



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE INGENIERÍA

**CELAS MICROBIANAS DE BIOCOMBUSTIBLE:
ORIGEN, AVANCES Y APLICACIONES PARA LA
GENERACIÓN DE ENERGÍA**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO ELÉCTRICO ELECTRÓNICO**

PRESENTA:

LUIS DAVID MORENO BARRETO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. ALEJANDRA CASTRO GONZÁLEZ



MÉXICO D.F., CIUDAD UNIVERSITARIA 2011



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: Ing. Jacinto Viqueira Landa

VOCAL: Dra. Alejandra Castro González

SECRETARIO: Dr. Arturo Guillermo Reinking Cejudo

1ER. SPTE.: Dr. Jaime Alberto Moreno Pérez

2ER. SPTE.: Dra. Manuela Azucena Escobedo Izquierdo

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

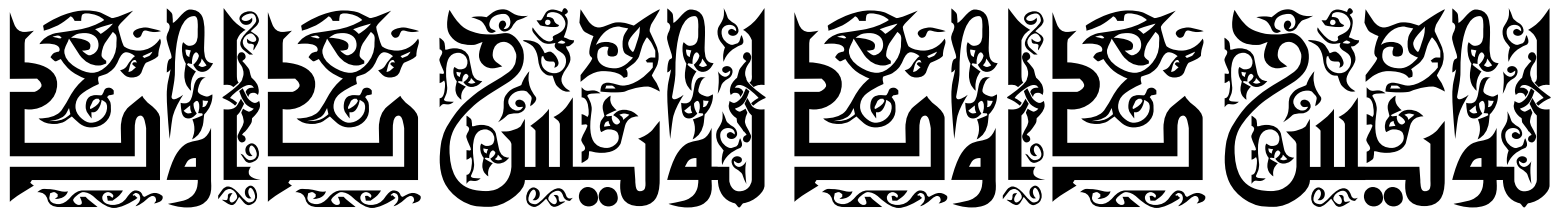
Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México

ASESORA DEL TEMA:

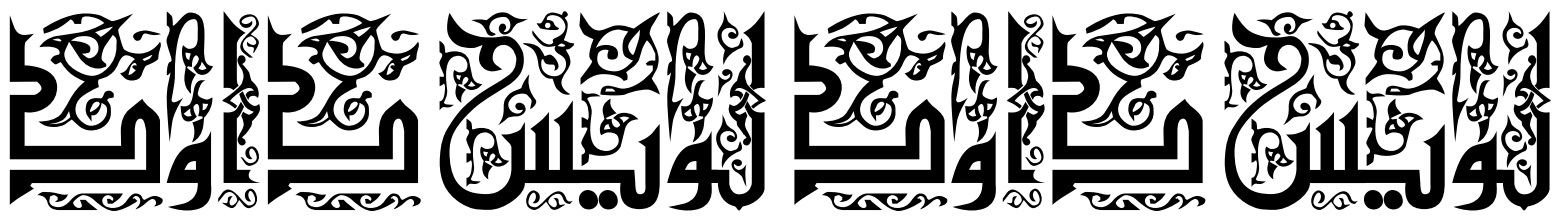
Dra. Alejandra Castro González

SUSTENTANTE:

Luis David Moreno Barreto



Agradezco a mis padres, familiares y profesores que me ayudaron a la realización de este proyecto



الإنسان عدو ما يجهل

El hombre es enemigo de lo que ignora

الوقت كالسيف إن لم تقطعه قطعك

El tiempo es como una espada. Si no lo cortas, el te cortará

لا مصيبة أعظم من الجهل

No hay desgracia mayor que la ignorancia



الكلمة تقطع أشد من السيف

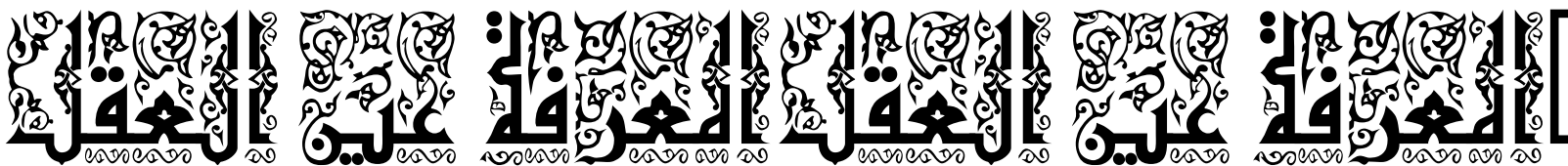
La palabra corta más que la espada

اطلب العلم من المهد إلى اللحد

¡Busca el conocimiento de la cuna hasta la tumba!

المعرفة عين العقل

El conocimiento es el ojo de la mente



المعرفة قوة

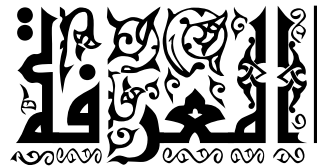
El conocimiento es poder

لا تستطيع أن تعلم ما تستطيع عمله إلا عندما تحاول

Nunca sabes lo que puedes hacer hasta que lo intentes

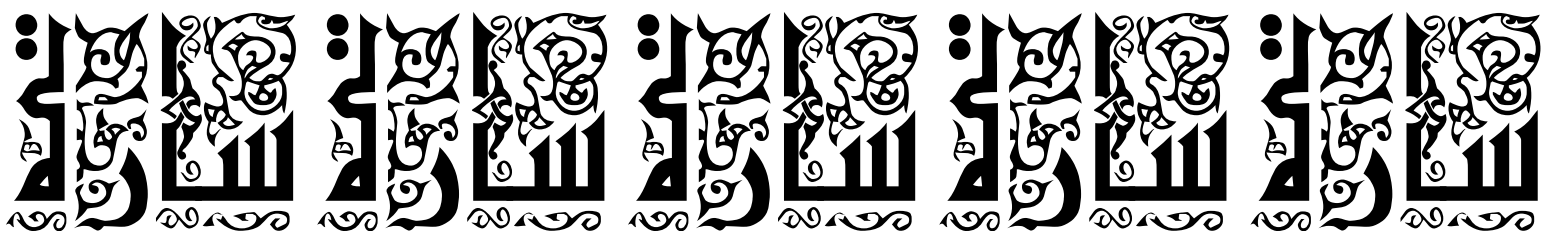
عيش وتعلم

Vive y aprende





*Madre mía
madre de mi cielo,
podría darte una flor
pero es muy poco
para todo tu corazón
tendría que envolver el mundo
en papel de amor
para darle razón a la razón.
Y aunque no tenga nada
en mis manos para darte
jamás podré olvidarte
porque gracias a ti soy vida
y las estrías de tu cuerpo son culpa mía
por tanta ternura entregada
por tantos afanes sin moderación
y porque sobre todas las cosas
estuviste a mi lado cuando grité tu nombre
sofocado por alguna pena mientras crecía.*



Índice

Página

Índice de figuras	I
Índice de tablas	IV
Glosario	V
Resumen	VI
Introducción	VII
Objetivo general	VII
Objetivos específicos	VII
Capítulo 1. Generalidades	1
1.1 Celdas de biocombustible	1
1.1.1 Definiciones y clasificaciones de las celdas de biocombustible	3
1.1.2 Combustible y fuentes de catálisis	3
1.1.3 Método de transferencia de electrones entre el sitio de reacción y el electrodo	6
Capítulo 2. Celda microbiana de biocombustible (CMB)	8
2.1 Estructura básica de una CMB	9
2.1.1 Ánodo	10
2.1.2 Cátodo	10
2.1.3 Membrana de intercambio de protones	11
2.2 Condiciones de operación	11
2.3 pH y electrolito	11
2.4 Mecanismos de transferencia de electrones	12
2.4.1 Transferencia directa de electrones al electrodo	12
2.4.2 Transferencia con ayuda de mediadores	13
2.4.2.1 Mediadores producidos por el mismo microorganismo	13
2.4.2.2 Mediadores adicionados exógenamente	14
2.4.3 Transferencia por medio de nanocables bacterianos (pili)	15
2.5 Microorganismos en una CMB	15
2.6 Los protones en la biopelícula	17
2.7 Consorcios microbianos y sintrofia	18

2.8 Diseños de CMB	18
2.8.1 Celda microbiana de biocombustible de producto	21
2.8.2 Celda microbiana de combustible TEM difusa	23
2.8.3 Celda microbiana de combustible TEM no difusa	23
2.8.4 Celda fotoquímica de combustible	24
Capítulo 3. Caracterización de las CMB	26
3.1 Fundamentos de la generación de voltaje en una CMB	26
3.1.1 Termodinámica y la fuerza electromotriz	26
3.1.2 Potenciales estándares de electrodo	27
3.1.3 Voltaje de circuito abierto	29
3.2 Identificación de los factores que disminuyen el voltaje	29
3.2.1 Pérdidas óhmicas	30
3.2.2 Pérdidas de activación	30
3.2.3 Pérdidas metabólicas bacterianas	30
3.2.4 Pérdidas de concentración	30
3.3 Instrumentos para la medición	31
3.4 Cálculos y procedimientos para reportar datos	31
3.4.1 Potencial del electrodo	31
3.4.2 Potencia	32
3.4.3 Densidad de potencia	32
3.4.4 Curvas de polarización	33
3.4.5 Curvas de potencia	34
3.4.6 Eficiencia del tratamiento	34
3.4.7 Eficiencia coulombica	35
3.4.8 Aumento del rendimiento	36
3.4.9 Balance de la DQO	37
3.4.10 Velocidad de carga	37
3.4.11 Eficiencia energética	37

Capítulo 4. Experimentos realizados	38
4.1 Origen de las CMB	38
4.1.1 Efectos eléctricos que acompañan la descomposición de compuestos orgánicos	38
4.1.1.1 El dispositivo	38
4.1.1.2 Varias concentraciones del medio	40
4.1.1.3 Variando la cantidad de levadura	40
4.1.1.4 Condiciones de temperatura	41
4.1.1.5 Bacterias	42
4.1.1.6 Electrodo	43
4.1.2 El cultivo bacteriano como una media-celda (cámara anódica) eléctrica	44
4.2 Avances de las CMB	44
4.2.1 CMB de primera generación	45
4.2.2 CMB de segunda generación	45
4.2.3 CMB de tercera generación	46
4.2.4 CMB desarrolladas desde 1994	47
4.3 Investigación en México	47
4.3.1 Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP	47
4.3.1.1 Microorganismos y sustrato	47
4.3.1.2 CMB	51
4.3.1.3 Análisis	52
4.3.1.4 Aclimatación de la celda	52
4.3.1.5 Efecto de la concentración del sustrato	53
4.3.1.6 Generación de electricidad en medición continua	54
4.3.1.7 Generación de potencia en la CMB	54
4.3.1.8 Influencia del pH	56
4.3.1.9 Efecto de la temperatura en el rendimiento de la CMB	56
4.3.1.10 Eficiencia obtenida en una CMB	57
4.3.1.11 Conclusiones	58
4.3.2 Caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados	60

6.2.4 Branquias artificiales para robots	92
6.2.4.1 Cátodo de O ₂	93
6.2.4.2 Diseños de CMB	94
6.2.4.3 Resultados del experimento	96
6.2.4.4 Efectos de la hidratación en los cátodos	96
6.2.4.5 Efecto de la temperatura en el cátodo	96
6.2.4.6 Efectos del flujo de agua	97
6.2.4.7 Discusión del experimento	99
6.3 Biosensor de CMB de una sola cámara (cámara anódica) para aguas residuales	100
6.3.1 Materiales y métodos utilizados en el biosensor	101
6.3.1.1 CMB de una cámara y su funcionamiento	101
6.3.1.2 Biocombustible para la CMB	102
6.3.1.3 Enriquecimiento y adaptación de las bacterias	103
6.3.1.4 Monitoreo del sistema	103
6.3.2 Resultados y discusión del experimento	104
6.3.2.1 Efecto de la tasa de alimentación	104
6.3.2.2 Efecto de la resistencia externa en el funcionamiento de la celda	106
6.3.2.3 Respuesta del sensor a la concentración de la DQO y calibración con carga externa de 50 Ω	106
6.3.2.4 Efecto del volumen del reactor en las celdas	109
6.3.2.5 Funcionamiento del biosensor CMB con agua residual real	111
6.3.2.6 Efecto de la temperatura	112
6.3.3 Conclusiones del estudio con CMB	113
Capítulo 7. Conclusiones	115
Referencias bibliográficas	116

Índice de figuras

	Página	
Figura 1.1	Esquema de una celda de biocombustible	1
Figura 1.2	Clasificación de los dispositivos electroquímicos	4
Figura 1.3	Esquema de una media celda de biocombustible (cámara anódica)	5
Figura 2.1	Celda microbiana de biocombustible	8
Figura 2.2	Diseño típico de una CMB	9
Figura 2.3	Diferentes diseños de CMB	20
Figura 2.4	CMB utilizadas en operación continua	21
Figura 2.5	Sistema de tipo de producto: Fermentador externo que alimenta a la celda de combustible H ₂ /O ₂	22
Figura 2.6	Sistema de tipo de producto: Compartimento fermentador/ánodo en la celda de biocombustible	22
Figura 2.7	Sistema TDE	24
Figura 2.8	Sistema TEM	24
Figura 2.9	Celda fotoquímica de combustible	25
Figura 3.1	Curvas de polarización (a) y curvas de potencia (b) de una CMB operada con almidón	35
Figura 4.1	Dispositivo original de una CMB	39
Figura 4.2	Desarrollo de voltaje en las celdas microbianas utilizando soluciones de glucosa al 5, 10, 20, 30, 40 y 50% y 5g de levadura en cada caso	40
Figura 4.3	Desarrollo del voltaje variando cantidades de levadura	41
Figura 4.4	Voltaje obtenido variando la temperatura	41
Figura 4.5	Efecto de corto circuito utilizando levadura y glucosa	43
Figura 4.6	Reacciones redox que se llevan a cabo en la CMB	46
Figura 4.7	Aclimatación de la CMB con tres aplicaciones sucesivas de inóculo	52
Figura 4.8	Generación de voltaje a partir de glucosa como sustrato	53
Figura 4.9	Voltaje máximo obtenido a partir de la concentración de glucosa	53
Figura 4.10	Generación de electricidad en la etapa de medición continua, utilizando resistencias externas de 100 y 600 Ω	54
Figura 4.11	Generación de potencia en la CMB, empleando una resistencia de 1000 Ω (A) y una resistencia de 600 Ω (B)	55

