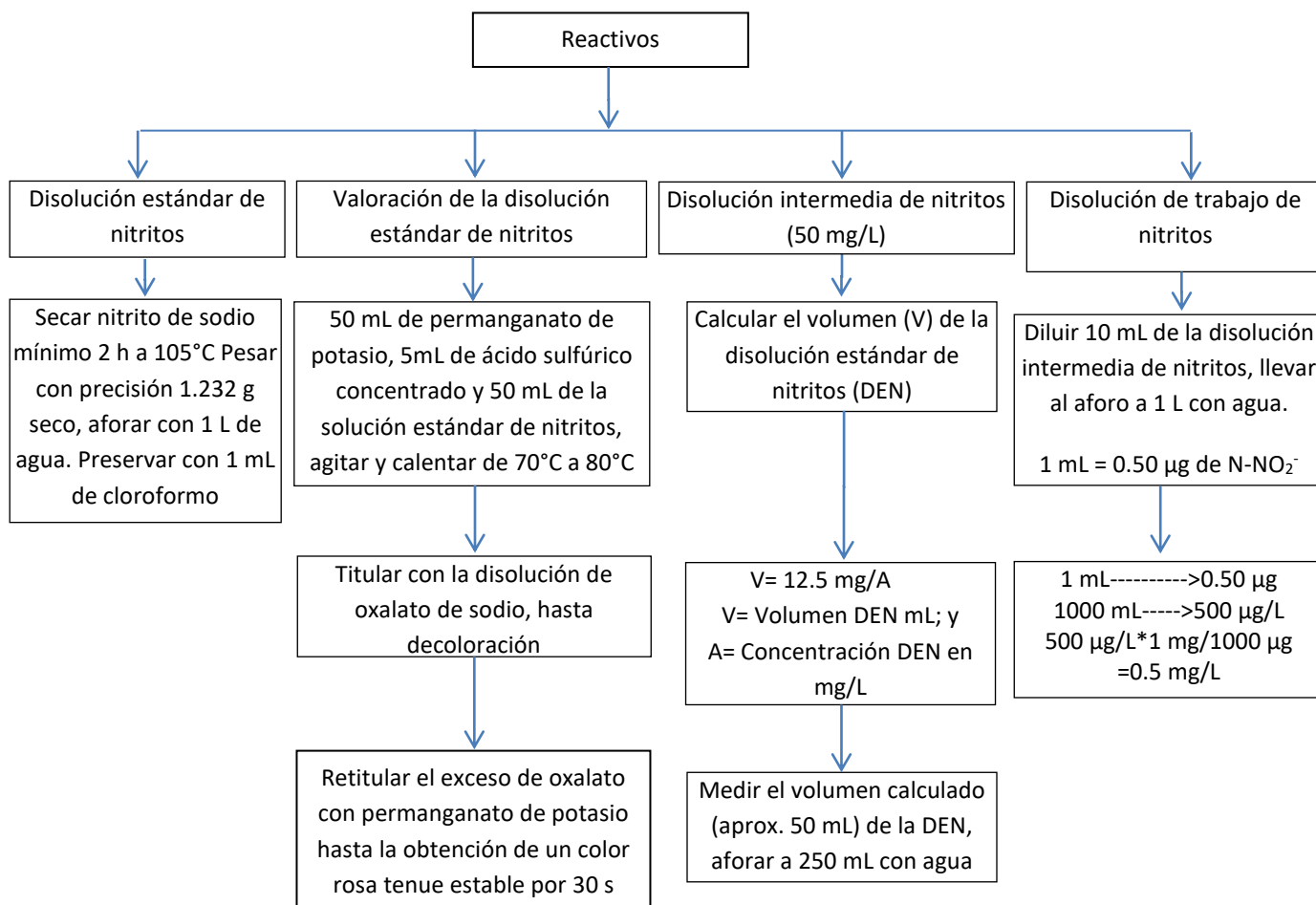


Tabla A.1.3. Datos obtenidos de la curva de calibración de nitritos

Puntos	Concentración mg/L	Absorbancia $\lambda=620\text{nm}$
1	0	0
2	0.01	0.011
3	0.05	0.032
4	0.10	0.073
5	0.15	0.096
6	0.20	0.132

$R=0.997586$

$C= -0.0031 + 1.5361 * \text{Abs}$

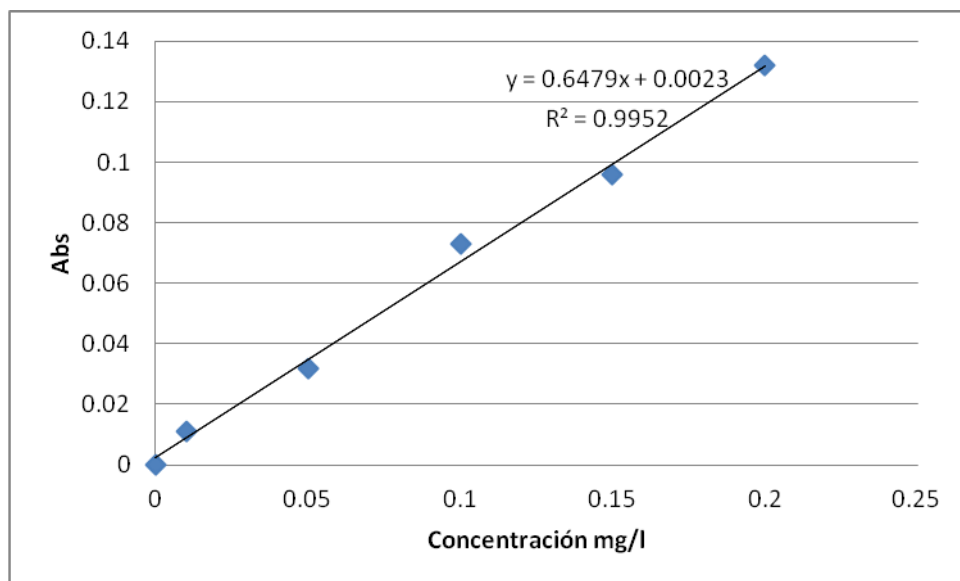


Figura A.1.3. Curva de calibración de nitritos

A.1.5. Sulfatos

Diagrama de flujo para la determinación de sulfatos (DOF, 2014)

Análisis de agua, medición del ion sulfato en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. El ion sulfato precipita con cloruro de bario, en un medio ácido, formando cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme. La concentración de masa del ion sulfato se mide por comparación de la lectura con una curva de calibración (método turbidimétrico) (DOF, 2014).

Equipos y material

- 1 probeta de 50 mL
- 1 probeta de 10 mL
- 2 matraces aforados de 1 L
- 1 matraz aforado de 100 mL
- Pipeta de vidrio de 10 mL
- 18 tubos de ensayo
- 1 gradilla
- Balanza analítica calibrada Mettler Toledo AG245 (precisión de 0.0001 g)
- Espectrofotómetro Rayleigh UV-1800
- Micropipeta BRAND Transferpette S de 100 a 1000 μ L

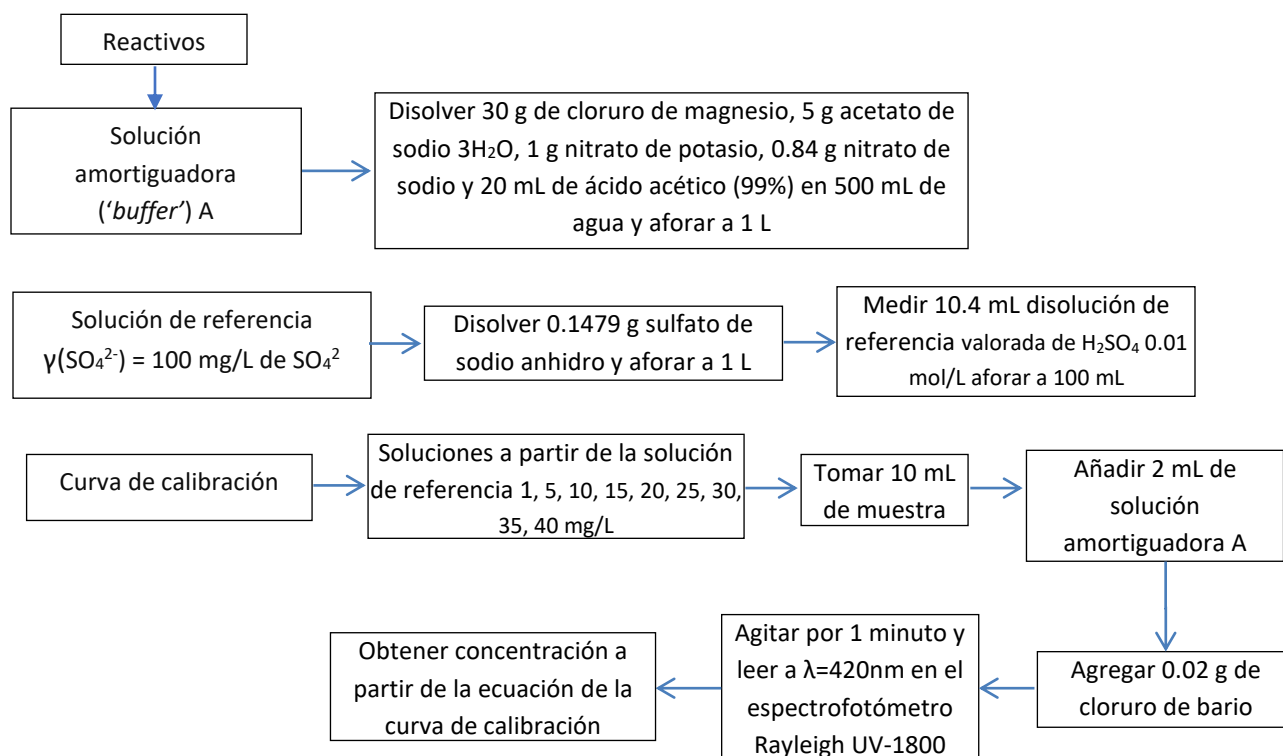


Tabla A.1.4. Datos obtenidos de la curva de calibración de sulfatos

Puntos	Concentración mg/L	Absorbancia $\lambda=420\text{nm}$
1	0	0
2	1	0.034
3	10	0.041
4	15	0.084
5	20	0.097
6	25	0.156
7	30	0.203
8	35	0.236

$$R=0.935326$$

$$\text{Abs} = -0.0217 + 0.0082 * C$$

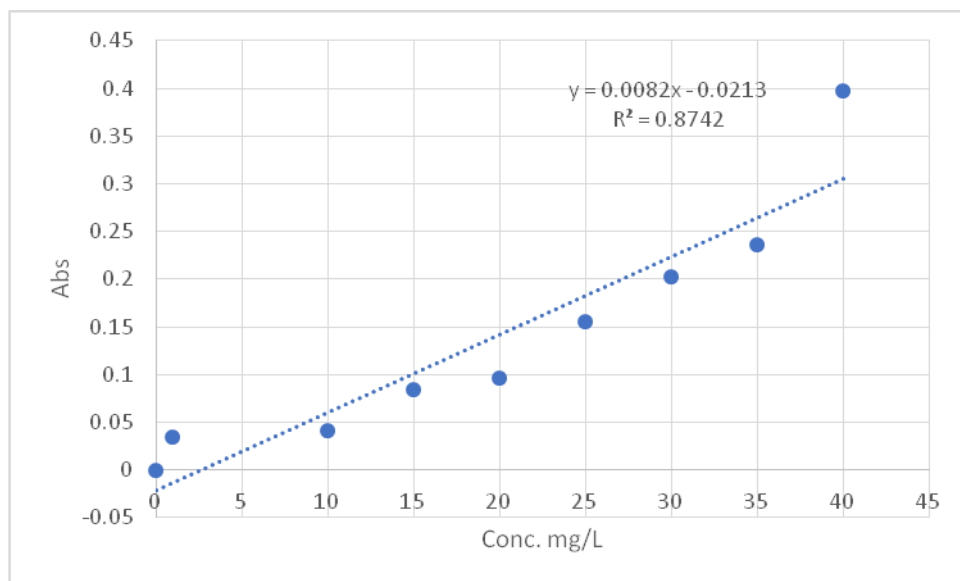


Figura A.1.4. Curva de calibración de sulfatos

ANEXO 2

DATOS EXPERIMENTALES

A.2.1. a A.2.3. Parámetros eléctricos

En esta sección se adjuntaron dos archivos en formato excel con los datos experimentales correspondientes a los parámetros eléctricos en dispositivos complementarios como se señala abajo.