Figura 4.12	Efecto del pH en la densidad de potencia, con una resistencia de 1000 Ω (a) y una resistencia de 600 Ω (b)	57
Figura 4.13	Relación de la temperatura de operación sobre la densidad de corriente, utilizando 100 y 600 Ω	59
Figura 4.14	Corriente registrada en función del tiempo	59
Figura 4.15	Diagrama de una CMB creada en México	60
Figura 4.16	Voltaje a circuito abierto y sometido a una resistencia externa	62
Figura 4.17	Voltaje y corriente en función de una Rext	62
Figura 4.18	Método gráfico para encontrar Rint	63
Figura 4.19	Potencia máxima obtenida de la CMB	64
Figura 6.1	Siete subunidades conectadas eléctricamente en paralelo para proporcionar potencia suficiente para a la boya	71
Figura 6.2	Boya meteorológica usada en la demostración en el muelle del Laboratorio de Investigación Naval en Washington, DC	71
Figura 6.3	Ejemplo de un registro meteorológico de 7 días en una boya marina	72
Figura 6.4	Ánodo de la segunda versión de una CMBB	73
Figura 6.5	Registro de la generación de energía en los primeros 30 días de la instalación de la segunda generación de una CMBB	73
Figura 6.6	Fotografía de prototipo Ecobot I	75
Figura 6.7	Desplazamiento del Ecobot I	75
Figura 6.8	Promedio de ciclos de carga y descarga del Ecobot I	76
Figura 6.9	EcoBot II con una CMB y cátodos de O ₂ colocados en el exterior para permitir su exposición al aire	77
Figura 6.10	EcoBot II	78
Figura 6.11	Ciclo típico de agotamiento para ocho CMB diferentes antes de conectarlas con el EcoBot II	79
Figura 6.12	Arreglo experimental para las carreras del EcoBot II	79
Figura 6.13	Tiempo promedio de las tres carreras para llegar a la meta del robot a 50 cm	80
Figura 6.14	Gradiente de temperatura producido y detectado por el robot cuando se movía hacia el calor de la fuente de luz	81

Figura 6.15	Distancia promedio versus tiempo promedio para las pruebas de resistencia del EcoBot II	81
Figura 6.16	Relación entre la temperatura ambiente promedio transmitida por día y la distancia promedio en experimentos con EcoBot II	82
Figura 6.17	Robot que se alimenta de babosas (Slugbot)	84
Figura 6.18	Ciclos básicos de operación de un robot	85
Figura 6.19	Celda de combustible de alta temperatura	91
Figura 6.20	Pinza del Slugbot	93
Figura 6.21	Dos tipos de CMB: a) CMB con cátodo expuesto al aire, b) CMB con cámara catódica cerrada	95
Figura 6.22	Cuatro tipos de CMB	95
Figura 6.23	Voltaje de circuito abierto	96
Figura 6.24	Corriente de salida de las cuatro CMB en diferentes condiciones de hidratación	97
Figura 6.25	Efecto de la temperatura en las diferentes configuraciones de cátodos	98
Figura 6.26	Respuesta de I_s como resultado de un aumento en el caudal de agua manteniendo constante una temperatura de 30°C	98
Figura 6.27	Celda microbiana de biocombustible de una sola cámara	101
Figura 6.28	Diseño de sistema de una CMB de una sola cámara	102
Figura 6.29	Variación de la corriente con el tiempo para el enriquecimiento de bacterias electroquímicamente activas	105
Figura 6.30	Respuesta a la concentración de la DQO con una resistencia externa de 50 Ω	108
Figura 6.31	Relación entre la carga generada y la concentración de la DQO	108
Figura 6.32	Reproducibilidad del biosensor de una CMB	109
Figura 6.33	Variación de la corriente con el tiempo para el enriquecimiento de bacterias en el biosensor CMB de menor volumen	110
Figura 6.34	Influencia del volumen de los reactores en el tiempo de respuesta de los biosensores a los cambios por etapas en la concentración de DQO	110
Figura 6.35	Estabilidad a largo plazo del biosensor CMB	112
Figura 6.36	Variación de la corriente en el biosensor CMB en respuesta a diferentes soluciones de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales	112

Índice de Tablas

	Página
Tabla 3.1 Potenciales estándar E_0 y potenciales teóricos para las condiciones típicas en las CMB	28
Tabla 4.1 Solución modificada de Pasteur	43
Tabla 4.2 Bacterias utilizadas por Cohen y sus potenciales	44
Tabla 4.3 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa	48
Tabla 4.4 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas por la oxidación de otros químicos 50	
Tabla 4.5 Composición del extracto modelo para la CMB	61
Tabla 6.1 Valores medios de salida de corriente y potencia de la CMB, junto con la resistencia interna calculada	97
Tabla 6.2 Características de las aguas residuales utilizadas en el experimento CMB de una sola cámara	103
Tabla 6.3 Efecto de la tasa de alimentación en la corriente generada y eficiencia coulombica	105
Tabla 6.4 Efecto de la resistencia externa en la respuesta dinámica del biosensor CMB	107
Tabla 6.5 Comparación de los biosensores CMB en relación con el volumen del reactor	111
Tabla 6.6 DQO medida con método químico y biosensor	111
Tabla 6.7 Efecto de la temperatura en un biosensor CMB	112

Glosario

AMA	Agua de mar artificial
ARS	Agua residual sintética
CMB	Celda microbiana de biocombustible
CVR	Carbón vítreo reticulado
ENH	Electrodo normal de hidrógeno, también llamado electrodo estándar de hidrogeno (ESH)
MIP	Membrana de intercambio de protones
PPM	Punto de potencia máxima
RN	Rojo neutro
TDE	Transferencia directa de electrones
TEM	Transferencia de electrones mediada
VCA	Voltaje de circuito abierto

Resumen

La conversión de energía química en eléctrica es posible en ciertos dispositivos electroquímicos denominados celdas de combustible, donde la electricidad se obtiene a partir de una fuente externa de combustible química que suele ser hidrógeno o etanol. Una variante reciente de esta celda de combustible es la celda microbiana de biocombustible (CMB). En las CMB se utilizan microorganismos para oxidar el combustible, materia orgánica, y transferir los electrones a un electrodo (ánodo), que está conectado a un cátodo a través de un material conductor que contiene una resistencia. Las cámaras que albergan estos electrodos, la anódica (anaerobia) y la catódica (aerobia), están comunicadas por una membrana de intercambio catiónico que permite el paso de protones. De esta forma, los protones generados en la oxidación de la materia orgánica se combinan con oxígeno y con los electrones que llegan al cátodo para formar agua. Existe también la posibilidad de alojar una CMB en un hábitat natural y obtener energía eléctrica a partir de las comunidades microbianas naturales. En este caso, el diseño recibe el nombre de celda microbiana de biocombustible sedimentaria y requiere el enterramiento del ánodo en un sedimento anaerobio que hace las veces de cámara anódica, mientras que el cátodo queda expuesto en la fase acuosa aeróbica que cubre el sedimento.

Las CMB resultan ser una opción prometedora para la generación de energía renovable que se pueda emplear como electricidad. Se han logrado avances importantes para incrementar la eficiencia de estos dispositivos tanto para la generación de electricidad como para la producción de hidrógeno. Una gran variedad de sustratos se han empleado en el ánodo para la generación de energía, incluyendo acetato, celulosa, aguas residuales municipales e industriales, etc. Se ha mejorado la tecnología y funcionamiento de la celda misma, sin embargo un factor común y que tiene gran relevancia, es la formación de la biopelícula microbiana en el ánodo. Se han identificado y caracterizado el tipo de organismos que conforman los consorcios bacterianos que participan en la formación de la biopelícula y de manera importante en el aporte de energía. Aunque existen estudios de la ecología microbiana de dicha biopelícula, las relaciones entre los miembros de las comunidades microbianas y como contribuyen al flujo de electrones del ánodo al cátodo, aun no están completamente comprendidas, así como los mecanismos que favorecen su formación y los procesos metabólicos que intervienen en su establecimiento.

En esta tesis se presenta una investigación monográfica de las CMB. Debido a que no existe algún libro que aborde este tema, la información contenida en esta es una recopilación de información contenida en una gran cantidad de artículos internacionales de investigaciones en el mundo que abordan el tema de las CMB. Los artículos dedicados al estudio de las CMB son numerosos, pero los autores de éstos es un grupo pequeño de científicos extranjeros y mexicanos.

En este trabajo se pretende dar una descripción histórica de las CMB, así como de su definición, caracterización, avances y aplicaciones potenciales. Se presentan datos relevantes en lo referente a la generación de electricidad, tamaños y eficiencias. La comparación entre CMB se debe manejar con reserva debido a que el desarrollo de esta tecnología está todavía en sus comienzos, los diseños deben ser estudiados y optimizados y no existe un estándar para comparar las CMB entre sí.

Introducción

Como suele ocurrir con muchas cuestiones científicas que hoy nos parecen novedosas, las primeras observaciones tuvieron lugar mucho tiempo atrás. Así, el primer ejemplo de actividad eléctrica con microorganismos fue mostrado por Potter en 1910; en sus experimentos recurrió a cultivos de *E. coli* y electrodos de platino para generar corrientes eléctricas que por su pequeña magnitud pasaron desapercibidas para la comunidad científica. Este tipo de procesos no despertó el interés hasta la década de los años ochenta, con la utilización de mediadores redox solubles que aumentaban la producción de corriente y la potencia de estos sistemas. Los mediadores redox son compuestos solubles que actúan transportando los electrones desde la bacteria hasta el electrodo, reoxidándose y quedando disponibles de nuevo para ser reducidos por los microorganismos. Normalmente son de naturaleza metalorgánica o colorantes, como el rojo neutro, el azul de metileno, la tionina, la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.

Los análisis de comunidades microbianas asociadas a los ánodos de las CMB muestran una gran biodiversidad de géneros bacterianos dependiendo de la naturaleza del inóculo, del combustible y del tipo de CMB utilizada. A pesar de ello, en la mayoría de los casos no se puede asegurar qué organismo muestra una participación activa en el proceso electrogénico ya que parte de esa población recurre probablemente a metabolismos alternativos como fermentaciones del combustible utilizado, y el ánodo es sólo un soporte físico sobre el que crecer. En cambio, cuando se utilizan celdas sedimentarias, tanto en sedimentos marinos como de agua dulce, sí parece existir un consenso que identifica a las δ -proteobacterias, y en concreto a la familia *Geobacteraceae*, como los microorganismos dominantes, con probada actividad electrogénica cuando se ensayan utilizando cultivos puros.

La gran revolución en el campo de las CMB se ha producido en el último lustro, con el descubrimiento de microorganismos electrogénicos que son capaces de transferir los electrones al ánodo en ausencia de mediadores redox artificiales. De esta manera, se eliminan los problemas de toxicidad en los dispositivos electroquímicos y los medios utilizados quedan restringidos al combustible orgánico que se desee utilizar y al microorganismo que actúe como catalizador biológico.

Objetivo general

Conocer el origen, avances recientes y aplicaciones para la generación de energía a partir de las celdas microbianas de biocombustible (CMB) realizando una investigación sobre las investigaciones nacionales e internacionales

Objetivos específicos

- Conocer el panorama pasado y presente de las CMB
- Conocer el beneficio que se obtiene con la implementación de las CMB
- Revisar los avances en México y de otros países sobre el uso de las CMB
- Conocer como se realizaron las investigaciones realizadas sobre las CMB

Capítulo 1. Generalidades

1.1 Celdas de biocombustible

Las celdas biológicas de combustible (celdas de biocombustible) se han definido como las celdas de combustible que se basan en la catálisis enzimática para al menos una parte de su actividad (Palmore y Whitesides, 1994). Una definición más amplia puede considerar a las celdas de biocombustible como las celdas de combustible que utilizan biocatalizadores. En el sentido más amplio, las celdas de biocombustible se definen como los dispositivos capaces de transformar directamente la energía química en eléctrica a través de reacciones electroquímicas que dependen de vías bioquímicas. Un esquema de una celda de biocombustible típica se muestra en la Figura 1.1. Dos electrodos separados por una membrana semipermeable se colocan en solución. Una especie biológica, en este caso una colonia de microorganismos o una enzima pueden estar en solución (o en suspensión) dentro del compartimento anódico de la celda. Una vez que el combustible adecuado ha sido introducido en el compartimento del ánodo, éste se oxida parcial o totalmente y los electrones liberados por este proceso se utilizan para reducir oxígeno en el cátodo.

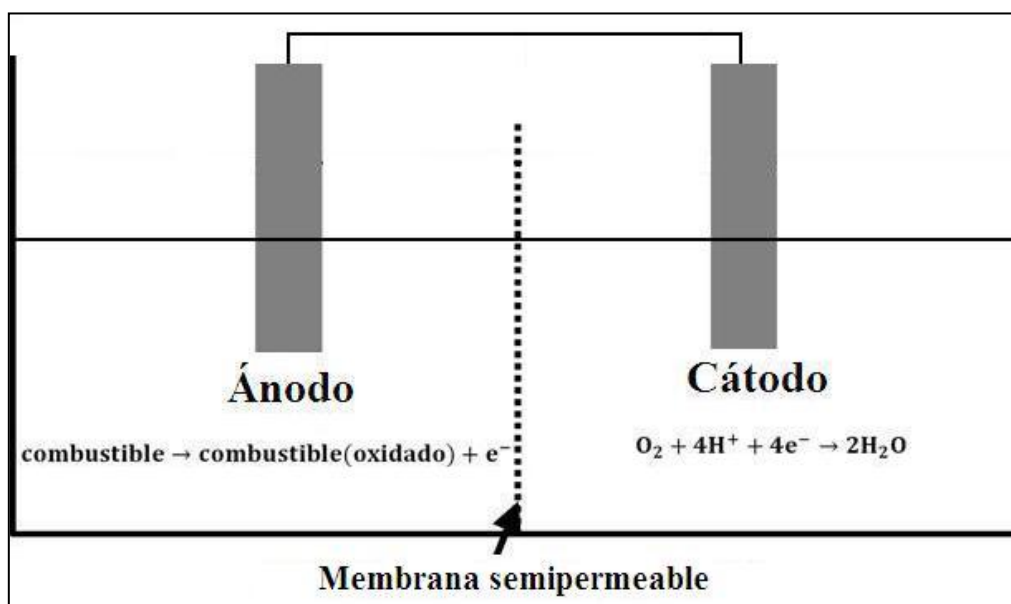


Figura 1.1 Esquema de una celda de biocombustible (Davis y Higson, 2006)

La conexión entre la biología y la electricidad se conoce desde los experimentos de Galvani en la década de 1780 (Galvani, 1791), cuando se descubrió que la corriente de un generador de electricidad estática podía causar la contracción de una pata de rana, revolucionando con esto la comprensión del sistema nervioso. La celda de combustible ha sido conocida, desde que Grove logró con éxito invertir la acción de la electrólisis del agua, recombinando el hidrógeno y oxígeno para producir agua y corriente eléctrica (Grove, 1839). Dada la naturaleza temprana de estos dos descubrimientos es sorprendente que una celda que utiliza microorganismos no se haya demostrado, sino hasta 1910, cuando MC Potter, profesor de Botánica en la Universidad de Durham observó la

producción de electricidad por *E. coli* (Potter, 1910). Estos resultados no fueron ampliamente reportados hasta los experimentos de Cohen en 1931, que demostró un voltaje superior a 35 V generado a partir de celdas de combustible microbianas conectadas en serie (Cohen, 1931).

La expansión del interés en las celdas de combustible fue provocada por el programa espacial de EEUUA a finales de 1950 y comienzos de 1960, dirigido al desarrollo de celdas de combustible microbianas como una posible tecnología en un sistema de eliminación de residuos y generación de energía para los vuelos espaciales. También a finales de la década de 1960, la celda de biocombustible utilizando sistemas enzimáticos libres de células comenzó a ser utilizado, con el objetivo inicial de contar con una fuente de alimentación permanente para un corazón artificial (Kreysa y col., 1990; Wingard y col., 1982).

En una celda de combustible, se produce una reacción de oxidación en el ánodo y una reacción de reducción en el cátodo. La oxidación libera electrones, que viajan hacia el cátodo a través de un circuito externo realizando trabajo eléctrico. El circuito se completa con el movimiento de cargas de compensación a través del electrolito a menudo en forma de iones positivos.

Convencionalmente, las celdas de combustible funcionan con químicos inorgánicos relativamente simples, como el hidrógeno o el metanol (MeOH), produciendo energía, agua y dióxido de carbono (en el caso del metanol). Otros combustibles, como los alcoholes de menor orden y alcanos, también se utilizan, pero frecuentemente son reformados para producir hidrógeno antes del proceso de la celda de combustible (Mitsos y col., 2004; Vielstich y col., 2003).

Las celdas de biocombustible utilizan enzimas como catalizadores (solas o dentro de un organismo) y suelen operar en condiciones moderadas (20-40°C y pH casi neutro). Estas propiedades hacen que celdas de biocombustible sean un prospecto de desarrollo atractivo para su uso en aplicaciones donde la generación de altas temperaturas es difícil, o cuando las condiciones de reacción son indeseables. Las celdas de biocombustible no están, al menos en teoría, limitadas por estas condiciones moderadas; como por ejemplo los organismos extremófilos o enzimas derivadas de ellos, que deberían ser capaces de operar bajo una amplia variedad de condiciones de reacción. También debe considerarse la variedad de reacciones que pueden ser catalizadas por enzimas que permiten que el uso de una gama mucho más amplia de sustancias combustibles sea posible (en algunos sistemas, hasta la utilización de moléculas tan grandes como los almidones solubles). Los biocatalizadores, ya sea de proteínas, enzimas o todo un organismo, también pueden ofrecer ventajas de costos sobre los catalizadores metálicos, aunque esto no es probable hasta que el consumo de la enzima sea suficiente para merecer su producción a gran escala.

En cuanto a las aplicaciones, actualmente hay dos sistemas para su aplicación práctica, una instalación de pruebas en aguas residuales de una planta de almidón (sistema de celda de combustible microbiana), que ha estado operando durante al menos 5 años y se ha demostrado como un método de bioremediación (Gil y col., 2003) y como un sensor de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) (Kim y col., 2003a). Otra aplicación, es una celda de biocombustible empleada en el estómago de una plataforma robótica móvil denominada "Gastronome", pensado como el precursor de los robots autónomos que pueden recoger su combustible de sus alrededores (gastrobots). El Gastronome original "come" terrones de azúcar y se alimenta de forma manual (Wilkinson, 2000),

pero otros grupos han refinado el concepto, para producir depredadores que consumen babosas (Kelly y Melhuish, 2001), o moscas (Ieropolous y col., 2004). Aunque hasta el momento los dos todavía requieren de alimentación manual. Se han sugerido muchas aplicaciones, sin embargo, estas investigaciones se encuentran en distintas etapas de desarrollo.

El blanco más obvio para la investigación en celdas de biocombustible sigue siendo en aplicaciones “in vivo”, donde el combustible utilizado podría encontrarse prácticamente sin límite y a largo plazo en la circulación de la sangre o incluso como una fuente permanente de alimentación para los dispositivos tales como los marcapasos, los sensores de glucosa para diabéticos o pequeñas válvulas para el control de la vejiga. Una celda de biocombustible capaz de funcionar en una uva (Mano y col., 2003a) muestra que se está avanzando en esto. El reto de la biocatálisis en operación para un período suficientemente largo es un problema en estas áreas, donde podría ser necesaria una intervención quirúrgica para cambiar una celda y las limitaciones éticas son de suma importancia.

Son diversas las propuestas de aplicaciones “ex vivo”. La gran mayoría de estas aplicaciones está representada por la recuperación de energía de residuos o para la generación de energía en zonas remotas. A media escala se aplica para la generación de energía en sistemas especializados, como el gastrobot mencionado anteriormente. Donde más se utiliza es en la generación de energía a pequeña escala para sustituir las baterías de equipos electrónicos. Las aplicaciones de mayor escala tienden a basarse en microorganismos, mientras los de menor escala tienen más probabilidades de ser enzimáticos. El principal obstáculo en el caso de las celdas de combustible enzimáticas y para cualquier aplicación con éxito, es la vida de los componentes, especialmente por la duración limitada de las enzimas y los problemas de suciedad en los electrodos.

1.1.1 Definiciones y clasificaciones de las celdas de biocombustible

Los dispositivos electroquímicos transforman la energía directamente de un producto químico a una forma eléctrica. Ésto les permite evitar las limitaciones de la termodinámica de la combustión basada en ciclos. Además, en un sistema electroquímico, la tasa de producción de energía se puede controlar con precisión a través de un circuito externo. Un resumen de los diferentes tipos de dispositivos electroquímicos se presenta en la Figura 1.2. Este panorama nos permite considerar las distintas definiciones que un dispositivo tiene que cumplir con el fin de ser una celda de biocombustible, y permite la caracterización de los diferentes dispositivos de biocombustibles en forma de celdas.

Un esquema generalizado de una media celda de biocombustible (cámara anódica) se presenta en la Figura 1.3. Un combustible es oxidado en un componente biológico (enzima u organismo), los electrones son transferidos a (o desde) un mediador, que o bien se difunde o se asocia con el electrodo y es oxidado (reducido) a su estado original.

1.1.2 Combustible y fuentes de catálisis

Cualquier tipo de dispositivo electroquímico requerirá de un combustible y un catalizador, considerando lo anterior, se presentan varias definiciones:

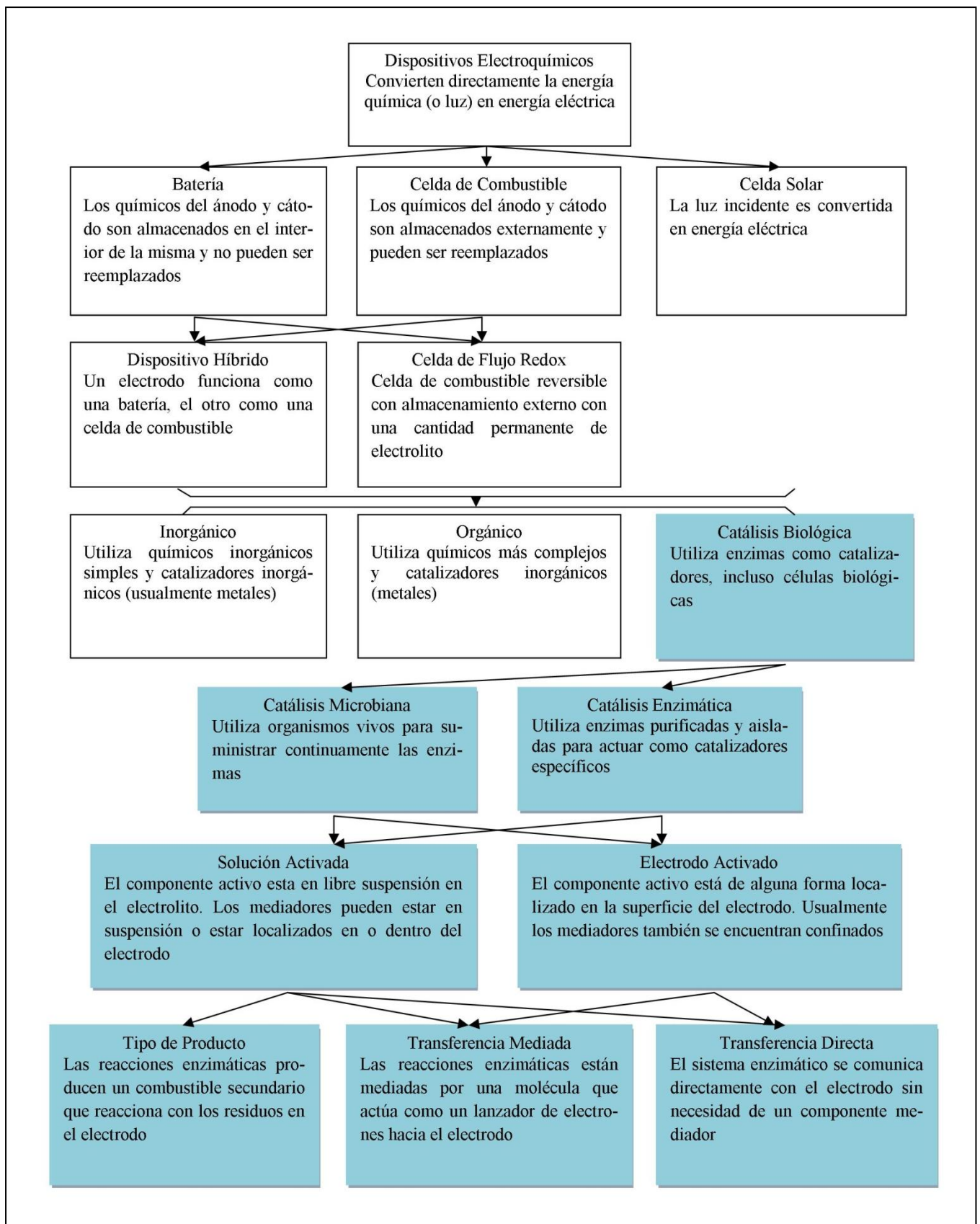


Figura 1.2 Clasificación de los dispositivos electroquímicos (Bullen y col., 2006)

Los dispositivos inorgánicos utilizan químicos inorgánicos y usualmente se emplean metales como catalizadores (Palmore y Whitesides, 1994), por ejemplo, la clásica celda de combustible catalizada por Pt H_2/O_2 ($E_{celda}^0 = 1.23 V$)



Los dispositivos alimentados orgánicamente operan usando químicos más complejos como fuentes de combustible, pero todavía dependen de catalizadores inorgánicos para lograr las reacciones como, por ejemplo, la celda de combustible de metanol directo (DCMB) ($E_{celda}^0 = 1.2V$)