A.2.1. Parámetros eléctricos: Datos experimentales de potenciales

El primer archivo llamado A.2.1.Potenciales y corriente anexos, contiene la **Tabla A.2.1.** Datos experimentales de potenciales y de voltaje de cada reactor.

A.2.2. Parámetros eléctricos: Datos experimentales de corriente y densidad de potencia

Los parámetros de corriente y densidad de potencia se encuentran en la **Tabla A.2.2.** Datos experimentales de corriente y densidades de potencia.

A.2.3. Parámetros eléctricos: Curvas de polarización

El segundo archivo llamado A.2.1. Curvas de polarización anexos, contiene la siguientes tablas:

Tabla A.2.3. Curvas de polarización del reactor 1 (100 Ω),

Tabla A.2.4. Curvas de polarización del reactor 2 (1 k Ω),

Tabla A.2.5. Curvas de polarización del reactor 3 (5 k Ω),

Tabla A.2.6. Curvas de polarización del reactor 4 (10 k Ω),

Tabla A.2.7. Curvas de polarización del reactor 5 (20 k Ω),

Tabla A.2.8. Curvas de polarización del reactor 6 (CA),

Tabla A.2.9. Curvas de polarización y de potencia de los valores máximos de cada reactor,

Tabla A.2.10. Valores de densidad de potencia máxima de cada reactor.

Todos ellos se encuentran en un disco compacto y una unidad tipo *USB* disponibles con la tesis en papel en la Minibiblioteca de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAyQA, del Departamento de Ingeniería Química ubicados en el Edificio E-3 de Alimentos y Química Ambiental del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.

A.2.4. Parámetros fisicoquímicos

Debido a que los datos experimentales correspondientes a los parámetros fisicoquímicos son muchos, se anexa un documento de excel con el nombre de **A.2.2. Parámetros fisicoquímicos** anexos, el cual contiene las siguientes tablas:

A.2.4a. Datos de temperatura

Tabla A.2.11. Datos experimentales de temperatura (°C) de cada reactor.

A.2.4b. Datos de pH

Tabla A.2.12. Datos experimentales de pH de cada reactor.

A.2.4c. Datos de conductividad eléctrica

Tabla A.2.13. Datos experimentales de conductividad eléctrica (mS/cm) de cada reactor.

A.2.4d. Datos de potencial redox (pOR)

Tabla A.2.14. Datos experimentales de potencial redox (mV) de cada reactor.

Todos ellos se encuentran en un disco compacto y una unidad tipo *USB* disponibles con la tesis en papel en la Minibiblioteca de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAyQA, del Departamento de Ingeniería Química ubicados en el Edificio E-3 de Alimentos y Química Ambiental del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.

A.2.5. Datos de remoción de contaminantes

En esta sección se muestran los datos experimentales correspondientes a la remoción de contaminantes: materia orgánica medida, nitrógeno amoniacal, nitratos, nitritos y sulfatos.

A.2.5a. Datos de remoción de contaminantes: Demanda química de oxígeno

Tabla A.2.15. Datos experimentales de remoción de materia orgánica medida como DQO (%)

Remoción de materia orgánica							
Fecha	Días	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
19/08/2022	36	89.3	85.9	75.6	92.8	85.9	79.0
29/08/2022	46	81.1	89.2	42.5	90.7	86.9	98.5
31/08/2022	48	47.7	68.9	68.9	75.9	77.5	94.7
07/09/2022	55	78.9	87.9	87.9	84.7	81.5	78.9
12/09/2022	60	66.6	73.9	55.0	69.8	66.5	59.9
14/09/2022	62	70.3	88.9	81.5	73.2	75.5	54.6
19/08/2022	67	72.3	36.6	90.6	81.9	38.5	72.3
26/09/2022	74	76.6	65.7	69.3	98.5	67.5	67.5
28/09/2022	76	33.4	61.9	53.0	38.3	60.9	41.3
03/10/2022	81	12.0	36.1	30.1	54.2	20.1	8.0
05/10/2022	83	54.9	67.9	67.9	63.1	54.9	48.7
10/10/2022	88	80.6	88.4	96.2	78.2	87.6	72.8
12/10/2022	90	15.4	42.4	48.8	9.0	30.8	18.0
17/10/2022	95	51.1	65.8	74.1	57.4	42.8	27.1
19/10/2022	97	57.4	71.1	75.1	71.1	63.0	53.3
24/10/2022	102	98.9	99.6	97.7	99.1	99.3	99.2
26/10/2022	104	78.2	80.2	89.5	79.6	76.3	78.9
31/10/2022	109	77.0	91.7	90.9	80.1	87.1	79.4
07/11/2022	116	82.8	83.2	68.8	78.0	72.8	89.0
11/11/2022	120	84.2	90.4	92.0	85.4	90.3	71.9
14/11/2022	123	75.2	93.3	82.6	73.5	75.4	90.1
30/11/2022	139	76.3	87.8	89.3	78.2	86.7	84.3
02/12/2022	141	63.1	75.7	80.2	73.6	78.7	71.6
07/12/2022	146	66.9	80.1	86.8	67.5	75.6	67.3
04/01/2023	174	57.3	92.0	90.1	63.5	92.4	63.0
09/01/2023	179	58.1	90.8	92.5	76.8	56.0	58.9
11/01/2023	181	70.4	97.5	95.0	90.8	71.2	62.8
16/01/2023	186	88.7	91.9	89.8	70.3	63.7	85.6
18/01/2023	188	42.1	81.1	91.4	48.5	72.3	64.0

Remoción de materia orgánica							
Fecha	Días	100 Ω	1 kΩ	5 kΩ	10 kΩ	20 kΩ	CA
23/01/2023	193	63.2	91.0	83.3	92.8	81.0	51.9
25/01/2023	195	56.8	98.4	84.8	89.5	79.3	46.6
30/01/2023	200	55.3	91.9	94.3	84.2	91.9	91.4
01/02/2023	202	54.1	76.7	91.9	82.4	74.2	41.8

A.2.5b. Datos de remoción de contaminantes Nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos

Nitrógeno amoniacal

Tabla A.2.16. Datos experimentales de remoción de nitrógeno amoniacal (%)

Fecha	Días	Remoción de nitrógeno amoniacal					
		100 Ω	1 kΩ	5 kΩ	10 kΩ	20 kΩ	CA
01/09/2022	49	23.5	23.5	29.4	23.5	35.3	41.2
06/09/2022	54	7.2	-0.5	15.0	7.2	15.0	7.2
08/09/2022	56	27.3	27.3	36.4	36.4	45.5	0.0
13/09/2022	61	32.8	4.8	23.8	10.8	5.9	19.3
21/09/2022	69	28.0	12.0	4.0	0.0	68.0	80.0
04/10/2022	82	29.4	5.9	5.9	29.4	17.6	0.0
06/10/2022	84	33.0	16.2	24.6	24.6	66.5	15.7
11/10/2022	89	45.5	36.4	54.5	45.5	0.0	27.3
13/10/2022	91	11.1	11.1	0.0	22.2	0.0	11.1
18/10/2022	96	30.0	60.0	90.0	10.0	0.0	0.0
20/10/2022	98	19.0	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5
25/10/2022	103	30.0	30.0	30.0	35.0	30.0	20.0
27/10/2022	105	46.2	38.5	30.8	30.8	23.1	30.8
01/11/2022	110	57.9	15.8	31.6	36.8	26.3	42.1
02/11/2022	111	37.5	31.3	31.3	43.8	25.0	18.8
11/11/2022	120	57.1	57.1	42.9	57.1	0.0	28.6
15/11/2022	121	57.1	57.1	28.6	71.4	42.9	28.6
02/12/2022	141	62.5	37.5	37.5	37.5	37.5	31.3
06/12/2022	145	31.3	6.3	18.8	25.0	18.8	12.5
08/12/2022	147	55.6	5.6	27.8	44.4	22.2	27.8
13/12/2022	152	55.6	5.6	27.8	44.4	22.2	27.8
14/12/2022	153	53.3	53.3	13.3	46.7	60.0	40.0
16/12/2022	155	35.7	35.7	35.7	28.6	21.4	21.4
09/01/2023	179	50.0	20.0	40.0	20.0	40.0	20.0
12/01/2023	182	91.7	75.0	75.0	66.7	66.7	66.7
13/01/2023	183	53.8	38.5	23.1	46.2	7.7	38.5
18/01/2023	188	20.0	20.0	0.0	20.0	10.0	0.0
24/01/2023	194	75.0	33.3	25.0	25.0	33.3	16.7
27/01/2023	197	58.3	33.3	25.0	33.3	33.3	41.7
01/02/2023	202	37.5	37.5	12.5	37.5	50.0	0.0
03/02/2023	204	27.3	27.3	27.3	27.3	36.4	18.2

Nitratos

Tabla A.2.17. Datos experimentales de remoción de nitratos (%)