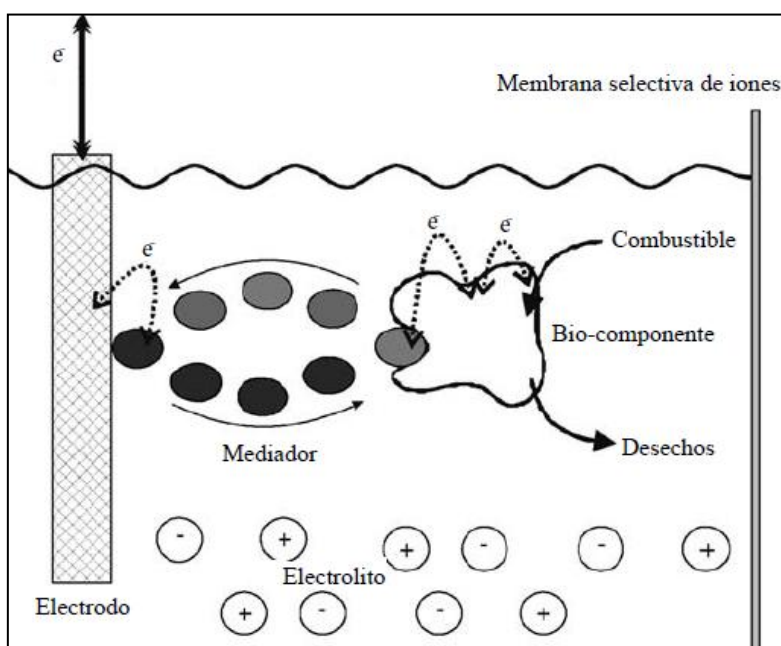
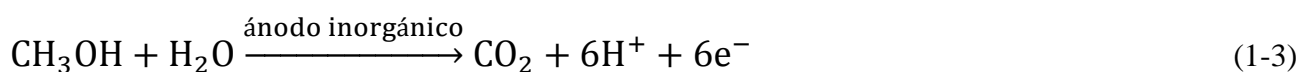
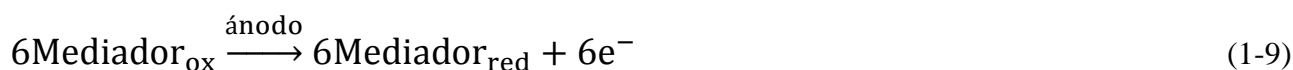
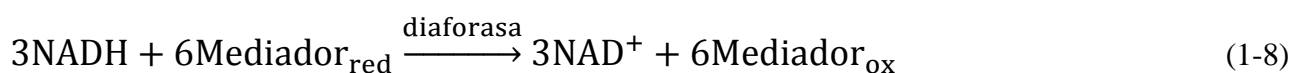
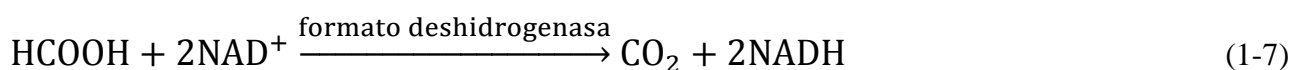
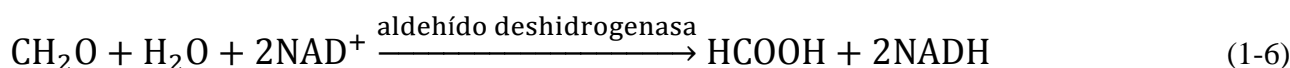
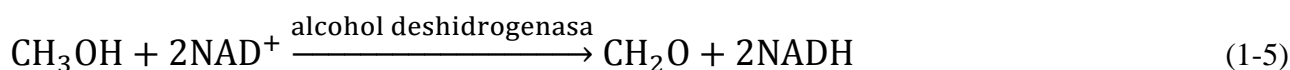


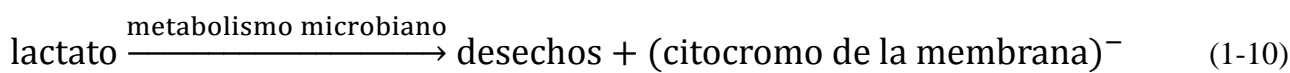
Figura 1.3 Esquema de una media celda de biocombustible (cámara anódica) (Bullen y col., 2006)

Los dispositivos catalizados biológicamente (por lo general también alimentados orgánicamente) utilizan moléculas biológicas como catalizadores para lograr sus reacciones redox (por lo menos en la mitad de la celda), ya sea como enzimas purificadas (o enzimas derivadas) para catalizar una reacción específica, o mediante el uso de organismos completos (Palmore y Whitesides, 1994). Para la oxidación de metanol (Ec.1-3), un dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD) es mediado por la secuencia de reacciones siguientes (Palmore y col., 1998):



Los dispositivos catalizados biológicamente se pueden dividir de acuerdo a la fuente de los biocatalizadores (enzimas por lo general) utilizados para realizar la catálisis.

Los sistemas catalizados por microorganismos utilizan organismos vivos como la fuente para completar las vías enzimáticas. Se trata generalmente de sistemas robustos que pueden operar sobre materias primas variables y son resistentes a la intoxicación debida a los sistemas vivos y generalmente son capaces de oxidar el sustrato completamente a dióxido de carbono y agua. Por ejemplo, la comunicación electroquímica directa de *Shewanella putrefaciens* con un ánodo a través de los citocromos de la membrana (Kim y col., 2002a).



Los sistemas catalizados enzimáticamente usan proteínas enzimáticas aisladas y purificadas para realizar una reacción específica de catálisis (reacciones químicas Ec. 1-5 a 1-9). Varias enzimas se pueden combinar para oxidar completamente el sustrato, a pesar de la estructuración de las enzimas, es problemático que las diferentes reacciones puedan ocurrir en el orden correcto.

1.1.3 Método de transferencia de electrones entre el sitio de reacción y el electrodo

Los electrones se pueden transferir entre el sitio de la reacción y el electrodo a través de la difusión de un combustible secundario, a través de una molécula mediadora que repetidamente realiza ciclos o por medio de una transferencia directa de electrones (TDE) entre el sitio de la reacción y el electrodo.

Se han producido variaciones en la literatura sobre cómo definir este tipo de sistemas. Aston y Turner (1984) definen a un sistema en el cual un combustible secundario para el electrodo es generado por una reacción biológica como una celda de biocombustible indirecta, con los casos de mediadores reversibles de disparo de electrón y de transferencia directa de electrones entre el componente biológico y el electrodo como una celda de biocombustible directa. Sin embargo, Palmore y Whitesides (1994) definen a las celdas de biocombustible indirectas como cualquiera que

incluya un componente de difusión. Por lo tanto, de acuerdo con su definición, un sistema que implique la difusión de mediadores reversibles es indirecta, pero una que incluya la participación de mediadores no difusos es directa. Higgins y Hill (1985) definen tres categorías:

1. Tipo de producto. Organismos o enzimas que convierten componentes electroquímicamente inactivos a componentes electroquímicamente activos
2. Tipo regenerativo. Organismos o enzimas que regeneran compuestos redox que a su vez llevan a cabo la reacción electroquímica
3. Tipo depolarizador. Organismos o enzimas que actúan como catalizadores de reacciones electroquímicas en el electrodo, o ellos mismos se difunden en el electrodo y transfieren electrones directamente

Las celdas enzimáticas se dividen en: Transferencia de electrones mediada (TEM) y transferencia directa de electrones (TDE), con TDE cubriendo sólo los sistemas en donde los túneles de electrones se conectan directamente con el sitio activo fijo en la enzima y el electrodo, y TEM que abarca todas las formas de mediación regenerativa, ya sea difusa o no difusa (Calabrese Barton y col., 2004).

Capítulo 2. Celda microbiana de biocombustible (CMB)

Una celda microbiana de biocombustible convierte un sustrato biodegradable directamente a electricidad. Ésto se consigue cuando las bacterias, a través de su metabolismo, transfieren electrones desde un donador, tal como la glucosa, a un aceptor de electrones. En una CMB, las bacterias no transfieren directamente los electrones producidos a su aceptor terminal, sino que éstos son desviados hacia el ánodo (Figura 2.1). Esta transferencia puede ocurrir de varias formas, bien sea a través de la membrana celular o a partir de un mediador soluble, y los electrones fluyen a través de un circuito externo (Rabaey y col., 2003).

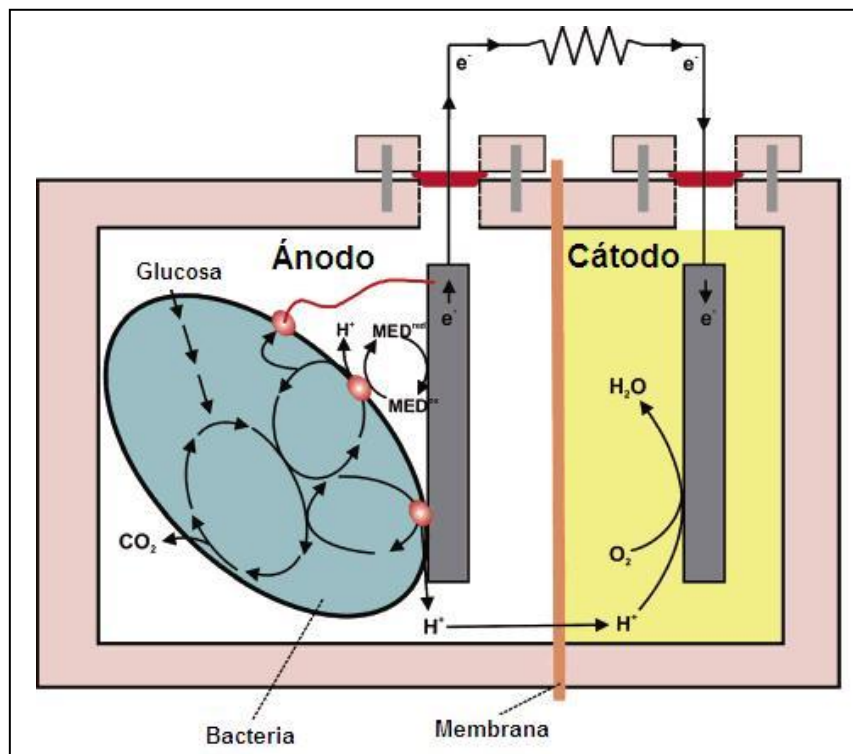


Figura 2.1. Celda microbiana de biocombustible (Rabaey y col., 2003)

El uso de microorganismos ofrece la ventaja en que pueden catalizar la oxidación de numerosos biocombustibles y pueden ser menos susceptibles a la inhibición, haciéndolos una opción popular para su uso en celdas de biocombustible.

Sin embargo, un gran inconveniente, es que puede ser extremadamente difícil utilizar los electrones generados por la reacción que ocurre dentro de la célula. Una de las soluciones es a través del uso de mediadores, sin embargo, los compuestos elegidos para este fin deben cumplir una serie de criterios, de los que destacan: Ser capaces de ser transportados a través de las membranas celulares de los microorganismos y de no ser tóxicos.

2.1 Estructura básica de una CMB

La estructura básica de una CMB se observó en la Figura 2.1; consta de dos cámaras, una catódica y una anódica separadas por una membrana de intercambio de protones (MIP) (Min y col., 2005). Los microorganismos en la cámara anódica oxidan los compuestos orgánicos como parte de su metabolismo y durante este proceso generan electrones y protones. Los electrones son transferidos al ánodo y son transportados a hacia el cátodo a través de un circuito externo. Para mantener el balance de cargas, los protones generados en la reacción atraviesan una membrana permeable a protones o un puente salino y una vez en la cámara catódica se unen con el oxígeno, para formar agua (Logan y col., 2006; Cheng y col., 2000a). En la Figura 2.2 se muestra un diseño típico de CMB.

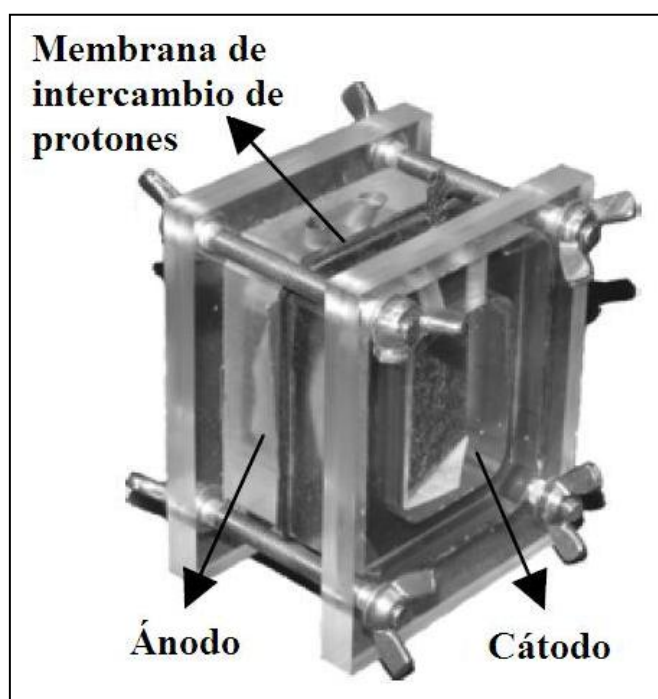


Figura 2.2 Diseño típico de una CMB (Ieropoulos y col., 2004)

El mecanismo por el cual son liberados los electrones al electrodo en las CMB es uno de los principales objetivos de estudio para llegar a entender el funcionamiento de este tipo de dispositivos y mejorar su eficiencia. El factor más importante para que una CMB genere una corriente de electrones que pueda ser utilizada es, sin duda alguna, el microorganismo o microorganismos utilizados para llevar a cabo el proceso de degradación de la materia orgánica a compuestos como CO_2 y H_2O y la liberación de electrones al sistema. Otro factor es el tipo de inóculo, ya que se pueden emplear diferentes tipos de inóculos en las CMB. El inóculo puede provenir de un sistema aerobio como lodos activados (Lee y col., 2003), lodos anaerobios (Rabaey y col., 2003), aguas residuales domésticas (Min y Logan, 2004), aguas residuales industriales (Prasad y col., 2006), sedimentos marinos (Bond y col., 2002) o sedimentos acuáticos (Holmes y col., 2004a). Aunque los mejores resultados se han obtenido empleando lodos activados o anaerobios (Rabaey y col., 2003).

2.1.1 Ánodo

Los materiales con los que se deben construir los ánodos deben ser conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del reactor. Los ánodos metálicos consisten de una malla de acero inoxidable no corrosivo y que pueden ser utilizados para esta aplicación (Tanisho y col., 1989). El material de electrodo más versátil es el carbón, disponible como placas de grafito compacto, barras o gránulos, así como materiales fibrosos (fieltro, tela, papel, fibras, espuma) y carbón vítreo. Existen numerosos proveedores de carbón en el mundo, por ejemplo: E_TEK and Electrosynthesis Co. Inc. (EUA), GEE Graphite Limited, Dewsbury (Inglaterra), Morgan, Grimbergen (Bélgica) y Alfa-Aesar (Alemania).

Los materiales utilizados más simples son las placas y las barras de grafito ya que son relativamente baratos, fáciles de manejar y tienen un área de contacto definida. Diversos tipos de productos de carbón como son papel, fibra, entre otros han sido utilizados extensivamente como electrodos. Mayores áreas superficiales pueden ser alcanzadas usando materiales compactos como el carbón vítreo reticulado (RVC; ERG Materials and Aerospace Corp., Oakland, CA), el cual se encuentra disponible con diferentes tamaños de poro o usando capas de gránulos de carbón o esferas (Le Carbone, Grimbergen, Bélgica). El efecto a largo plazo del crecimiento de la biopelícula o de las partículas en el flujo en cualquiera de las superficies no ha sido debidamente examinado todavía.

Para incrementar el desempeño del ánodo, se han utilizado diferentes estrategias químicas y físicas. Materiales electrocatalíticos como son compuestos de polianilinas han mostrado que mejoran la generación de corriente ayudando a la oxidación directa de metabolitos microbianos. Dirigir el flujo de agua a través del material del ánodo puede utilizarse para incrementar la potencia. El flujo hacia el ánodo también ha sido usado en reactores utilizando mediadores exógenos (Sell y col., 1989).

2.1.2 Cátodo

Debido a su buen desempeño, el ferrocianuro de potasio ($K_3[Fe(CN)_6]$) es muy popular como un aceptor experimental de electrones en las celdas microbianas de combustibles (Park y Seikus, 2003). La ventaja del ferrocianuro es el bajo sobrepotencial y la desventaja de su empleo es la oxidación insuficiente por oxígeno, lo que requiere que el catolito debe ser reemplazado regularmente. El desempeño a largo plazo del sistema puede verse afectado por difusión del ferrocianuro a través de la MIP y dentro de la cámara anódica.

El oxígeno es el aceptor de electrones más adecuado para una CMB debido a su alto potencial de oxidación, disponibilidad, bajo costo (es gratis), sustentabilidad y la carencia de residuos químicos. La elección del material del cátodo afecta de manera importante el desempeño y su variedad de aplicaciones (Cheng y col., 2006a). Para incrementar la velocidad de reducción del oxígeno, los catalizadores de platino son usados comunmente para oxígeno disuelto (Reimers y col., 2001) o cátodos de difusión de gas (Liu y col., 2004). Para reducir el costo de la CMB, la cantidad de platino puede mantenerse a 0.1 mg/cm (Cheng y col., 2006a). La estabilidad a largo plazo del platino

necesita ser investigada todavía. Recientemente, metales nobles han sido propuestos como cátodos para las CMB (Zhao y col., 2005; Cheng y col., 2006a).

2.1.3 Membrana de intercambio de protones (MIP)

La mayoría de los diseños de CMB requieren la separación de la cámara anódica y la cámara catódica por una membrana de intercambio de protones. La MIP más comúnmente utilizada es el Nafion (DuPont Co., USA), el cual está disponible con números proveedores (Aldrich and Ion Power, Inc.). También existen otras opciones como Ultrex CMI-7000 (Membranes International Incorp., Glen Rock, NJ) que también son adecuadas para CMB (Rabaey y col., 2004). Cuando se usan las membranas de intercambio de protones, es importante tener en cuenta que pueden ser permeables a químicos, tales como el oxígeno, ferrocianuro, otros iones o materia orgánica usada como sustrato. El mercado de las membranas está en constante crecimiento y se requieren más estudios para evaluar los efectos de la membrana en el desempeño y estabilidad a largo plazo (Rozendal y col., 2006).

2.2 Condiciones de operación

Hasta este momento, el desempeño de las CMB a nivel laboratorio es mucho menor que el desempeño ideal de estos sistemas. Puede haber muchas razones posibles. El desempeño de una CMB es alterado por muchos factores incluyendo el tipo de microorganismos utilizados, el tipo y concentración de la biomasa utilizada como combustible, la fuerza iónica, el pH, la temperatura y la configuración del reactor (Liu y col., 2005b). Los parámetros de operación pueden regularse para bajar la polarización y para aumentar el desempeño de una CMB.

2.3 pH y electrolito

Sin una solución amortiguadora en una CMB, obviamente existirá una diferencia de pH entre la cámara anódica y la cámara catódica, aunque teóricamente no habría cambio de pH cuando la velocidad de reacción de protones, electrones y oxígeno en el cátodo es igual a la velocidad de producción de protones en el ánodo. La membrana de intercambio de protones causa una barrera en el transporte a través de la membrana de difusión de protones, por lo que el transporte de protones a través de la membrana es más lento que su velocidad de producción en el ánodo y su velocidad de consumo en la cámara catódica en la etapa inicial de la operación de la CMB, de este modo hay una diferencia de pH. Sin embargo, la diferencia de pH incrementa la fuerza motriz de la difusión de protones de la cámara anódica a la cámara catódica y finalmente forma un equilibrio dinámico. Algunos de los protones generados con la biodegradación de sustratos orgánicos transferidos a la cámara catódica pueden reaccionar con el oxígeno disuelto mientras algunos protones son acumulados en la cámara anódica cuando ellos no se transfieren a través de la membrana de intercambio de protones. Gil y col. (2003) detectaron una diferencia de pH de 4.1 después de 5 horas de operación con un pH inicial de 7 sin utilizar amortiguadores (buffer). Con la adición de un amortiguador de fosfatos (pH 7), el cambio de pH en el ánodo y cátodo fue de menor de 0.5 unidades y la salida de corriente se incrementó alrededor de 1 a 2 veces.

Sin embargo, el proceso microbiano anódico prefiere un pH neutro y las actividades microbianas disminuyen en un pH más alto o más bajo, por lo que el empleo de amortiguadores es fundamental (He y col., 2008).

2.4 Mecanismos de transferencia de electrones

La transferencia extracelular de electrones se puede definir como el proceso en el cual los electrones derivados de la oxidación de compuestos orgánicos son transferidos a la superficie externa de la célula para reducir un aceptor terminal de electrones extracelular (Lovley, 2008). Se han planteado diferentes mecanismos para explicar cómo los microorganismos liberan los electrones al electrodo: Transferencia directa con la participación de citocromos, transferencia con ayuda de mediadores externos o producidos por el mismo organismo y transferencia por medio de los nanocables bacterianos o *pili*.

2.4.1 Transferencia directa de electrones al electrodo

Los electrógenos son microorganismos que conservan la energía permitiendo el crecimiento por la oxidación de compuestos orgánicos a dióxido de carbono y con la transferencia directa de electrones a los ánodos de las CMB (Lovley y Kevin, 2008). Estos microorganismos son conocidos también como anodofílicos. Entre los microorganismos más estudiados de esta clase se encuentran los *Geobacter* y *Rhodospirillum rubrum*; los cuales poseen mecanismos internos de transporte de electrones y no requieren la ayuda de mediadores para liberar dichos electrones al ánodo. La producción de electricidad utilizando microorganismos electrógenos en la CMB tiene algunas ventajas significativas (Bond y Lovley, 2003). Una de ellas es la completa oxidación de la materia orgánica a dióxido de carbono que estos microorganismos hacen posible y que se traduce en una alta eficiencia coulombica en el proceso (Lovley y Nevin, 2008). Otra ventaja utilizando electrógenos es su sustentabilidad a largo plazo. Se han reportado CMB que han sido operadas por más de 2 años sin bajar la producción de electricidad (Lovley y Nevin, 2008).

La reacción que se lleva a cabo en el ánodo sin mediadores se ha estudiado principalmente en los *Geobacteraceae*, en este proceso el ánodo actúa como aceptor final de electrones de manera similar a como lo hacen con los óxidos minerales sólidos que se encuentran en el subsuelo, su hábitat natural. Los *Geobacteraceae* son un grupo de microorganismos capaces de acoplar la respiración anaerobia a la reducción de metales en el ambiente. Debido a su metabolismo son capaces de biorremediar varios metales pesados incluyendo el Uranio(VI), Vanadio(VI) y Cromo(VI); así como biodegradar varios contaminantes orgánicos como los hidrocarburos monoaromáticos. Recientemente dicha especie se ha usado para generar electricidad a partir de desechos orgánicos, ya que su metabolismo único la hace sobresaliente en este campo (Lovley, 2008).

Geobacter pertenece a los microorganismos reductores de metales, los cuales producen energía útil biológicamente en forma de ATP durante la reducción de óxidos de metales bajo condiciones anaerobias en suelos y sedimentos. Su característica principal es la habilidad para oxidar compuestos orgánicos como ácidos grasos, alcoholes, compuestos monoaromáticos por la vía de los ácidos

tricarboxílicos, mediante la transferencia de electrones a óxidos de Fe(III) insolubles, sustancias húmicas u óxidos de Mn(IV) (Lovley, 2008).

La mayoría de los estudios relacionados con la transferencia de electrones se han hecho utilizando *Geobacter sulfurreducens*, ya que su genoma se conoce completamente y se sabe que es un gran generador de potencia. La manera en que esta bacteria transfiere electrones al electrodo, es a través de una serie de citocromos tipo *c* (más de 100 codificados en su genoma), asociados a la membrana interna, periplasma y membrana externa (Methé y col., 2003; Lovley, 2008).

Rhodoferrax ferrireducens, es también una bacteria de especial importancia en la producción de bioelectricidad, fue aislada de sedimentos del subsuelo como un reductor de Fe(III), oxida azúcares como glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y xilosa a CO₂ con el 80% de la recuperación de los electrones en forma de electricidad. La gran producción de energía se le atribuye a la cantidad de células adheridas a la superficie del electrodo durante largos periodos de tiempo y a su habilidad para mantenerse activa. Por lo que, debido a la conversión de varios tipos de azúcares a electricidad y a su capacidad de mantenimiento sin disminuir su desempeño, *Rhodoferrax* es un candidato ideal para ser utilizado en las CMB (Chaudhuri y Lovley, 2003; Du y col., 2007; Riso y col., 2009).

2.4.2 Transferencia con ayuda de mediadores

Un mediador es un compuesto que puede entrar en la célula, aceptar electrones de varios acarreadores intracelulares de electrones, salir de la célula en estado reducido y entonces donar los electrones al ánodo. Estos mediadores juegan un papel fundamental en la transferencia de electrones, en aquellos microorganismos que son incapaces de transferir electrones al ánodo directamente.

2.4.2.1 Mediadores producidos por el mismo microorganismo

Los microorganismos que tienen la capacidad de reducir Fe(III) enfrentan el problema de cómo tener acceso efectivo a un aceptor de electrones que no puede difundirse en la célula. Las bacterias del género *Shewanella* han resuelto este problema liberando quinonas solubles que pueden acarrear electrones de la superficie celular a óxido de Fe(III) aunque éste se encuentre a una distancia considerable de la célula. Se ha reportado que *Shewanella* tiene la capacidad de transferir electrones a metales localizados a más de 50 µm de la superficie de la célula (Lovley, 2008).

Las bacterias del género *Shewanella* son miembros de las Proteobacterias, son microorganismos acuáticos con una amplia distribución alrededor del mundo: Forman un grupo diverso de bacterias anaerobias facultativas que se encuentran en ambientes marinos y de agua dulce (Hau y Gralnick, 2007). Son fisiológicamente diversos, por lo que pueden tener varias aplicaciones biotecnológicas, como son, la bioremediación de compuestos clorados, radioactivos y otros contaminantes ambientales, así como la generación de energía.

Las bacterias *Shewanellae* pueden respirar empleando un diverso grupo de aceptores de electrones, lo que les ha permitido adaptarse a ambientes extremos y variados. Estos organismos son fáciles de

crecer y manejar en un laboratorio, por lo que muestran un gran potencial para la biorremediación de varios contaminantes ambientales y para producir electricidad.

Diversos estudios han sugerido que las células de *Shewanella* tienen la capacidad para producir y secretar acarreadores endógenos de electrones para promover la reducción de óxidos de Fe(III), aunque dichos compuestos no han sido totalmente identificados, han surgido reportes que intentan identificarlos. Recientemente se demostró que este microorganismo produce flavinas que emplean como mediadores para la transferencia de electrones fuera de la célula (Von Canstein y col., 2007; Marsili y col., 2008).

El mecanismo de transferencia de electrones hacia la superficie del electrodo, por esta bacteria, no ha sido elucidado, pero son de vital importancia los citocromos localizados en la membrana. Sin embargo, se cree que los nanocables o *pili* de *Shawenella*, puede facilitar la transferencia de electrones en distancias muy largas. Las aplicaciones de esta bacteria en los aparatos generadores de corriente incluyen el tratamiento de aguas residuales, la conversión de biomasa de desecho y el uso como proveedor de electricidad a sensores ambientales en cuerpos acuáticos como lagos, ríos y océanos, donde los sedimentos ricos en materia orgánica proveen de una fuente de electrones (Hau y Gralnick, 2007).