Fecha	Días	Remoción de nitratos					
		100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
29/08/2022	46	79.0	49.4	89.2	70.5	80.2	44.0
31/08/2022	48	75.5	78.6	78.1	78.1	73.4	77.8
05/09/2022	53	61.7	78.8	82.8	84.6	59.0	82.3
07/09/2022	55	81.8	85.7	86.1	82.3	84.0	83.8
12/09/2022	60	71.5	84.4	84.2	85.8	77.3	83.0
21/09/2022	69	95.1	94.7	94.4	87.6	80.7	87.8
03/10/2022	81	89.3	90.1	88.7	89.9	86.1	88.6
05/10/2022	83	83.2	82.5	80.5	81.6	80.1	81.2
10/10/2022	88	77.2	78.4	80.4	81.0	77.4	79.6
12/10/2022	90	80.1	85.7	83.0	84.2	77.1	87.3
17/10/2022	95	80.8	76.6	83.0	89.2	88.1	68.1
19/10/2022	97	79.7	85.2	85.7	83.9	84.1	78.2
24/10/2022	102	81.9	91.3	88.1	84.0	84.2	84.4
26/10/2022	104	84.5	87.4	88.2	84.3	85.3	85.5
31/10/2022	109	78.9	89.5	91.6	83.5	81.8	84.1
02/11/2022	111	85.3	89.0	95.2	85.7	85.7	85.1
09/11/2022	118	82.7	89.6	91.2	86.7	86.5	84.2
14/11/2022	123	52.6	75.2	89.4	86.2	82.4	80.9
30/11/2022	139	86.0	95.4	93.4	91.5	95.6	88.4
02/12/2022	141	81.2	95.3	86.8	80.7	90.6	83.9
07/12/2022	146	77.5	84.3	86.3	80.4	86.5	90.9
09/12/2022	148	79.0	97.9	96.0	90.3	90.9	87.6
14/12/2022	153	85.4	93.6	91.0	85.6	90.8	91.7
06/01/2023	176	81.0	91.1	85.1	79.0	87.7	80.8
11/01/2023	181	81.1	87.6	83.9	82.7	83.0	80.0
13/01/2023	183	82.5	92.9	86.7	85.9	84.0	79.6
18/01/2023	188	70.5	88.8	87.3	81.4	82.6	80.4
20/01/2023	190	60.9	85.8	81.0	78.8	76.4	76.5
25/01/2023	195	79.2	91.8	87.0	83.0	87.3	84.8
27/01/2023	197	83.1	94.1	91.0	87.2	89.5	84.7
01/02/2023	202	82.9	91.1	90.3	86.3	69.7	84.3
03/02/2023	204	77.9	86.0	90.5	86.1	88.1	82.5

Nitritos

Tabla A.2.18. Datos experimentales de las concentraciones de nitritos (mg/L)

Concentración de nitritos en los efluentes y en el influente								
Fecha	Días	100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA	Influente
24/08/2022	41	0.034	0.041	0.075	0.048	0.060	0.104	0.078
30/08/2022	47	0.069	0.073	0.245	0.084	0.072	0.040	0.018
31/08/2022	48	0.135	0.086	0.093	0.098	0.113	0.082	0.015
05/09/2022	53	0.512	0.057	0.052	0.313	1.023	0.063	0.049
07/09/2022	55	0.083	0.072	0.079	0.072	0.062	0.065	0.002
12/09/2022	60	0.113	0.065	0.057	0.071	0.076	0.063	0.006
21/09/2022	69	0.012	0.010	0.008	0.036	0.049	0.032	0.072
03/10/2022	81	0.082	0.076	0.084	0.134	0.124	0.098	0.074
05/10/2022	83	0.078	0.075	0.072	0.097	0.094	0.090	0.045
10/10/2022	88	0.520	0.590	0.472	0.085	0.096	0.092	1.247
12/10/2022	90	0.075	0.051	0.055	0.099	0.076	0.066	0.445
17/10/2022	95	0.632	0.417	1.263	0.451	0.032	2.286	0.009
19/10/2022	97	0.073	0.045	0.052	0.066	0.074	0.066	0.040
24/10/2022	102	0.252	0.031	1.439	0.151	0.036	0.032	0.066
26/10/2022	104	0.119	0.060	0.059	0.073	0.047	0.044	0.011
31/10/2022	109	0.089	0.025	0.034	0.053	0.054	0.051	0.029
02/11/2022	111	0.235	0.357	0.114	0.095	0.379	0.487	0.491
09/11/2022	118	0.113	0.179	0.571	0.054	0.067	0.083	0.011
14/11/2022	123	0.355	1.062	0.194	0.299	0.169	0.083	0.057
30/11/2022	139	0.111	0.296	1.075	0.061	0.034	0.055	0.042
02/12/2022	141	0.077	0.047	1.788	0.074	0.031	0.098	0.036
07/12/2022	146	0.045	2.208	1.838	0.122	0.205	0.327	0.017
09/12/2022	148	0.091	0.178	0.035	0.045	0.044	0.035	0.072
14/12/2022	153	0.097	0.267	0.432	0.292	0.144	0.044	0.014
06/01/2023	176	0.064	0.070	0.236	0.115	0.055	0.040	0.018
11/01/2023	181	0.116	0.444	0.960	0.261	0.233	0.441	0.057
13/01/2023	183	0.047	0.051	0.117	0.091	0.215	0.177	0.065
18/01/2023	188	0.123	0.381	0.518	0.320	0.217	0.087	0.048
20/01/2023	190	0.217	0.054	0.116	0.072	0.080	0.057	0.139
25/01/2023	195	0.307	0.222	0.593	0.875	0.353	0.079	0.097
27/01/2023	197	0.090	0.048	0.625	0.032	0.015	0.023	0.005
01/02/2023	202	0.126	0.395	0.268	0.479	0.834	0.041	0.011
03/02/2023	203	0.119	0.091	0.047	0.117	0.051	0.054	0.162

A.2.5c. Datos de remoción de contaminantes: Sulfatos

Tabla A.2.19. Datos experimentales de remoción de sulfatos (%)

Fecha	Días	Remoción de sulfatos					
		100 Ω	1 k Ω	5 k Ω	10 k Ω	20 k Ω	CA
24/08/2022	41	28.8	40.8	29.3	47.5	9.1	24.0
29/08/2022	46	20.4	32.5	16.8	15.9	32.3	20.8
31/08/2022	48	3.1	11.3	18.3	6.8	-12.4	-0.5
05/09/2022	53	15.1	46.8	53.6	28.1	40.8	27.3
07/09/2022	55	4.3	43.0	54.5	25.9	34.6	17.9
12/09/2022	60	-24.0	59.1	61.4	31.6	46.1	41.8
14/09/2022	62	-33.8	44.8	71.6	17.2	26.4	12.7
21/09/2022	69	65.7	100.0	90.6	88.6	65.8	84.4
26/09/2022	74	33.8	50.9	42.8	47.4	31.8	45.6
28/09/2022	76	15.8	27.9	61.7	63.0	27.9	53.5
03/10/2022	81	-25.7	10.5	14.5	21.4	-13.1	-7.1
05/10/2022	83	31.9	40.6	46.1	44.7	31.5	42.0
10/10/2022	88	18.0	35.5	37.4	38.6	27.3	33.3
12/10/2022	90	27.1	47.6	43.4	33.0	26.9	41.5
17/10/2022	95	36.5	58.8	61.1	61.8	46.6	50.1
19/10/2022	97	36.9	56.5	47.4	60.2	48.5	59.4
24/10/2022	102	9.4	40.3	24.7	45.1	39.6	38.9
26/10/2022	104	11.8	53.0	44.9	52.0	42.9	44.1
31/10/2022	109	0.5	45.0	51.3	42.8	32.5	34.5
02/11/2022	111	29.0	48.0	62.1	43.8	34.4	40.9
09/11/2022	118	13.7	64.9	72.3	55.4	49.7	45.3
14/11/2022	123	-18.7	42.2	47.5	41.8	31.8	17.5
30/11/2022	139	12.0	54.8	28.6	59.0	44.8	50.1
02/12/2022	141	14.9	46.4	52.9	36.2	37.8	41.4
07/12/2022	146	5.3	39.2	43.4	41.9	36.7	36.7
09/12/2022	148	-7.9	37.4	38.4	41.9	36.8	26.4
14/12/2022	153	22.6	44.4	42.2	43.1	32.0	47.7
06/01/2023	176	34.1	40.5	18.6	43.3	16.5	52.4
11/01/2023	181	27.1	28.2	29.7	36.1	17.3	29.9
16/01/2023	186	39.1	38.4	31.6	45.0	35.0	49.9
18/01/2023	188	23.3	35.3	25.3	26.4	31.0	46.0
20/01/2023	190	-40.3	42.3	41.3	36.2	22.0	42.0
25/01/2023	195	15.4	36.8	29.1	31.3	37.2	39.0
27/01/2023	197	6.7	42.3	35.2	32.9	33.2	43.5
01/02/2023	202	15.1	37.4	30.1	42.3	28.7	46.9
03/02/2023	203	11.0	-7.6	33.0	45.1	22.0	54.5

A.2.6. Datos sobre la vitalidad de las plantas

Con estos datos obtenidos a lo largo de la etapa de experimentación se puede observar el desarrollo de las plantas durante la investigación. Cabe mencionar que la mayoría de las plantas (a excepción de las de los reactores de 20 kΩ y en CA) tuvieron un desarrollo positivo lo que significa que resistieron principalmente a los cambios de temperatura debido a las diferentes estaciones (verano, otoño e invierno) en las que operaron. Esto indica que la especie vegetal (*Phragmites australis*) seleccionada es apropiada para la mayor parte de este tipo de sistemas.

Tabla A.2.20. Crecimiento de las plantas (cm), P: planta

Reactores		100 Ω			1 kΩ			5 kΩ					10 kΩ			20 kΩ	CA	
Fecha	Días	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P1	P1
19/09/2022	68	47	26	-	35	19	22	61	38	22	18	12	74	66	59	-	-	-
06/10/2022	84	55	35	-	43	24	28	68	45	27	22	16	82	75	66	-	35	-
26/10/2022	104	65	46	-	51	30	36	77	56	32	28	21	95	83	74	-	Seca	4
09/11/2022	118	73	52	-	57	35	41	80	60	37	31	24	102	88	80	-	Seca	10
23/11/2022	132	78	57	-	63	37.6	46	84	66	42	35	27	105	92	85	-	Seca	15
06/12/2022	145	80	60	-	75	53	49	85	77	42	40	35	106	96	92	-	Seca	19
20/12/2022	160	82	67	-	79	65	52	93	80	45	42	38	106	97	92	-	2	0
30/12/2022	169	83	70	2	81	69	53	97	82	46	44	40	107	97	93	-	5	0
10/01/2023	180	85	75.5	5	84	74	55	101	85	47	45	41	107	97	96	7	10	1
18/01/2023	188	89	78	6	84	78	56	111	87	48	48	44	113	104	98	10	10	3
25/01/2023	195	94	81	6	84	78	58	111	87	53	48	46	115	107	99	18	12	4
31/01/2023	201	100	81	9	87	78	58	116	94	53	48	46	119	107	99	23	Seca	Seca

En esta tabla el guión significa que no existía planta en ese momento, pero en las fechas posteriores brotaron nuevas plantas.

Tabla A.2.21. Número de hojas de las plantas, P: planta

Reactores		100 Ω			1 kΩ			5 kΩ					10 kΩ			20 kΩ	CA	
Fecha	Días	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P1	P1
19/09/2022	68	6	4	-	8	6	4	4	7	3	2	2	6	4	2	-	4	-
06/10/2022	84	6	5	-	9	6	4	4	8	3	2	2	7	5	2	-	4	2
26/10/2022	104	7	5	-	9	6	4	5	8	3	2	2	7	5	3	-	-	2
09/11/2022	118	7	5	-	9	6	4	5	8	4	2	2	7	5	3	-	-	2
23/11/2022	132	7	6	-	9	7	5	6	9	4	2	2	8	6	3	-	-	3
06/12/2022	145	8	6	-	10	7	5	6	9	4	2	2	8	6	4	-	-	3
21/12/2022	160	8	6	-	10	7	5	6	9	4	2	2	8	6	4	-	-	-

Reactores		100 Ω			1 k Ω			5 k Ω					10 k Ω			20 k Ω		CA
Fecha	Días	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P1	P1
30/12/2022	169	8	6	-	10	7	6	6	9	4	2	2	8	6	4	-	2	-
10/01/2023	180	9	7	1	11	8	6	7	10	5	2	3	10	7	4	-	2	-
18/01/2023	188	9	7	2	11	8	6	7	10	5	3	3	10	7	5	1	2	2
25/01/2023	195	9	7	2	11	8	7	9	10	5	3	3	10	8	5	1	2	2
31/01/2023	201	9	7	2	11	8	7	9	10	5	3	3	11	8	5	4	3	3

En esta tabla se puede observar que algunas plantas presentan un guión el cual significa que no existía planta en ese momento, pero posterior a esas fechas brotaron nuevas.

A.2.7. Datos de microorganismos

Para evaluar los estimadores de diversidad y riqueza (índices de diversidad de Shanon y de riqueza de Simpson) se construyeron las gráficas de abundancia relativa y se calcularon con el programa phyloseq dentro de un entorno RStudio con la función “estimate_richness” (Ramos-Perez et al., 2022).

Para realizar las gráficas de clasificación taxonómica se utilizaron cuatro archivos que cuentan con 1386 datos derivados del análisis de secuenciación: **A.2.5. OTU Table**, en formato denominado .txt, **A.2.5. Sample metadata**, en .tsv, **A.2.5. Taxonomy**, en .tsv, **A.2.5. Tree**, en .nwk, los cuales fueron procesados por medio del software R.

Todos ellos se encuentran en un disco compacto y una unidad tipo *USB* disponibles con la tesis en papel en la Minibiblioteca de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAyQA, del Departamento de Ingeniería Química ubicados en el Edificio E-3 de Alimentos y Química Ambiental del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.

ANEXO 3

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

En este anexo se muestran los análisis de varianza y de diferencias mínimas significativas, de los parámetros eléctricos y de calidad de agua.

A.3.1. Potencial de los electrodos y voltaje de la celda

Tabla A.3.1. Análisis de varianza de los potenciales de ánodo entre reactores a partir de que se conectaron las resistencias eléctricas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	61945	12389	9.348	1.38e-08 ***
Residuals	594	787268	1325		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, *andeva* (*ANOVA* en inglés) descompone la variabilidad de los potenciales del ánodo en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F, que en este caso es igual a 9.348, es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias del potencial del ánodo a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.2. Diferencia mínima significativa de los valores del potencial del ánodo entre reactores

\$Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	24.90	10.180122	39.619878	0.0000248
1000-0	6.00	-8.719878	20.719878	0.8531386
5000-0	12.52	-2.199878	27.239878	0.1470183
10000-0	22.56	7.840122	37.279878	0.0002012
20000-0	-1.02	-15.739878	13.699878	0.9999579
1000-100	-18.90	-33.619878	-4.180122	0.0035722
5000-100	-12.38	-27.099878	2.339878	0.1562335
10000-100	-2.34	-17.059878	12.379878	0.9975638
20000-100	-25.92	-40.639878	-11.200122	0.0000094
5000-1000	6.52	-8.199878	21.239878	0.8032415
10000-1000	16.56	1.840122	31.279878	0.0171315
20000-1000	-7.02	-21.739878	7.699878	0.7488800
10000-5000	10.04	-4.679878	24.759878	0.3727054
20000-5000	-13.54	-28.259878	1.179878	0.0917329
20000-10000	-23.58	-38.299878	-8.860122	0.0000828

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar qué grupos difieren significativamente entre sí mediante la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede observar que los pares de potencial de ánodo correspondiente a las resistencias de 100-CA, 10000-CA, 1000-100, 20000-100, 10000-1000 y 20000-10000 fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias debido a que el valor p se encuentra por debajo de 0.05.

Tabla A.3.3. Análisis de varianza de los potenciales de cátodo entre los seis reactores a partir del día en que se elevó el cátodo

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	407467	81493	2.337	0.041 *
Residuals	480	16736615	34868		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (*ANOVA* en inglés) descompone la variabilidad de los potenciales del cátodo en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F, que en este caso es igual a 2.337, es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Como el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las

medias del potencial del cátodo a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.4. Diferencia mínima significativa de los valores del potencial del cátodo entre reactores

\$Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	-82.840741	-166.79535	1.113867	0.0555177
1000-0	-19.435802	-103.39041	64.518805	0.9858777
5000-0	-17.927160	-101.88177	66.027447	0.9902289
10000-0	-62.606173	-146.56078	21.348434	0.2717080
20000-0	-53.286420	-137.24103	30.668188	0.4563152
1000-100	63.404938	-20.54967	147.359546	0.2582228
5000-100	64.913580	-19.04103	148.868188	0.2339106
10000-100	20.234568	-63.72004	104.189175	0.9830688
20000-100	29.554321	-54.40029	113.508928	0.9154717
5000-1000	1.508642	-82.44597	85.463249	0.9999999
10000-1000	-43.170370	-127.12498	40.784237	0.6828079
20000-1000	-33.850617	-117.80522	50.103990	0.8583869
10000-5000	-44.679012	-128.63362	39.275595	0.6497667
20000-5000	-35.359259	-119.31387	48.595348	0.8343568
20000-10000	9.319753	-74.63485	93.274360	0.9995688

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar que grupos difieren significativamente entre sí mediante la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede observar que los pares de potencial de cátodo correspondiente a las resistencias de 100-CA, fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias con un 95 % de confianza.

A.3.2. Parámetros fisicoquímicos del agua en los reactores

Tabla A.3.5. Análisis de varianza de las temperaturas entre cada reactor y entre muestras tomadas a diferentes alturas de cada reactor

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	41	8.27	1.024	0.402
Profundidad	2	199	99.68	12.334	4.79e-06 ***
Resistencia:Profundidad	10	35	3.47	0.429	0.933
Residuals	1800	14548	8.08		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza multifactorial (*MANOVA* en inglés) analiza simultáneamente múltiples variables dependientes continuas en función de una o más variables independientes.

En este caso analiza el efecto de la resistencia y la profundidad en los valores de temperatura. El valor F que en este caso es igual a 8.27 para la resistencia y de 12.33 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la temperatura a diferentes profundidades con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales. Sin embargo a diferentes resistencias externas no se observan diferencias significativas por lo que se acepta la hipótesis nula.

Tabla A.3.6. Análisis de varianza multifactorial de los valores de pH

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	8.8	1.7522	7.009	1.7e-06 ***
Profundidad	2	0.4	0.2008	0.803	0.448
Resistencia:Profundidad	10	0.1	0.0057	0.023	1.000
Residuals	1800	450.0	0.2500		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza multifactorial (*MANOVA* en inglés) analiza simultáneamente múltiples variables dependientes continuas en función de una o más variables independientes. En este caso analiza el efecto de la resistencia y la profundidad en los valores de pH. El valor F que en este caso es igual a 7 para la resistencia y de 0.80 para la profundidad es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de pH a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales. Sin embargo a diferentes profundidades no se observan diferencias significativas por lo que se acepta la hipótesis nula.

Tabla A.3.7. Análisis de varianza multifactorial para los valores de conductividad eléctrica