2.4.2.2 Mediadores adicionados exógenamente

En el caso de microorganismos que no son capaces de producir sus propios mediadores y que son incapaces de transferir eficientemente los electrones derivados del metabolismo central afuera de la célula, requieren de la adición de mediadores exógenos que transporten los electrones al ánodo.

Las propiedades que se buscan en un compuesto para ser utilizado como un buen mediador son (Bullen y col., 2006):

- a) Un potencial bastante diferente del potencial del organismo para facilitar la transferencia de electrones mientras se mantiene un alto potencial electroquímico en la celda
- b) Un alto coeficiente de difusión en el electrolito y en la membrana celular
- c) Rápida transferencia de electrones de el organismo al electrodo
- d) Capacidad para repetidos ciclos redox
- e) No citotoxicidad
- f) Buenos perfiles de absorción-adsorción-resorción al organismo, electrodo y otras superficies de la CMB, de forma que permanezca en la solución y permanezca disponible para el proceso

Ejemplos de compuestos de este tipo son; rojo neutro, fenazinas, fenotiazinas, entre otros (Lovley, 2006).

Existen varios problemas y desventajas en el uso de mediadores para facilitar el transporte de electrones, entre ellos se encuentra el hecho de que los compuestos utilizados suelen ser tóxicos para los seres humanos, por lo que se debe evitar la utilización de estos compuestos en los procesos de

producción de electricidad en lugares que se exponga el medio ambiente a ellos, como puede ser en plantas de tratamiento de aguas residuales, sedimentos acuáticos, entre otros.

Otra desventaja es el corto tiempo que se mantienen estables estos compuestos, lo cual, limita el tiempo de vida de la CMB. Además, incluso en presencia de mediadores, los microorganismos fermentativos producen ácidos por fermentación, lo que eventualmente desestabiliza el sistema, ya que la mayoría de los electrones presentes inicialmente en el combustible se recuperan en la fermentación de estos ácidos, en mayor cantidad que como electricidad, y, por lo tanto, la eficiencia es baja en estos sistemas sin importar el uso de los mediadores.

2.4.3 Transferencia por medio de los nanocables bacterianos (pili)

En estudios recientes se ha descubierto la presencia de *nanocables* en algunos microorganismos *electrigenos*. Estos *pili* se han identificado en bacterias como *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella oneidensis*, una cianobacteria fototrófica *Synechocystis* y un microorganismo fermentador termofílico *Pelotomaculum thermopropionicum* (Gorby y col., 2006).

Existen opiniones encontradas con respecto a la presencia de estas estructuras en las bacterias que pueden reducir óxidos de Fe(III) o Mn(IV). El crecimiento en Fe (III) requiere de la presencia de *pili* especializados, los cuales son conductores de electrones y se encuentran localizados a un costado de la célula. Estos *pili* son los encargados de realizar la conexión eléctrica entre la célula y los óxidos de Fe(III) y deben estar en contacto directo con el ánodo de la CMB o formando una red entre las células para facilitar la transferencia de electrones a través de la biopelícula lo mejor posible, pues se sabe que *Geobacter* crece en monocapas y los *pili* proveen soporte estructural en la formación de dicha biopelícula y son esenciales en la generación de corriente (Lovley, 2006).

Utilizando *G. sulfurreducens* se realizó un estudio en el que se evalúa la transferencia de electrones en presencia de Fe(III) soluble e insoluble y el papel que juega la presencia o ausencia de *pili* en este proceso. *G. sulfurreducens* produce *pili* durante su crecimiento en óxido de Fe(III) pero no en Fe(III) soluble, lo que hace suponer que la producción de *pili* es una manera de alcanzar el Fe(III) no soluble en los sedimentos. Reguera y col. (2005), evaluaron la conductividad eléctrica a través de los *pili* mediante microscopía de fuerza atómica. (AFM por sus siglas en inglés). Los resultados en esos estudios muestran que los *pili* de *G. sulfurreducens* son altamente conductivos e indican que *Geobacter* requiere de estas estructuras para poder reducir óxidos de Fe(III) en el ambiente. Estos resultados nos llevan a pensar que la producción de apéndices conductores en bacterias que reducen óxidos metálicos es un mecanismo de transferencia de electrones de la célula hacia el aceptor externo de electrones (Reguera y col., 2005).

2.5 Microorganismos en una CMB

Como ya se mencionó anteriormente, una CMB es un dispositivo que utiliza microorganismos para generar una corriente eléctrica a través de la oxidación de materia orgánica. Los microorganismos en la CMB metabolizan sustratos orgánicos y extracelularmente transfieren electrones a la superficie del electrodo. La oxidación de la materia orgánica libera electrones y protones del sustrato oxidado. Los

electrones son transferidos al ánodo y después al cátodo a través de una red eléctrica. Los protones migran hacia el cátodo y se combinan con los electrones y una sustancia química, como el oxígeno, que se reduce en la superficie del cátodo. Por lo tanto, una corriente eléctrica se genera de forma similar a una celda de combustible químico, pero con microorganismos actuando como catalizadores en la superficie del ánodo. Los catalizadores, en general, aumentan la velocidad de una reacción sin cambiar o recibir energía de la reacción que catalizan. Los microorganismos en una CMB no son verdaderos catalizadores, puesto que obtienen energía de la oxidación del sustrato para apoyar su propio crecimiento y crear una pérdida de energía, la que posteriormente se aprovecha. Los microorganismos en una CMB pueden obtener toda la energía y el carbono que se necesitan para su crecimiento de la oxidación de la materia orgánica compleja y, como tal, la tecnología CMB se ha considerado autosuficiente (Minteer y col., 2007). Siempre que las condiciones se mantengan favorables para la producción corriente en el ánodo con microorganismos asociados, las CMB tienen el potencial para producir electricidad de forma indefinida.

Se ha encontrado que una gran diversidad de microorganismos se puede asociar con los electrodos en los sistemas de CMB, sobre todo cuando un inóculo del medio ambiente se utiliza para alimentar a la CMB (Bond y col., 2002; Kim y col., 2004; Phung y col., 2004; Rabaey y col., 2004; Aelterman y col., 2006a). Una biopelícula se define como un conjunto de bacterias asociadas a una superficie. Es probable que no todos los organismos asociados a una biopelícula en el ánodo puedan interactuar directamente con él, pero pueden interactuar indirectamente a través de otros miembros en la comunidad de la biopelícula. Por ejemplo, *Brevibacillus* sp. PTH1 resultó ser un miembro abundante en sistemas de CMB. La producción de energía por *Brevibacillus* sp. PTH1 es baja a menos que se cultive con *Pseudomonas* sp. (Pham y col., 2008). Los cultivos puros capaces de producir corriente en una CMB están representados por: *Firmicutes* (Park y col., 2001), *Acidobacteria* (Bond y Lovley, 2005), cuatro de las cinco clases de *Proteobacteria* (Chaudhuri y Lovley, 2003; Rabaey y col., 2004; Zhang y col., 2004; Zuo y col., 2007; Borole y col., 2008; Zhang y col., 2008; Zhao y col., 2008), así como cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Walker y Walker, 2006) y *Hansenula anomala* (Prasad y col., 2007). Estos organismos interactúan con un ánodo a través de una variedad de procesos directos e indirectos produciendo corriente en diversos grados.

Una medida común de la eficiencia de cualquier CMB es la eficiencia coulombica, es una medida del número de coulombs recuperados como corriente eléctrica en comparación con el número máximo teórico de coulombs recuperables del sustrato orgánico añadido al sistema. La eficiencia coulombica de la CMB depende, en parte, de los microorganismos que están llevando a cabo la oxidación y del sustrato, del cual los electrones se derivan (Torres y col., 2007; Freguia y col., 2008; Lee y col., 2008). Ésto se debe a las diferentes vías metabólicas utilizadas por los diferentes microorganismos y los mecanismos por los cuales los microorganismos realizan la transferencia de electrones hacia el ánodo. Para ganar la mayor cantidad teórica de energía a partir de un sustrato orgánico, el sustrato debe ser completamente oxidado a dióxido de carbono con una transferencia eficiente de los electrones hacia el electrodo. Sin la oxidación completa del sustrato, la energía se pierde en el sistema en forma de sustrato sin oxidar. Por ejemplo, estudios con *Shewanella oneidensis* demostraron que no oxidaron por completo el lactato como sustrato en la CMB, dejando escapar electrones en forma de productos de desecho, tal como el acetato; este sistema tuvo una eficiencia coulombica de aproximadamente 56.2% (Lanthier y col., 2008). Cuando los microorganismos en una

CMB son capaces de oxidar completamente el sustrato orgánico a CO₂ se han reportado mayores eficiencias coulombicas. Las bacterias capaces de oxidar por completo un sustrato orgánico en una CMB son: *Geothrix fermentans* (94% de eficiencia coulombica oxidando acetato) (Bond y Lovley, 2005), las especies *Geobacter* (aproximaciones al 100% de eficiencia coulombica oxidando acetato o el 84% oxidando benzoato) (Bond y col., 2002; Bond y Lovley, 2003; Nevin y col., 2008), y *Rhodoferax ferrireducens* (83% de eficiencia coulombica oxidando glucosa) (Chaudhuri y Lovley, 2003). Las eficiencias coulombicas pueden variar en gran medida cuando se utilizan inóculos del medio ambiente, tales como aguas residuales, con un máximo de 65-89% después del enriquecimiento microbiano (Rabaey y col., 2003).

Una serie de otros indicadores se han propuesto para medir la eficiencia de las CMB y para la comparación de la tecnología CMB con otras tecnologías de conversión de materia orgánica en energía. Estos incluyen la eficiencia de captura energética, la eficiencia de voltaje, la eficiencia de transferencia de masa y la eficiencia energética del proceso (Rittmann y col., 2008a).

Dependiendo de la pérdida de energía debido a la reacción en el cátodo y el metabolismo bacteriano, se puede obtener un voltaje de 0.3 a 0.5 V a partir de sustratos orgánicos como la glucosa o el ácido acético (Logan, 2009). Los estudios están demostrando que cualquier compuesto degradable por las bacterias se puede convertir en electricidad (Pant y col., 2009). La gama de compuestos incluyen, pero no se limitan a: Acetato (Bond y Lovley, 2003; Nevin y col., 2008), glucosa (Kim y col., 2000), almidón (Lu y col., 2009), celulosa (Ren y col., 2008), paja de trigo (Zhang y col., 2009a), piridina (Zhang y col., 2009b), fenol (Luo y col., 2009), p-nitrofenol (Zhu y Ni, 2009) y soluciones complejas, como las aguas residuales urbanas (Liu y Logan, 2004; You y col., 2006), residuos de fábrica de cerveza (Feng y col., 2008), lixiviados (Gálvez y col., 2009), residuos de la industria del chocolate (Patil y col., 2009), ácidos grasos mezclados (Freguia y col., 2009) y compuestos de petróleo (Morris y Jin, 2009).

2.6 Los protones en la biopelícula

La oxidación de la materia orgánica produce tanto protones y electrones. Los electrones son removidos casi instantáneamente a través de la biopelícula y el circuito eléctrico de la CMB. Los protones (más grandes) tienen que migrar fuera de la biopelícula y después hacia el cátodo. Ésto ocurre a un ritmo mucho más lento y puede causar una baja en la producción de energía. Por cada electrón producido en forma de corriente, también se produce un protón dentro de la biopelícula. Se ha observado un gradiente de protones a través de la biopelícula, entre la superficie del ánodo y el líquido del medio (Franks y col., 2009). La producción de corriente por los microorganismos en la CMB causa un aumento de diez veces la concentración de protones, equivalente a 1 unidad de pH. También se ha observado que la disminución del pH en el volumen del líquido disminuye la producción de energía (Torres y col., 2008; Nevin y col., 2009). Modelos predicen que una acumulación de protones podría dar lugar a zonas de inactividad metabólica dentro de la biopelícula (Torres y col., 2008). Sin embargo, la actividad metabólica ha sido observada a lo largo de toda la biopelícula (Lee y col., 2009; Franks y col., 2010).

2.7 Consorcios microbianos y sintrofia

La sintrofia se puede definir como la asociación o dependencia de 2 o más tipos diferentes de organismos que combinan sus capacidades metabólicas para catabolizar un sustrato que no puede ser catabolizado por alguno de estos organismos de manera independiente (Torres y col., 2007; Rittmann y col., 2008b, Torres y col., 2008a). Este concepto es aplicable para las CMB ya que para dar el siguiente paso y diseñarlas para la producción a escala industrial, se debe pensar en utilizar sustratos complejos, los cuales poseen diversos nutrientes, y los microorganismos utilizados deben ser capaces de procesarlos o por lo menos no verse afectados por su presencia. Un buen ejemplo de esto es la producción de metano e hidrógeno o electricidad por sintrofia en sistemas de bioenergía microbianos.

La materia orgánica compleja debe ser hidrolizada y fermentada a productos simples que pueden ser convertidos directamente a los productos finales deseados. Para producir CH_4 , los metanogénicos usan solo acetato o H_2 y CO_2 y todos los electrones deben ser transportados hacia H_2 y acetato. Para la generación de biohidrógeno, el producto final de la fermentación debe ser H_2 , lo cual significa que otros productos de la fermentación como acetato, propionato, etanol y butirato, son consumidores indeseables de electrones. La síntesis de estos productos reduce la producción global de H_2 . Así mismo, la oxidación de H_2 para formar CH_4 debe ser suprimida cuando el objetivo principal es la producción de hidrógeno. En un proceso de este tipo, la acumulación excesiva de hidrógeno puede detener termodinámicamente el proceso de fermentación que lo produce, y por lo tanto una sintrofia balanceada entre bacterias que producen por fermentación hidrógeno y microorganismos metanogénicos que oxidan el hidrógeno, es la clave para llevar a cabo la metanogénesis de manera efectiva. En procesos de producción de biohidrógeno, los metanogénicos deben ser suprimidos, lo cual significa que el H_2 debe ser recolectado rápidamente para evitar su acumulación. En una CMB, la acumulación de hidrógeno puede llevar a dos resultados indeseables: Disminución de la velocidad de fermentación o desviación del flujo de electrones hacia CH_4 (Freguia y col., 2008).

2.8 Diseños de CMB

En la actualidad existen diferentes configuraciones de CMB (Figuras 2.3 y 2.4). Un diseño ampliamente utilizado y de bajo costo es la CMB de dos cámaras construida en forma de “H”, que consiste por lo general de dos contenedores conectados por un tubo que contiene en su interior un separador que suele ser una membrana de intercambio de protones (MIP) como Nafion (Park y Zeikus, 1999; Bond y col., 2002; Logan y col., 2005a; Min y col., 2005) o Ultrex (Rabaey y col., 2003) o un puente salino (Min y col., 2005) (Figuras 2.3a y 2.3f). La clave de este diseño, es elegir una membrana que permita a los protones a pasar entre las cámaras (La MIP también se conoce como membrana de intercambio de protones) y que no acepte el paso del sustrato o del aceptor de electrones a la cámara catódica. En la configuración “H”, la membrana se fija en el centro del tubo que conecta a los frascos (Figura 2.3f). Sin embargo, el tubo por sí mismo no es necesario mientras las dos cámaras se mantengan separadas. Las cámaras pueden estar presionadas sobre ambos lados de la membrana y sujetarse entre sí para formar una gran superficie (Figura 2.3b). Una forma económica de unir las botellas es utilizar un puente salino. Esto es, un tubo en U invertido que contiene una disolución de KCl y proporciona un medio conductor eléctrico entre dos disoluciones.

Los orificios del tubo en U se taponan con bolas de algodón para evitar que la disolución de KCl fluya hacia los recipientes, al tiempo que se permite el paso de aniones y cationes. El puente salino en una CMB produce poca energía debido a la alta resistencia interna observada.

Los sistemas “H” son aceptables para la investigación de parámetros básicos tales como la producción de energía utilizando nuevos materiales o la observación de comunidades microbianas que se presentan durante la degradación de compuestos específicos, pero en general, estos sistemas suelen producir bajas densidades de potencia. La cantidad de energía que se genera en estos sistemas se ve afectada por la superficie del cátodo con respecto a la del ánodo (Oh y col., 2004) y por la superficie de la membrana (Oh y Logan, 2006). La densidad de potencia producida por estos sistemas suele estar limitada por la alta resistencia interna y pérdidas en los electrodos. Al comparar la energía producida por estos sistemas, tiene más sentido compararlos sobre la base de ánodos, cátodos y membranas del mismo tamaño (Oh y Logan, 2006).

El uso de ferrocianuro como aceptor de electrones en la cámara del cátodo incrementa la densidad de potencia debido a la disponibilidad de un buen aceptor de electrones a altas concentraciones. El ferrocianuro incrementa la potencia entre 1.5 y 1.8 veces en comparación con un cátodo de platino y oxígeno disuelto (diseño H con una MIP de Nafion) (Oh y Logan, 2006). Las densidades de potencia más altas registradas para sistemas CMB han sido sistemas de baja resistencia interna con ferrocianuro en el cátodo (Rabaey y col., 2004; Rabaey y col., 2003). Aunque el ferrocianuro es un excelente catalizador en términos de rendimiento del sistema, éste debe ser regenerado químicamente y su uso no es sostenible en la práctica. Por lo tanto, el uso de ferrocianuro se limita a estudios de laboratorio.

No es indispensable poner el cátodo en agua o en una cámara separada cuando se utiliza oxígeno en el cátodo. El cátodo se puede poner en contacto directo con el aire (Figuras 2.3e, 2.3c, 2.3d), ya sea en presencia o ausencia de una membrana (Liu y Logan, 2004). También se han registrado grandes densidades de potencia utilizando oxígeno como aceptor de electrones cuando cátodos acuosos se sustituyen con cátodos de aire. En la configuración más simple, el ánodo y el cátodo se colocan a ambos lados de un tubo, con el ánodo sellado contra una placa plana y el cátodo expuesto al aire por un lado y al agua por el otro (Figura 2.3e). La utilización de oxígeno por las bacterias en la cámara del ánodo puede resultar en una menor eficiencia coulombica (definida como la fracción de electrones recuperados como corriente versus la recuperación máxima posible, véase más adelante) (Liu y Logan, 2004).

Otras variaciones de estos diseños básicos han surgido en un esfuerzo por aumentar la generación de energía o para establecer un flujo continuo a través de la cámara del ánodo, en contraste con los sistemas anteriores, los cuales fueron operados en modo batch (tandas de alimentación al ánodo). Estos sistemas se han diseñado con un reactor cilíndrico exterior con un tubo concéntrico interior que funciona como cátodo (Habermann y Pommer, 1991; Liu y col., 2004) (Figura 2.4d) y con un reactor cilíndrico interno (ánodo que consta de medios granulares) con el cátodo en el exterior (Rabaey y col., 2005a) (Figura 2.4a). Otra variación, es el diseño del sistema de un reactor de biopelícula de flujo ascendente de lecho fijo, con el líquido fluyendo continuamente a través de ánodos porosos

hacia una membrana que separa el ánodo de la cámara catódica (He y col., 2005) (Figura 2.4b). Otros sistemas se han diseñado para parecerse a las celdas de combustible de hidrógeno, en donde una MIP se intercala entre el ánodo y el cátodo (Figura 2.4c). Para aumentar el voltaje del sistema, las CMB se pueden apilar para formar una serie de placas planas o unir las celdas en serie (Aelterman y col., 2006a) (Figura 2.4e).

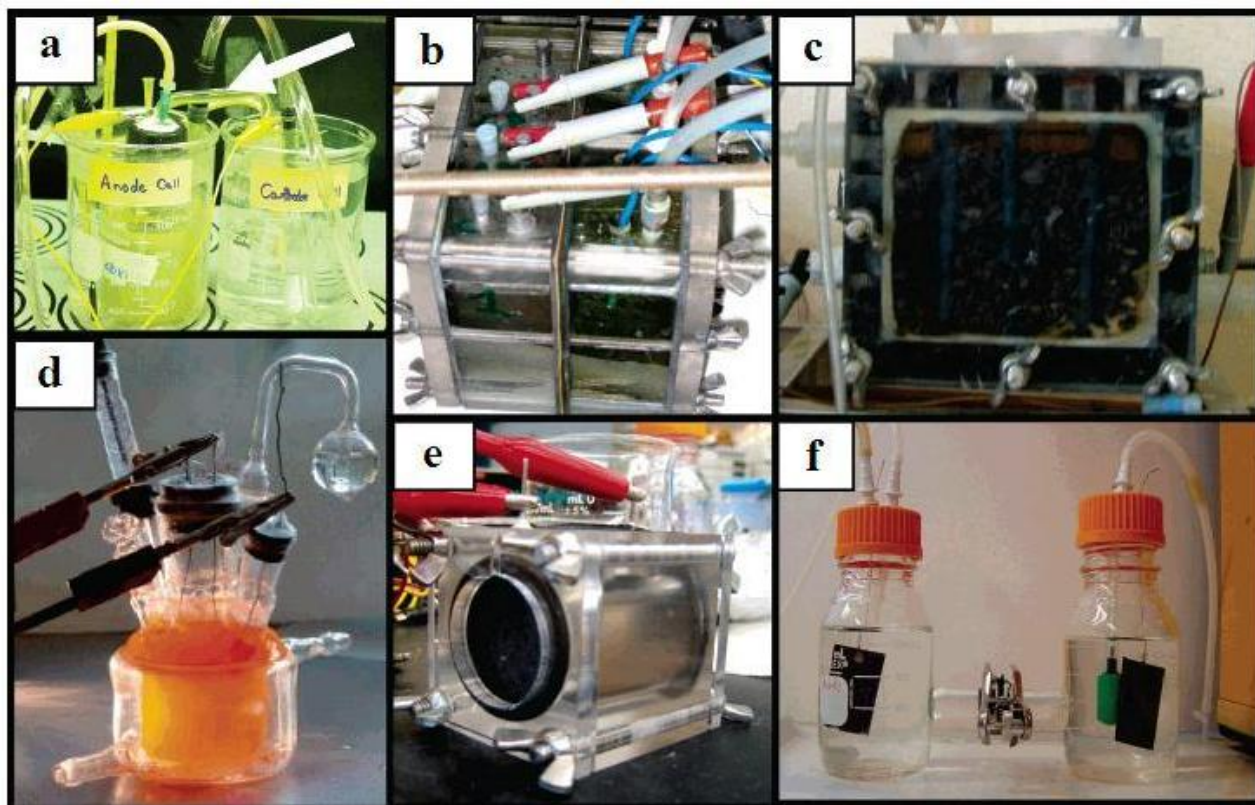


Figura 2.3 Diferentes diseños de CMB: (a) Sistema de fácil construcción que contiene un puente de sal (mostrado por la flecha) (Min y col., 2005); (b) Cuatro CMB alimentadas en tandas (batch-mode), las cámaras están separadas por una membrana (sin tubo) y están unidas por medio de tornillos (Rabaey y col., 2005b); (c) igual que b, pero con un flujo continuo a través del ánodo (Rabaey y col., 2005c); (d) CMB de tipo fotoheterotrófico (Rosenbaum y col., 2005); (e) CMB de una sola cámara con cátodo de aire (Liu y Logan, 2004); (f) sistema de dos cámaras tipo H que muestra las cámaras del ánodo y el cátodo equipadas con burbujeo de gas (Logan y col., 2005a).

Las CMB de sedimentos se construyen al colocar un electrodo dentro un sedimento marino rico en materia orgánica y sulfuros, y el otro al colocarlo en el agua por encima del sedimento, la electricidad puede ser generada a niveles suficientes como para alimentar algunos dispositivos marinos (Reimers y col., 2001; Tender y col., 2002). Los protones dirigidos por el agua de mar pueden producir una densidad de potencia de hasta 28 mW/m^2 . Discos de grafito pueden ser utilizados como electrodos (Reimers y col., 2001; Bond y col., 2002), aunque también se han utilizado electrodos en forma de malla de platino (Tender y col., 2002). Los sedimentos también se han colocado en sistemas H de dos cámaras para permitir la investigación de las comunidades bacterianas (Bond y col., 2002).

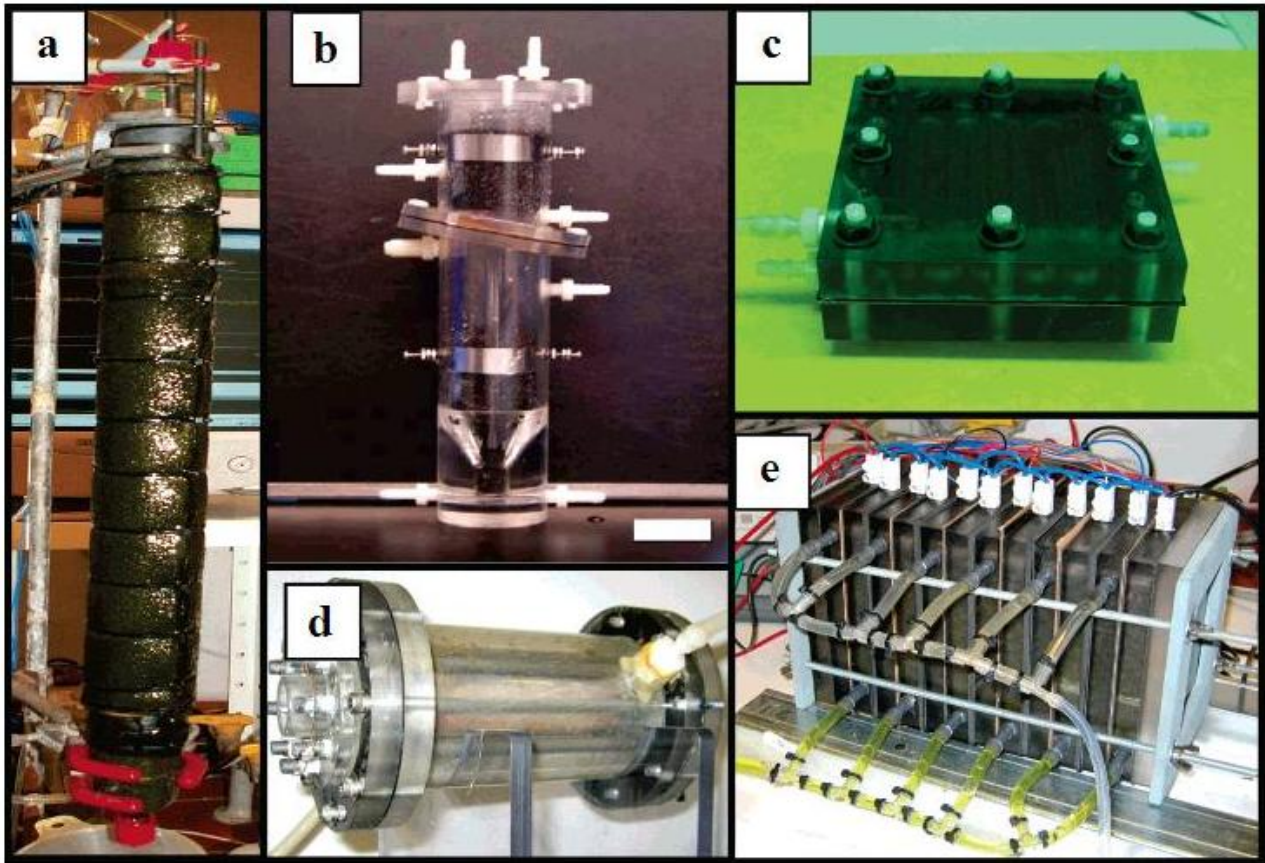


Figura 2.4 CMB utilizadas en operación continua: (a) CMB de tipo tubular de flujo ascendente con ánodo interior de grafito y cátodo exterior (Rabaey y col., 2005a); (b) CMB de tipo tubular de flujo ascendente con el ánodo debajo y el cátodo arriba, la membrana está inclinada (He y col., 2005); (c) Diseño de placa plana, un canal se divide en bloques de modo que el líquido puede fluir en una serpentina a través del electrodo (Min y Logan, 2004); (d) sistema de una sola cámara con un cátodo de aire interior concéntrico rodeado por una cámara que contiene barras de grafito como ánodo (Liu y col., 2004); (e) CMB apiladas, seis CMB separadas se unen en un solo bloque (Aelterman y col., 2006a).