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	0.674	0.13475	7.482	5.89e-07 ***
Profundidad	2	0.156	0.07810	4.336	0.0132 *
Resistencia:Profundidad	10	0.026	0.00263	0.146	0.9990

```

Residuals          1692 30.472 0.01801
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

La tabla de análisis de varianza multifactorial (*MANOVA* en inglés) analiza simultáneamente múltiples variables dependientes continuas en función de una o más variables independientes. En este caso analiza el efecto de la resistencia y la profundidad en los valores de conductividad eléctrica. El valor F que en este caso es igual a 7.482 para la resistencia y de 4.336 para la profundidad es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05 para ambos factores, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la conductividad eléctrica a diferentes resistencias externas y a diferentes profundidades con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.8. Análisis de varianza de pOR entre cada reactor y entre muestras tomadas a diferentes alturas de cada reactor

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	186974	37395	2.419	0.0340 *
Profundidad	2	126996	63498	4.107	0.0166 *
Resistencia:Profundidad	10	2293	229	0.015	1.0000
Residuals	1434	22169184	15460		

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

La tabla de análisis de varianza multifactorial (*MANOVA* en inglés) analiza simultáneamente múltiples variables dependientes continuas en función de una o más variables independientes. En este caso analiza el efecto de la resistencia y la profundidad en los valores de potencial redox. El valor F que en este caso es igual a 2.419 para las resistencia y de 4.107 para la profundidad es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias del potencial redox a diferentes resistencias externas ya diferentes profundidades con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

A.3.3. Remoción de contaminantes

Tabla A.3.9. Análisis de varianza de la remoción de materia orgánica medida como DQO, entre reactores

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Resistencia	5	8979	1795.9	4.734	0.000422	***
Residuals	192	72832	379.3			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés), descompone la variabilidad de la DQO en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 4.734 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de DQO a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.10. Diferencia mínima significativa de los valores de la remoción de materia orgánica medida como DQO, entre reactores

\$Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	3.145455	-10.6573537	16.948263	0.9863718
1000-0	17.924242	4.1214342	31.727051	0.0032946
5000-0	17.424242	3.6214342	31.227051	0.0047600
10000-0	12.733333	-1.0694749	26.536142	0.0892451
20000-0	10.051515	-3.7512931	23.854323	0.2935814
1000-100	14.778788	0.9759796	28.581596	0.0280889
5000-100	14.278788	0.4759796	28.081596	0.0379533
10000-100	9.587879	-4.2149295	23.390687	0.3463467
20000-100	6.906061	-6.8967477	20.708869	0.7023377
5000-1000	-0.500000	-14.3028083	13.302808	0.9999983
10000-1000	-5.190909	-18.9937174	8.611899	0.8878283
20000-1000	-7.872727	-21.6755355	5.930081	0.5718604
10000-5000	-4.690909	-18.4937174	9.111899	0.9243450
20000-5000	-7.372727	-21.1755355	6.430081	0.6403995
20000-10000	-2.681818	-16.4846265	11.120990	0.9934472

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar qué grupos difieren significativamente entre sí en la remoción de materia orgánica medida como DQO por medio de la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede

observar que los pares de los reactores correspondiente a las resistencias de 1000-CA, 5000-CA, 1000-100 y 5000-100 fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias debido a que el valor p se encuentra por debajo de 0.05.

Tabla A.3.11. Análisis de varianza de las concentraciones de nitrógeno amoniacal entre reactores

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	1613	322.6	1.467	0.202
Residuals	186	40895	219.9		

La tabla de análisis de varianza, andeva (*ANOVA* en inglés), descompone la variabilidad de los datos de nitrógeno amoniacal en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 1.47 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es mayor que 0.05, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias del nitrógeno amoniacal a diferentes resistencias externas. Se acepta la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.12. Análisis de varianza de la concentración de nitratos entre reactores

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	16.42	3.283	7.035	4.8e-06 ***
Residuals	186	86.82	0.467		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (*ANOVA* en inglés), descompone la variabilidad de los nitratos en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 7.035 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de nitratos a

diferente resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.13. Diferencia mínima significativa de la concentración de nitratos, entre reactores

Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	0.3078125	-0.18403739	0.799662393	0.4668814
1000-0	-0.4825000	-0.97434989	0.009349893	0.0579307
5000-0	-0.5606250	-1.05247489	-0.068775107	0.0153470
10000-0	-0.2062500	-0.69809989	0.285599893	0.8327710
20000-0	-0.1037500	-0.59559989	0.388099893	0.9903999
1000-100	-0.7903125	-1.28216239	-0.298462607	0.0001005
5000-100	-0.8684375	-1.36028739	-0.376587607	0.0000132
10000-100	-0.5140625	-1.00591239	-0.022212607	0.0347839
20000-100	-0.4115625	-0.90341239	0.080287393	0.1582571
5000-1000	-0.0781250	-0.56997489	0.413724893	0.9974592
10000-1000	0.2762500	-0.21559989	0.768099893	0.5881371
20000-1000	0.3787500	-0.11309989	0.870599893	0.2347177
10000-5000	0.3543750	-0.13747489	0.846224893	0.3050757
20000-5000	0.4568750	-0.03497489	0.948724893	0.0852432
20000-10000	0.1025000	-0.38934989	0.594349893	0.9909201

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar qué grupos difieren significativamente entre sí en la concentración de nitratos por medio de la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede observar que los pares de los reactores correspondiente a las resistencias de 1000-CA, 5000-CA, 1000-100, 5000-100 y 10000-100 fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias debido a que el valor p se encuentra por debajo de 0.05.

Tabla A.3.14. Análisis de varianza de las concentraciones de nitritos entre reactores

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	1.727	0.3453	2.955	0.0136 *
Residuals	192	22.437	0.1169		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés), descompone la variabilidad de los nitritos en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 2.955 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor

que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de nitritos a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.15. Diferencia mínima significativa de la concentración de nitritos, entre reactores

\$Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	-8.303030e-03	-0.250566493	0.23396043	0.9999987
1000-0	7.996970e-02	-0.162293766	0.32223316	0.9326969
5000-0	2.479091e-01	0.005645628	0.49017255	0.0415504
10000-0	-4.545455e-03	-0.246808917	0.23771801	0.9999999
20000-0	-8.212121e-03	-0.250475584	0.23405134	0.9999987
1000-100	8.827273e-02	-0.153990735	0.33053619	0.9005865
5000-100	2.562121e-01	0.013948659	0.49847558	0.0313690
10000-100	3.757576e-03	-0.238505887	0.24602104	1.0000000
20000-100	9.090909e-05	-0.242172553	0.24235437	1.0000000
5000-1000	1.679394e-01	-0.074324069	0.41020286	0.3486839
10000-1000	-8.451515e-02	-0.326778614	0.15774831	0.9160820
20000-1000	-8.818182e-02	-0.330445281	0.15408164	0.9009803
10000-5000	-2.524545e-01	-0.494718008	-0.01019108	0.0356702
20000-5000	-2.561212e-01	-0.498384675	-0.01385775	0.0314675
20000-10000	-3.666667e-03	-0.245930129	0.23859680	1.0000000

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar qué grupos difieren significativamente entre sí en la concentración de nitritos por medio de la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede observar que los pares de los reactores correspondiente a las resistencias de 5000-CA, 5000-100, 10000-5000 y 20000-5000 fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias debido a que el valor p se encuentra por debajo de 0.05.

Tabla A.3.16. Análisis de varianza de la concentración de sulfatos entre cada uno de los reactores a partir de la conexión de las resistencias eléctricas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	5	24.65	4.930	3.667	0.00334 **
Residuals	210	282.33	1.344		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés), descompone la variabilidad de sulfatos en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 3.667 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las diferencias entre las

medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de sulfatos a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

Tabla A.3.17. Diferencia mínima significativa de la concentración de sulfatos, entre reactores

\$Resistencia	diff	lwr	upr	p adj
100-0	0.34388889	-0.44216865	1.12994642	0.8071818
1000-0	-0.34777778	-1.13383531	0.43827976	0.7996739
5000-0	-0.42861111	-1.21466865	0.35744642	0.6203310
10000-0	-0.22500000	-1.01105754	0.56105754	0.9629687
20000-0	0.46611111	-0.31994642	1.25216865	0.5296813
1000-100	-0.69166667	-1.47772420	0.09439087	0.1199224
5000-100	-0.77250000	-1.55855754	0.01355754	0.0571749
10000-100	-0.56888889	-1.35494642	0.21716865	0.3009473
20000-100	0.12222222	-0.66383531	0.90827976	0.9977224
5000-1000	-0.08083333	-0.86689087	0.70522420	0.9996930
10000-1000	0.12277778	-0.66327976	0.90883531	0.9976726
20000-1000	0.81388889	0.02783135	1.59994642	0.0376451
10000-5000	0.20361111	-0.58244642	0.98966865	0.9759808
20000-5000	0.89472222	0.10866469	1.68077976	0.0155022
20000-10000	0.69111111	-0.09494642	1.47716865	0.1204913

La prueba de Tuckey se utilizó para determinar qué grupos difieren significativamente entre sí en la concentración de sulfatos por medio de la identificación de los pares de grupos cuyas medias sean significativamente diferentes. En este caso se puede observar que los pares de los reactores correspondiente a las resistencias de 5000-100, 20000-1000 y 20000-5000 fueron los que presentaron diferencias significativas entre sus medias debido a que el valor p se encuentra por debajo de 0.05.

Tabla A.3.18. Análisis de varianza del crecimiento de la planta entre cada uno de los reactores

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Resistencia	3	156.8	52.26	44.32	< 2e-16 ***
Residuals	148	174.5	1.18		

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

La tabla de análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés), descompone la variabilidad de la altura de la planta en contribuciones debidas a la resistencia. El valor F que en este caso es igual a 44.32 es una medida estadística que se utiliza para evaluar la significancia de las

diferencias entre las medias de varios grupos. Si el valor F calculado es mayor que el valor crítico, se considera que hay diferencias significativas entre los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la altura de las plantas a diferentes resistencias externas con un nivel del 95.0% de confianza. Se rechaza la hipótesis nula que sostiene que las medias de los grupos son iguales.

ANEXO 4

ACERVO FOTOGRÁFICO

A.4.1 Crecimiento de las plantas acuáticas



Día 6



Día 15



Día 33



Día 50



Día 64



Día 83



Día 109



Día 120



Día 150



Día 180

Figura A.4.1. Crecimiento de las plantas durante la experimentación

ANEXO 5

DISPOSICIÓN CONTROLADA DE LOS DESECHOS DE ESTA INVESTIGACIÓN

Los residuos obtenidos durante la experimentación fueron dispuestos de forma controlada como sigue:

1. Los que por sus características no se categorizaban como peligrosos de acuerdo con las clasificaciones CRETIB (DOF, 2005), fueron neutralizados en el laboratorio con el fin de que fueran inocuos y pudieran ser desechados de forma controlada en los laboratorios. Los residuos que se neutralizaron y desecharon en el laboratorio fueron:

- a) Residuos de la determinación de concentración de NO_3^-
- b) Residuos de la determinación de concentración de $\text{SO}_4^{=}$

2. Los residuos que por sus características se consideran como peligrosos (DOF, 2005) fueron debidamente etiquetados en recipientes de plástico y fueron enviados a la Unidad de Gestión Ambiental, UGA, de la Facultad de Química para un tratamiento adecuado. Dentro los residuos categorizados en esta sección fueron:

- a) Residuos del análisis de materia orgánica medida como DQO
- b) Residuos del análisis de nitrógeno en forma de NO_2^-
- c) Residuos del análisis de nitrógeno en forma de NH_4^+

BIBLIOGRAFÍA

- Agostino, V., Rosenbaum, M.A. 2018. Sulfate-reducing electroautotrophs and their applications in bioelectrochemical systems. *Front. Energy. Res.* 6 (55), 1–10.
- Aelterman, P., Versichele, M., Marzorati, M., Boon, N., Verstraete, W. 2008. Loading rate and external resistance control the electricity generation of microbial fuel cells with different three-dimensional anodes. *Bioresource Technology.* 99: 8895-8902.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.061>.
- Aguilar-Pichardo, M., Galicia-Badillo, D. 2016. Reconocimiento del 2º Lugar en el Programa de Estancias Cortas de Investigación, PECCI, intersemestrales de estudiantes de licenciatura de la carrera de Química. Departamento de Orientación Vocacional e Integración de la Secretaría de Atención a Alumnos de la Facultad de Química de la UNAM. Para la investigación “Producción de energía eléctrica simultánea con la depuración de aguas residuales en celdas de combustible microbianas vegetales” a los alumnos de Química del 7º semestre Monserrat Aguilar Pichardo y del 3º semestre Dazaet Galicia Badillo (bajo la supervisión conjunta del IQ Oscar Hugo Miranda-Méndez, la Cand. Dra. María Guadalupe Salinas-Juárez y la Profa. Dr.-Ing. María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa). Abril 13, 2016. Ciudad de México, México.
- Aguilar-Rangel, E.J., Prado, B.L., Vásquez-Murrieta, M.S., los Santos, P.E., Siebe, C., Falcón, L.I., Alcántara-Hernández, R.J. 2020. Temporal analysis of the microbial communities in a nitrate-contaminated aquifer and the co-occurrence of anammox, n-damo, and nitrous-oxide reducing bacteria. *Journal of Contaminant Hydrology.* 234: 103657.
- André, F.J., Castro, L.M., Cerdá, E. 2012. Las energías renovables en el ámbito internacional. Universidad Complutense de Madrid. P. 26. Madrid, España.
- Bard, A. J., Parsons, R., Jordan, J. 1985. *Standard Potentials in Aqueous Solutions.* Marcel Dekker, New York, EE. UU.
- Bazúa-Rueda, E.R. 2022. Energías renovables, cambio climático y sustentabilidad. Presentada en el Simposio RETOS Y SOLUCIONES PARA EL CAMBIO CLIMÁTICO. DAAD-Instituto Tecnológico de Veracruz, Tecnológico Nacional de México. Noviembre 10-12, 2022. Veracruz, México.

- Borja-Urzola, A.d.C., Hernández-Arriaga, C.M., Miranda-Méndez, O.H., Salinas-Juárez, M.G., Bernal-González, M., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2018. Use of artificial wetlands as degradation systems of recalcitrant contaminants or transformers of energy to electricity. In *Artificial or Constructed Wetlands: A Suitable Technology for Sustainable Water Management*. María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa (Mexico), Amado Enrique Navarro-Frómata (Mexico), Josep María Bayona Termens (Spain), Eds. CRC Press, 1st edition. ISBN-10: 1138739189. ISBN-13: 978-1138739185. Chapter 3. Pp. 50-67. Boca Raton, Florida, U.S. (June 30, 2018).
- Büchi. 2007. Application note K370-006 version B. Determination of ammonia in water and waste water. Austria.
- Büchi. 2015. Application note 191/2015 version B. TKN determination in water and waste water. Austria.
- Büchi. 2016. Application note 252/2016, Selective nitrogen determination methods related to Kjeldahl. Austria.
- Cabrera, L. 2002. *Diccionario de aztequismos. Revisión y puesta en orden*: J. Ignacio Dávila-Garibi. *Términos nahuas*: Luis Reyes-García. *Términos latinos (clasificaciones botánicas y zoológicas)*: Esteban Inciarte. Ed. Colofón, S.A. 5^a edición. ISBN 968-867-038-3. Ciudad de México, México.
- Cai, J., Qaisar, M., Sun, Y. 2020. Effect of external resistance on substrate removal and electricity generation in microbial fuel cell treating sulfide and nitrate simultaneously. *Environmental Science and Pollution Research*. 27: 238-249.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-06960-8>
- Calheiros, C.S.C., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L. 2009. Treatment of industrial wastewater with two-stage constructed wetlands planted with *Typha latifolia* and *Phragmites australis*. *Bioresource Technology*. 100(13): 3205-3213.
- Cámara de Diputados. 2016. En México, hay 500 mil viviendas sin electricidad, principalmente en comunidades indígenas y rurales. H. Congreso de la Unión.
<http://www5.diputados.gob.mx/index.php/esl/Comunicación/Boletines/2016/Abril/15/1343-En-Mexico-hay-500-mil-viviendas-sin-electricidad-principalmenteen-comunidades-indigenas-y-rurales.24/05/2017>

- Carrasco-Prieto, V.E. 2022. Distribución de la comunidad de procariontas en una secuencia sedimentaria de un lago kárstico del Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas. Tesis de Licenciatura en Biología. FESZ, UNAM. Ciudad de México, México.
- Castellanos-Z., J., Vargas-T., P. 2009. Los sustratos en horticultura protegida. Manual de producción de tomate en invernadero. Intagri, S.C. Pp. 131-156. Celaya, Guanajuato, México.
- Cercado, B., Cházaro-Ruiz, L.F., Ruiz, V., López-Prieto, I.D.J., Buitrón, G., Razo-Flores, E. 2013. Biotic and abiotic characterization of bioanodes formed on oxidized carbon electrodes as a basis to predict their performance. *Biosensors and Bioelectronics*. 50: 373-381. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.06.051>
- Cercado-Quezada, B., Delia, M.-L., Bergel, A. 2011. Electrochemical micro-structuring of graphite felt electrodes for accelerated formation of electroactive biofilms on microbial anodes. *Electrochemistry Communications*. 13(5): 440-443.
<https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2011.02.015>
- Chang, N., Xuan, Z., Wanielista, M. 2012. A tracer study for assessing the interactions between hydraulic 'retention'⁷ time and transport processes in a wetland system for nutrient removal. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 35(3): 399-406.
- Chen, Z.-J., Tian, Y.-H., Zhang, Y., Song, B.-R., Li, H.-C., Chen, Z.-H. 2016. Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecological Engineering*. 92: 243-250.
- Chen, S., Patil, S. A., Keith, R., Schröder, U. 2019. Strategies for optimizing the power output of microbial fuel cells: Transitioning from fundamental studies to practical implementation. *Applied Energy*. 233-234: 15-28.
- CONAGUA. 2018. Estadísticas del agua en México. Comisión Nacional del Agua. Ciudad de México. México. 303 pp.
- de-Juan, A. 2014. Microbial Fuel Cell – Literature review. 10.13140/2.1.4481.0569.

⁷ En 1981 se realizó un congreso europeo de biotecnólogos donde se definió que el tiempo de permanencia de las fases líquidas en reactores se denominara tiempo de residencia hidráulica, TRH (en inglés *hydraulic residence time*) y que el tiempo de permanencia de las fases sólidas en reactores se llamara tiempo de retención celular, TRC o TRS (*solids or celular retention time*) fueran o no biorreactores. Por ello se entrecorrió este término [Nota de la tutora]

- Demirel, B., Scherer, P. 2008. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 7, 173–190.
- De Wever, H., J.R. Cole, M.R. Fettig, D.A. Hogan and J.M. Tiedje. 2000. Reductive dehalogenation of trichloroacetic acid by *Trichlorobacter thiogenes* gen. nov., sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2297–2301
- DOE. 2013. Fossil energy study guide: Oil. U.S. Department of Energy. Washington, EE.UU.
- DOF. 2001. Norma Mexicana NMX-AA-079-SCFI-2001. Análisis de aguas – Determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas – Método de prueba. Norma Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- DOF. 2005. Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de residuos peligrosos. Norma Mexicana. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- DOF. 2006. Norma Mexicana NMX-AA-099-SCFI-2006. Análisis de agua - Determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales - Método de prueba. Norma Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- DOF. 2009. Diario Oficial (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 – Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal: El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. Diario Oficial de la Federación: Jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.
- DOF. 2010. Norma Mexicana NMX-AA-026-SCFI-2010. Análisis de agua - Medición de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de

- prueba. Norma Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- DOF. 2012. Norma Mexicana NMX-AA-030-1-SCFI-2012. Análisis de agua-Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Norma Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- DOF. 2014. Norma Mexicana NMX-AA-074-SCFI-2014. Análisis de agua – medición del ion sulfato en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba. Norma Mexicana. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C., Bernal-González, M., García-Gómez, R.S., Salinas-Juárez, M.G., Sánchez-Tovar, S.A., Padrón-López, R.M., Navarro-Frómata, A.E. 2022. Humedales, los riñones del planeta. Cómo mantenerlos y/o recuperarlos / *Wetlands, the kidneys of the planet. How to keep and/or recover them*. *Ambiens Techné et Scientia México*. 10(2): 165-185.
- Dyksma, S., Lenk, S., Sawicka, J. E., y Mußmann, M. 2018. Uncultured gammaproteobacteria and desulfobacteraceae account for major acetate assimilation in a coastal marine sediment. *Frontiers in microbiology*, 9, 3124
- Ebrahim, A., Sivakumar, M., McLauchlan, C. 2021. A taxonomy of design factors in constructed wetland-microbial fuel cell performance: A review. *Journal of Environmental Management*. 291: 112723. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112723>.
- Eslamian, S., Okhravi, S., Grismer, M. 2019. An introduction to constructed wetlands. *Constructed wetlands hydraulic design*. CRC Press. 1-10. EE. UU.
- EPA. 2000. Manual: Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. EPA/625/R-99/010, USEPA Office of Research and Development, 154 pp. Cincinnati, EE. UU.
- Fang, Z., Song, H.-L., Cang, N., Li, X.-N. 2013. Performance of microbial fuel cell coupled constructed wetland system for decolorization of azo dye and bioelectricity generation. *Bioresource Technology*. 144: 165-171.
- Flimban, S.G.A., Ismail, I.M.I., Kim, T., Oh, S.-E. 2019. Overview of recent advancements in the microbial fuel cell from fundamentals to applications: Design, major elements, and scalability. *Energies*. 12(17): 3390; <https://doi.org/10.3390/en12173390>.

- Fuerte-Martínez, D. 2022. Efecto del cadmio sobre tejido vegetal: Masa de células no diferenciadas (callos, *Phragmites australis*). Tesis profesional de Química Farmacéutica Biológica. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 25. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2022/agosto/0828814/Index.html>
- González-del-Campo, A., Lobato, J., Cañizares, P., Rodrigo, M.A., Fernandez Morales, F.J. 2013. Short-term effects of temperature and COD in a microbial fuel cell. *Applied Energy*. 101: 213-217.
- González, T., Puigagut, J., Vidal, G. 2021. Organic matter removal and nitrogen transformation by a constructed wetland-microbial fuel cell system with simultaneous bioelectricity generation. *Science of the Total Environment*. 753: 142075. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142075>
- Grael, E., Coronado, V., Pacheco, A. 2009. Origen de los sulfatos en el agua subterránea del sur de la Sierrita de Ticul, Yucatán. *Ingeniería*. 13(1): 49-58.
- Guo, K., Hidalgo, D., Tommasi, T., Rabaey, K. 2016. Pyrolytic carbon-coated stainless steel felt as a high-performance anode for bioelectrochemical systems. *Bioresource Technology*. 211: 664-668.
- Hoffman, H., Platzer, C., Winker, M., von Muench, E. 2011. Revisión Técnica de Humedales Artificiales de Flujo Subsuperficial para el Tratamiento de Aguas Grises. Agencia de Cooperación Internacional de Alemania, GIZ. Pp. 8-15. Eschborn. Alemania.
- Hu, Z., Grasso, D. 2005. Water Analysis. Chemical Oxygen Demand. En *Encyclopedia of Analytical Science*. Elsevier, pp. 325-330. 2ª ed. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123693977006634>
- Huang, Y., He, Z., Kan, J., Manohar, A.K., Nealson, K.H., Mansfeld, F. 2012. Electricity generation from a floating microbial fuel cell. *Bioresource Technology*. 114: 308-313. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.142>
- Idris, S.A., Esat, F.N., Abd Rahim, A.A., Zahin Rizzqi, W.A., Ruzlee, W., Zyaid Razali, W.M. 2016. Electricity generation from the mud by using microbial fuel cell. *MATEC Web of Conferences*, 69, 02001. doi:10.1051/mateconf/20166902001
- IEA. 2019. World Energy Balances: Overview. International Energy Agency, IEA. París, Francia, <https://www.iea.org/reports/world-energy-balances-overview>

- IEA. 2017. Energy Access Outlook 2017. International Energy Agency, IEA. París, Francia, <https://www.iea.org/access2017/>
- IIRC. 2003. Technical and regulatory guidance document for constructed treatment wetlands, The Interstate Technology Regulatory Council Wetlands Team, EE. UU.
- IWA. 2000. Constructed wetlands for pollution control: Processes, performance, design and operation, 156 pp. International Water Association Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control. IWA Publishing, London, R. U.
- Jackson, T. 2009. Prosperity without growth. Economics for a finite planet. Earthscan. London, R. U., New York, EE. UU.
- Jadhav, G.S., Ghangrekar, M.M. 2009. Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource Technology*. 100:717-723.
- Jung, S., Regan, J.M. 2011. Influence of external resistance on electrogenesis, methanogenesis, and anode prokaryotic communities in microbial fuel cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 564-571. <https://doi.org/10.1128/AEM.01392-10>.
- Katuri, K., Scott, K., Head, I., Picioreanu, C., Curtis, T. 2011. Microbial fuel cells meet with external resistance. *Bioresource Technology*. 102(3): 2758-2766. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.14.
- Kim, B., Chang, I., Gadd, G. 2007. Challenges in microbial fuel cell development and operation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76(3): 485-494.
- Kim, H., Kim, B., Yu, J. 2019. Effect of HRT and external resistances on power generation of sidestream microbial fuel cell with CNT-coated SSM anode treating actual fermentation filtrate of municipal sludge. *Science of the Total Environment*. 675: 390-396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.270>
- Kim, S., Chae, K., Choi, M., Verstraete, W. 2008. Microbial fuel cells: Recent advances, bacterial communities and application beyond electricity generation. *Environmental Engineering Research*. 16(4): 51-65. <https://doi.org/10.4491/eer.2008.13.2.05>
- Kloch, M., Toczyłowska-Mamińska, R. 2020. Toward optimization of wood industry wastewater treatment in microbial fuel cells—Mixed wastewaters approach. *Energies*. 13(1): 263. Doi:10.3390/en13010263.

- Koch, C., Harnisch, F. 2016. Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms? *Chem. Electro. Chem.* 3 (9): 1282-1295.
- Köbbing, J.F., Thevs, N., Zerbe, S., Wichtmann, W., Couwenberg, J. 2013. The utilisation of reed (*Phragmites australis*): A review. *Mires and Peat.* 13: 1-14.
- Kumar, R., Singh, L., Zularisam, A.W. 2016. Exoelectrogens: Recent advances in molecular drivers involved in extracellular electron transfer and strategies used to improve it for microbial fuel cell applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 56: 1322-1336.
- Kumar, R., Singh, L., Zularisam, A.W., Hai, F.I. 2018. Microbial fuel cell is emerging as a versatile technology: A review on its possible applications, challenges and strategies to improve the performances. *Int. J. Energy Res.* 42(2): 369-394.
<https://doi.org/10.1002/er.3780>.
- Leblanc, M., Tweed, S., Van Dijk, A., Timbal, B. 2012. A review of historic and future hydrological changes in the Murray-Darling Basin. *Glob. Planet. Change.* 80-81: 226-246.
- Leininger, A., Yates, M. D., Ramirez, M., Kjellerup, B. 2021. Biofilm structure, dynamics, and ecology of an upscaled biocathode wastewater microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioengineering.* 118(3): 1305-1316. Doi: 10.1002/bit.27653.
- Liebensteiner, M.G., Oosterkamp, M.J., Stams, A.J.M., 2016. Microbial respiration with chlorine oxyanions: Diversity and physiological and biochemical properties of chlorate- and perchlorate-reducing microorganisms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1365, 59–72.
- Liu, L.N., Bryan, S.J., Huang, F., Yu, J., Nixon, P.J., Rich, P.R., Mullineaux, C.W. 2012. Control of electron transport routes through redox-regulated redistribution of respiratory complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 109(28):11431-11436.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1120960109>.
- Liu, M., Wu, S., Chen, L., Dong, R. 2014a. How substrate influences nitrogen transformations in tidal flow constructed wetlands treating high ammonium wastewater? *Ecological Engineering.* 73: 478-486.
- Liu, X.-W., Li, W.-W., Yu, H.-Q. 2014b. Cathodic catalysts in bioelectrochemical systems for energy recovery from wastewater. *Chem. Soc. Rev.* 43(22): 7718-7745.
- Logan, B. 2008. *Microbial fuel cells.* John Wiley and Sons. United States.
- Logan, B. 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology.* 7(5): 375-381. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2113>

- Logan, B., Rossi, R., Ragab, A., Saikaly, P. 2019. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nature Reviews Microbiology*. 17(5): 307-319. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0173-x>
- Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Rabaey, K. 2006. Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environmental Science and Technology*. 40(17): 5181-5192.
- Lovley, D.R., 2008. Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more. *Geobiology* 6, 225–231.
- Lozupone, C., Knight, R. 2005. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 71:8228-8235.
- Lozupone, C.A., Hamady, M., Kelley, S.T., Knight, R. 2007. Quantitative and qualitative beta diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(5):1576-1585.
- Lu, L., Xing, D.F., Ren, Z.J. 2015. Microbial community structure accompanied with electricity production in a constructed wetland plant microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* 195, 115–121.
- Luviano-Vigueras, J. 2020 Caracterización electroquímica de celdas de combustible microbianas vegetales para la producción de energía renovable. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química Industrial. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México.
- Lyon, D., Buret, F., Vogel, T., Monier, J.-M. 2010. Is resistance futile? Changing external resistance does not improve microbial fuel cell performance. *Bioelectrochemistry*. 78(1): 2-7. doi:10.1016/j.bioelechem.2009.09.
- Malvankar, N. S., Lovley, D. R. 2014. Microbial nanowires for bioenergy applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 27, 88–95.
- Margaria, V., Tommasi, T., Pentassuglia, S., Agostino, V., Sacco, A., Armato, C., Chiodoni, A., Schilirò, T., Quaglio, M. 2017. Effects of pH variations on anodic marine consortia in a dual chamber microbial fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*. 42(3): 1820-1829. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.250>
- Mazdiyasn, O., AghaKouchak, A. 2015. Substantial increase in concurrent droughts and heatwaves in the United States. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 112: 11484-11489.

- Meadows, D.H., Randers, J., Meadows, D.L. 2004. *The Limits to Growth. The 30 year Update*. Routledge, London.
- <http://www.peakoilindia.org/wp-content/uploads/2013/10/Limits-to-Growth-updated.pdf>
- Metcalf and Eddy. 1995. *Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, Reuse*. 3rd edition. McGraw-Hill. New York, EE. UU.
- Miranda-Méndez, O.H. 2017. *Producción de electricidad en sistemas de humedales artificiales asistidos electroquímicamente: Flujo continuo versus flujo intermitente*. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2017/junio/0761042/Index.html>
- Miranda-Méndez, O.H., Salinas-Juárez, M.G., Roquero, P., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2017. Electricity production in electrochemically assisted constructed wetland systems: Continuous flow versus intermittent flow. En 24th International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics. Management and Control of Water Session. Jul. 3-7. Lyon, Francia.
- Modestra, J.A., Mohan, S.V. 2014. Bio-electrocatalyzed electron efflux in Gram positive and Gram negative bacteria: An insight into disparity in electron transfer kinetics. *RSC Advances*. 4(64): 34045-34055. <https://doi.org/10.1039/C4RA03489A>.
- Montenegro-Rosero, K., Fernández, L., Villamar-Ayala. C., Espinoza-Montero. P. 2019. Humedales artificiales y celdas de combustible microbianas como sistemas individuales y combinados para el tratamiento de aguas residuales: Una revisión. *InfoAnalítica*. 7(2): 15-37. <https://doi.org/10.26807/ia.v7i2.100>.
- Obileke, K., Onyeaka, H., Meyer, E. L., Nwokolo, N. 2021. Microbial fuel cells, a renewable energy technology for bio-electricity generation: A mini-review. *Electrochemistry Communications*. 125: 107003.
- Ojeda, E., Caldentey, J., Saaltink, M.W., García, J. 2008. Evaluation of relative importance of different microbial reactions on organic matter removal in horizontal subsurface-flow constructed wetlands using a 2D simulation model. *Ecol. Eng.* 34: 65-75.
- Orduña-Bustamante, M.A., Vaca-Mier, M., Escalante-Estrada, J.A., Durán-Domínguez-de-Bazúa, C. 2011. Nitrogen and potassium variation on contaminant removal for a vertical subsurface flow lab scale constructed wetland. *Bioresource Technology*. 102:7745-7754.

- Ortiz-Zamora, S.I. 2018. Estudio de separadores de semi-reacciones en humedales artificiales asistidos electroquímicamente. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2018/noviembre/0782557/Index.html>
- Ortiz-Zamora, S.I., Salinas-Juárez, M.G., Roquero-Tejeda, P., Garfias-Vásquez, F.J., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2023. Study of half-reaction separators in electrochemically assisted constructed wetlands: Comparison between three unexpensive materials, clay, earthen, and non-woven cloth, NWC. Cartel (*Poster*). Presentado en International Phytotechnology Conference – IPC-17. Argonne National Laboratories. Chicago, EE. UU.
- Pandey, P., Shinde, V., Deopurkar, R., Kale, S., Patil, S., Pant, D. 2016. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Applied Energy*. 168: 706-723.
- Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L., Vanbroekhoven, K. 2010. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*. 101(6): 1533-1543.
- Peñacoba-Antona, L., Ramirez-Vargas, C. A., Wardman, C., Carmona-Martinez, A. A., Esteve-Núñez, A., Paredes, D., Brix, H., Arias, C. A. 2022. Microbial Electrochemically Assisted Treatment Wetlands: Current Flow Density as a Performance Indicator in Real-Scale Systems in Mediterranean and Northern European Locations. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.843135>
- Pérez-González, R. 2017. Desempeño del medio de soporte de humedales artificiales en la remoción de plomo y cromo presentes en aguas residuales. Tesis profesional de Ingeniería Química. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Junio 2. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2017/mayo/0759244/Index.html
- Potrykus, S., León-Fernández, L.F., Nieznański, J., Karkosiński, D., Fernandez-Morales, F.J. 2021. The influence of external load on the performance of microbial fuel cells. *Energies*. 14(3): 612. Doi:10.3390/en14030612
- Prathiba, S., Kumar, P., Vo, D. 2021. Recent advancements in microbial fuel cells: A review on its electron transfer mechanisms, microbial community, types of substrates and design for bio-electrochemical treatment. *Chemosphere*. 286(P3): 131856.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131856>

- Purdy, K., Nedwell, D., Embley, M., y Takii, S. 2001. Use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to investigate the distribution of sulphate-reducing bacteria in estuarine sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 36(2-3), 165-168.
- Rabaey, K., Verstraete, W. 2005. Microbial fuel cells: Novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*. 23(6): 291-298.
- Ramos-Perez, D., Alcántara-Hernández, R. J., Romero, F. M., & González-Chávez, J. L. 2022. Changes in the prokaryotic diversity in response to hydrochemical variations during an acid mine drainage passive treatment. *Science of the Total Environment*, 842(May), 156629. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156629>
- Rismani-Yazdi, H., Christy, A., Carver, S., Yu, Z., Dehority, B., Tuovinen, O. 2011. Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 102(1): 278-283.
- Rossi, F., Motta, O., Matrella, S., Proto, A., Vigliotta, G. 2014. Nitrate removal from wastewater through biological denitrification with OGA 24 in a batch reactor. *Water* 7 (12), 51–62.
- Rossi, R., Logan, B.E. 2020. Impact of external resistance acclimation on charge transfer and diffusion resistance in bench-scale microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 318(July): 123921. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123921>
- Sala, O.E., Chapin, S., Armesto, J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L., Jackson, R., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D., Mooney, H., Oesterheld, M., Poff, L., Sykes, M., Walker, B., Walker, M., Wall, D. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*. 287: 1770-1774.
- Salinas-Juárez, M.G. 2017. Premio a la Innovación Fundación UNAM-PEMEX. Tesis de doctorado: Estudio de la generación de electricidad en un humedal artificial asistido electroquímicamente. MARÍA GUADALUPE SALINAS JUÁREZ [bajo la tutoría conjunta de Pedro Roquero-Tejeda y Carmen Durán-de-Bazúa]. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería (Ingeniería Ambiental, Suelo). UNAM. Diciembre 02, 2016]. Fundación UNAM y Petróleos Mexicanos. Noviembre 07, 2017. Ciudad de México, México.

- Salinas-Juárez, M.G. 2016. Estudio de la generación de electricidad en un humedal artificial asistido electroquímicamente. Tesis de Doctorado en Ingeniería Ambiental. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. Ciudad de México. Ciudad de México. México. Acceso restringido (solicitud de patente).
- Salinas-Juárez, M.G., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2018. *Artificial wetlands for wastewater treatment and bio-electricity production for rural communities / Humedales artificiales en la depuración de aguas residuales acoplada a la producción de bio-electricidad para comunidades rurales*. En *Final e-Book Ninth International DAAD Alumni and Alumnae Seminar: Green Engineering In Honor of Dr. Peter Kusch* / Libro e final del Noveno Seminario Internacional de Ex-Becarios del DAAD de Alemania: Ingeniería Verde en Honor del Dr. Peter Kusch. ISBN 978-607-7807-07-0. Eds. Dra. Marisela Bernal-González, Profa. Dra.-Ing. María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa. Universidad Nacional Autónoma de México, M. en C. Rolando Salvador García-Gómez, M. en A.I. Landy Irene Ramírez-Burgos. Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM y DAAD, Germany. Pp. 39-40. *June / Junio 08, 2018*. Ciudad de México, México.
[https://ambiental.unam.mx/albunimagenes/2018-DAAD/2018%20Libro-e-Book%20DAAD%20Ninth%20KAS%20Green%20Eng%2008.06%20\(1\).pdf](https://ambiental.unam.mx/albunimagenes/2018-DAAD/2018%20Libro-e-Book%20DAAD%20Ninth%20KAS%20Green%20Eng%2008.06%20(1).pdf)
- Salinas-Juárez, M.G., Roquero-Tejeda, P., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2017. Humedal artificial para la generación de electricidad. Solicitud de patente: Diciembre 27, 2017. Coordinación de Gestión de Propiedad Intelectual, Coordinación de Propiedad Intelectual, Dirección General de Vinculación, Coordinación de Innovación y Desarrollo de la UNAM. Expediente MX/a/2017/015327 folio MX/E/2017/088197. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. México. Patente Núm. 395859. Otorgada el 23 de agosto de 2022.
- Salinas-Juárez, M.G., Roquero, P., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. del C. 2016. Plant and microorganisms support media for electricity generation in biological fuel cells with living hydrophytes. *Bioelectrochemistry*. 112: 145-152.
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2016.02.007>
- Santillán, J., López-Martínez, R., Aguilar-Rangel, E.J., Hernández-García, K., Vásquez-Murrieta, M.S., Cram, S., Alcántara-Hernández, R.J. 2021. Microbial diversity and

- physicochemical characteristics of tropical karst soils in the northeastern Yucatan peninsula, Mexico. *Applied Soil Ecology*. 165: 103969. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103969>
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., Ieropoulos, I. 2017. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*. 356: 225-244.
- Sardiñas-Peña, O., Pérez-Cabrera, A. 2004. Determinación de nitrógeno amoniacal y total en aguas de consumo y residuales por el método del fenato. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología [online]*: 42(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032004000200002&lng=es&nrm=iso. ISSN 1561-3003.
- Schröder, U. 2007. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9(21): 2619-2629. DOI: 10.1039/b703627m
- SENER. 2020. Balance Nacional de Energía 2019. Secretaría de Energía – Subsecretaría de Planeación y Transición Energética – Dirección General de Planeación e Información Energéticas. México.
- Schmitz, S., Rosenbaum, M. A. 2018. Boosting mediated electron transfer in bioelectrochemical systems with tailored defined microbial cocultures. *Biotechnology and Bioengineering*
- SMN. 2023. Servicio Meteorológico Nacional. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>
- Spitzer, P., Wunderli, S. 2013. Reference electrodes for aqueous solutions: The hydrogen electrode. In *Handbook of Reference Electrodes*. Pp. 86-100. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36188-3_5
- Srivastava, P., Dwivedi, S., Kumar, N., Abbassi, R., Garaniya, V., Yadav, A. 2017. Performance assessment of aeration and radial oxygen loss assisted cathode based integrated constructed wetland-microbial fuel cell systems. *Bioresource Technology*. 244: 1178-1182.
- Sung, Y., Fletcher, K.E., Ritalahti, K.M., Apkarian, R.P., Ramos-Hernández, N., Sanford, R.A., Mesbah, N.M., Löffler, F.E., 2006. *Geobacter lovleyi* sp. nov. Strain SZ, a novel metal-reducing and tetrachloroethene-dechlorinating bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 2775–2782

- Ter-Heijne, A., Strik, D., Hamelers, H., Buisman, C. 2010. Cathode potential and mass transfer determine performance of oxygen reducing biocathodes in microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*. 44(18): 7151-7156.
- Tilley, E., Ulrich, L., Luethi, C., Reymond, P., Zurbrugg, C. 2014. *Compendium of Sanitation Systems and Technologies*. 2nd Rev. Ed. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (Eawag), Duebendorf, Switzerland.
- Torres, C.I., Krajmalnik-Brown, R., Parameswaran, P., Marcus, A.K., Wanger, G., Gorby, Y. A., Rittmann, B.E. 2009. Selecting anode-respiring bacteria based on anode potential: phylogenetic, electrochemical, and microscopic characterization. *Environmental Science and Technology*. 43(24): 9519-9524. doi:10.1021/es902165y
- Trenberth, K.E., Dai, A., van-der-Schrier, G., Jones, P.D., Barichivich, J., Briffa, K.R., Sheffield, J. 2014. Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*. 4(1): 17-22.
- Tutar, S., Mohamed, A., Ha, P.T., Beyenal, H. 2020. Electron donor availability controls scale up of anodic biofilms. *Bioelectrochemistry*. 132: 107403. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107403>
- TWB. 2019. Access to electricity (% of population). The World Bank. <https://data.worldbank.org/indicator/EG.ELC.ACCS.ZS?end=2019&start=2019>.
- Valipour, A., Ahn, Y.-H. 2015. Constructed wetlands as sustainable ecotechnologies in decentralization practices: A review. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(1): 180-197.
- Villaseñor, J., Capilla, P., Rodrigo, M.A., Canizares, P., Fernandez, F.J. 2013. Operation of a horizontal subsurface flow constructed wetland - Microbial fuel cell treating wastewater under different organic loading rates. *Water Research*. 47: 6731-6738.
- Vörösmarty, C.J., Green, P., Salisbury, J., Lammers, R.B. 2000. Global extra resources: Vulnerability from climate change and population growth. *Science*. 289(80): 284-288. <https://doi.org/10.1126/science.289.5477.284>.
- Wang, J., Song, X., Wang, Y., Abayneh, B., Ding, Y., Yan, D., Bai, J. 2016. Microbial community structure of different electrode materials in constructed wetland incorporating microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* 221, 697–702.

- Wang, X., Tian, Y., Liu, H., Zhao, X., Peng, S. 2019. Optimizing the performance of organics and nutrient removal in constructed wetland-Microbial fuel cell systems. *Science of The Total Environment*. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.11.0
- WHO y UNICEF. 2017. Progress on Drinking Water and Sanitation, 2017 Update and MDG Assessment. World Health Organization and UNICEF Joint Monitoring Programme (JMP). <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/launch-version-report-jmp-water-sanitation-hygiene.pdf>.
- Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R. 2014. Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: A nitrogen and organic matter targeted review. *Water Research*. 57: 40-55. doi:10.1016/j.watres.2014.03.020.
- Wu, S., Wallace, S., Brix, H., Kuschik, P., Kirui, W. K., Masi, F., Dong, R. 2015. Treatment of industrial effluents in constructed wetlands: Challenges, operational strategies and overall performance. *Environmental Pollution*. 201: 107-120.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.006>
- WWAP. 2015. The United Nations World Water Development Report 2015: Water for a Sustainable World. United Nations World Water Assessment Programme. UNESCO. París, Francia.
- WWF. 2014. Living Planet Report 2014: Species and Spaces, People and Places Gland. World Wide Fund for Nature. https://www.wwf.or.jp/activities/data/WWF_LPR_2014.pdf
- Xu, L., Yu, W., Graham, N., Zhao, Y., Qu, J. 2019. Application of integrated bioelectrochemical-wetland systems for future sustainable wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*. 53(4): 1741-1743. doi:10.1021/acs.est.8b07159.
- Yadav, A., Dash, P., Mohanty, A., Abbassi, R., Mishra, B. 2012. Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. *Ecological Engineering*. 47: 126-131.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.06.029>
- Yang, Q., Wu, Z., Liu, L., Zhang, F., Liang, S. 2016. Treatment of oil wastewater and electricity generation by integrating constructed wetland with microbial fuel cell. *Materials*. 9(11): 885. Doi:10.3390/ma9110885.
- Yamada, T., Imachi, H., Ohashi, A., Harada, H., Hanada, S., Kamagata, Y., & Sekiguchi, Y. 2007. *Bellilinea caldifistulae* gen. nov., sp. nov. and *Longilinea arvoryzae* gen. nov., sp.

- nov., strictly anaerobic, filamentous bacteria of the phylum Chloroflexi isolated from methanogenic propionate-degrading consortia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2299–2306.
- Yamashita, T., Yamamoto-Ikemoto, R., Zhu, J. 2011. Sulfate-reducing bacteria in a denitrification reactor packed with wood as a carbon source. *Bioresour. Technol.* 102 (3), 2235–2241.
- Yong, Y.C., Yu, Y.Y., Yang, Y., Li, C.M., Jiang, R., Jiang, R., Wang, X., Wang, J.Y., Song, H. 2012. Increasing extracellular releasable electrons dramatically enhances bioelectricity output in microbial fuel cells. *Electrochem. Commun.* 19: 13-16.
<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2012.03.002>.
- Zandalinas, S.I., Fritschi, F., Mittler, R. 2021. Global warming, climate change, and environmental pollution: Recipe for a multifactorial stress combination disaster. *Trends in Plant Science*. 26(6): 588-599.
- Zhang, F., Xia, X., Luo, Y., Sun, D., Call, D.F., Logan, B.E. 2013. Improving startup performance with carbon mesh anodes in separator electrode assembly microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 133: 74-81.
- Zhang, L., Zhu, X., Li, J., Liao, Q., Ye, D. 2011. Biofilm formation and electricity generation of a microbial fuel cell started up under different external resistances. *Journal of Power Sources*. 196(15): 6029-6035. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2011.04.013>
- Zhao, J., Li, F., Cao, Y., Zhang, X., Chen, T., Song, H., Wang, Z. 2020. Microbial extracellular electron transfer and strategies for engineering electroactive microorganisms. *Biotechnology Advances*. December: 107682.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107682>
- Zhu, X., Yates, M.D., Hatzell, M.C., Ananda Rao, H., Saikaly, P.E., Logan, B.E. 2014. Microbial community composition is unaffected by anode potential. *Environ. Sci. Technol.* 48: 1352-1358.