2.8.1 Celda microbiana de combustible de producto

Este tipo de dispositivos no son “verdaderas” celdas de biocombustible. En general consisten en la producción de hidrógeno por medio de procesos de fermentación realizados en un recipiente totalmente independiente del que contiene la celda. El hidrógeno generado es usado para alimentar una celda de combustible H_2/O_2 como se muestra en la Figura 2.5. Para que un sistema de producto se considere como una verdadera celda de biocombustible, implica la combinación de las dos unidades de operación, de manera que el proceso microbiano y el de reacción de electrodo tengan lugar en el mismo compartimento (Figura 2.6).

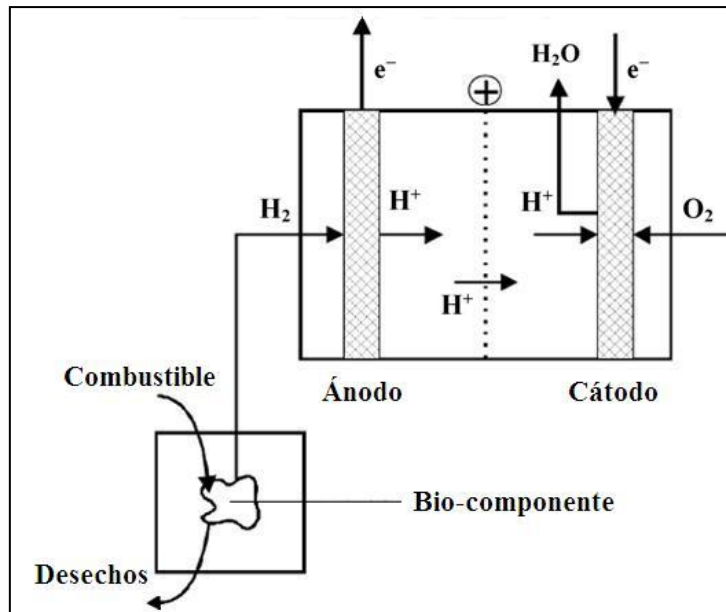


Figura 2.5. Sistema de tipo de producto: Fermentador externo que alimenta a la celda de combustible H₂/O₂ (Bullen y col., 2006)

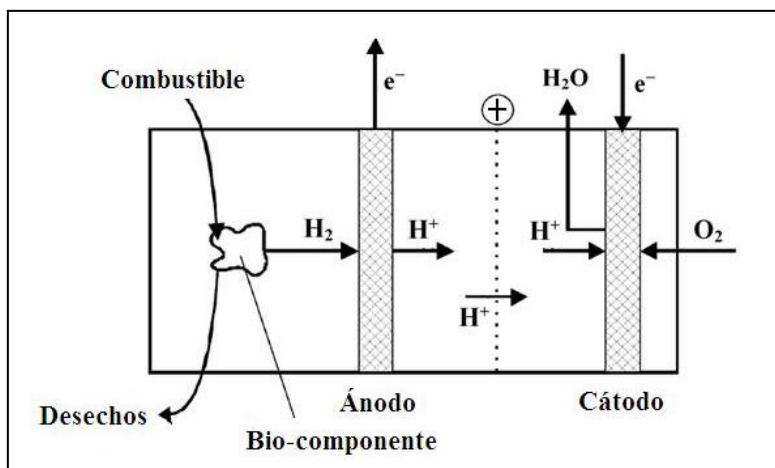
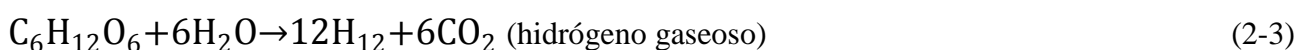
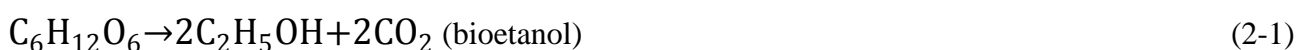


Figura 2.6 Sistema de tipo de producto: Compartimento fermentador/ánodo en la celda de biocombustible (Bullen y col., 2006)

Otros combustibles también se producen por procesos de producto; por definición los biocombustibles se obtienen de la manipulación de los procesos orgánicos. Entre las reacciones estequiométricas principales del metabolismo fermentativo microbológico están:



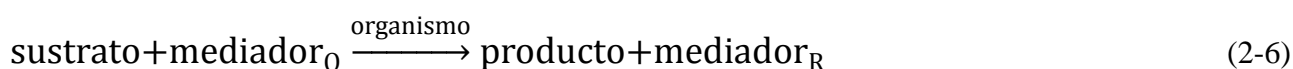
En la actualidad, también se han desarrollado procesos de productos microbianos para generar combustible a partir de los residuos, como la producción masiva de metano generada por los desechos de alimentos (Kim y col., 2002b).

Otro ejemplo es el de Maness y Weaver, que lograron la reacción de desplazamiento agua-gas produciendo H_2 y CO_2 a partir de CO y H_2O_2 usando bacterias fotosintéticas *Rhodocyclus gelatinosus* y *Rhodospirillum rubrum*.



2.8.2 Celda microbiana de combustible TEM difusa

Los organismos vivos utilizan las membranas internas y externas como un control eficaz de sus procesos redox del metabolismo, que sirve tanto para apoyar y proporcionar un ambiente adecuado para la realización de las reacciones de las enzimas como para regular el movimiento de electrones y químicos alrededor de las células. Sin una cuidadosa regulación de la transferencia de electrones y reacciones dentro de la célula daría lugar a un potencial intracelular uniforme, con lo cual el metabolismo se detendría. Desafortunadamente para los propósitos de los investigadores que tratan de producir una celda de biocombustible, estas regulaciones muy a menudo hacen difícil “fugar” electrones de la célula al electrodo. Las celdas TEM utilizando células completas que se basan en la reducción (oxidación) de mediadores dentro de la célula o en la superficie celular (reacción química 2-6) seguida de su oxidación (reducción) en el ánodo (cátodo) (reacción química 2-7).



Las propiedades deseables para un mediador son: Un potencial lo suficientemente diferente del potencial del organismo para facilitar la transferencia de electrones mientras mantiene un alto potencial electroquímico en la celda, un alto coeficiente de difusión en el electrolito y (posiblemente) a través de la membrana celular, rápida transferencia de electrones entre el organismo y el electrodo, capacidad para repetidos ciclos redox, no citotoxicidad y buenos perfiles de absorción-adsorción-resorción al organismo, electrodo y otras superficies de la celda, de forma que permanezca en la solución y se mantenga disponible para el proceso (Bullen y col., 2006).

2.8.3 Celda microbiana de combustible TEM no difusa

La transferencia directa de electrones en un sistema de celda microbiano de combustible es ejecutada por un cultivo de microorganismos en la superficie del electrodo, combinado ya sea una superficie modificada para aceptar electrones desde la célula a través de la incorporación de un mediador o un sistema de iones metálicos (TEM no difuso), o un organismo con transferencia de electrones natural

(o a través de la modificación genética) incorporada dentro de la membrana celular (TDE). En la Figura 2.7 se muestra un sistema de transferencia mediada de electrones (TEM), en este caso entre *E. coli* y rojo neutro (mediador) con un electrodo de carbón modificado (Park y col., 2000). La Figura 2.8 muestra la forma natural en que los citocromos en la membrana externa de algunos organismos pueden permitir la transferencia directa de electrones (TDE) a un electrodo no modificado, en este caso con *S. putrefaciens* (Kim y col., 1999).

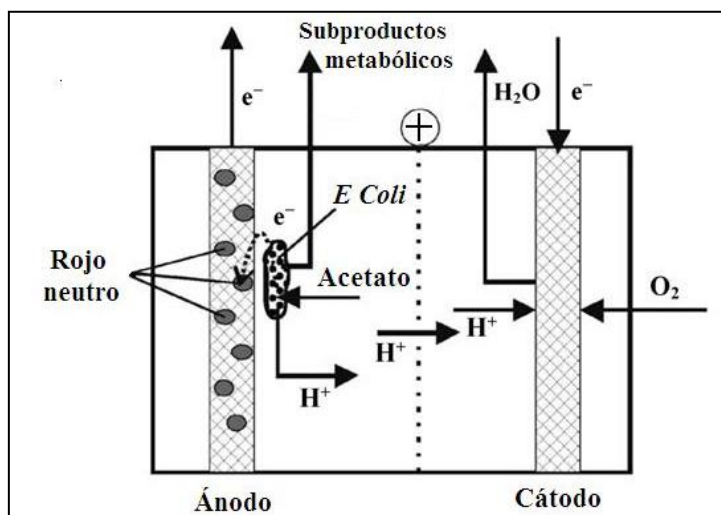


Figura 2.7 Sistema TDE (Bullen y col., 2006)

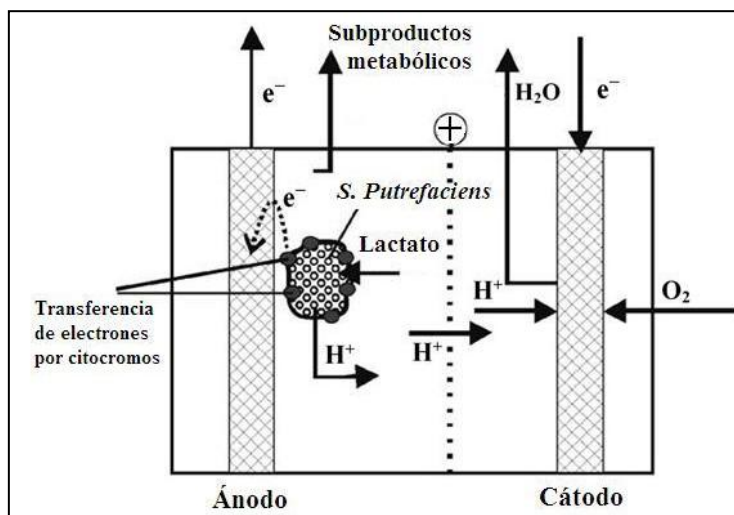


Figura 2.8 Sistema TEM (Bullen y col., 2006)

2.8.4 Celda fotoquímica de combustible

Este tipo de celdas tienen mucho en común con otras celdas microbianas de combustible, difiriendo sólo en que la energía convertida en electricidad proviene originalmente de una fuente de luz en

lugar de un sustrato, y con el requisito adicional de que cualquier mediador usado en este sistema debe ser estable en presencia de luz. Se pueden considerar dos modos de operación:

- En primer lugar, la energía puede ser producida y almacenada por las células durante la iluminación y posteriormente liberarla y procesarla como con una celda de biocombustible no fotosintética
- En segundo lugar, la energía puede ser extraída por un mediador que transporta los electrones durante la iluminación

Existe poco avance en el desarrollo de estos sistemas, los trabajos más importantes pertenecen a: Seon y col. (1993), Yagishita y col. (1999) y Tsujimura y col. (2001).

Tsujimura y col. (2001) produjeron una celda fotoquímica de combustible sin usar combustible especial, en el que la reacción fotosintética anódica es la oxidación del agua para producir oxígeno diatómico y protones. Ésto se logró usando *Synechococcus* y 2,6-dimetil-1,4-benzoquinona (DMBQ) o diaminodurena (DAD) como mediador en el compartimiento del ánodo. En el compartimiento del cátodo se utilizó BOx (bilirrubina oxidasa) como biocatalizador con ABTS⁻² (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) como mediador. La potencia máxima obtenida de la celda fue de 0.13 mW (29 $\mu\text{W cm}^{-2}$, área proyectada de superficie) a un potencial de 0.26 V con una resistencia externa de 500 Ω . La eficiencia en la conversión de energía de la luz se calculó en un 1.9%. En la Figura 2.9 se muestra una celda fotoquímica de combustible (Tsujimura y col., 2001b) que emplea una cianobacteria fotosintética en el compartimiento del ánodo, usando la luz incidente para oxidar el agua a O₂ y los iones H⁺, y para reducir DMBQ (molécula mediador). El DMBQ es oxidado nuevamente en el ánodo como una reacción directa de electrodo. En el compartimiento catódico, el O₂ se reduce de nuevo a agua por la bilirrubina oxidasa mediada por ABTS, completando una reacción cíclica.

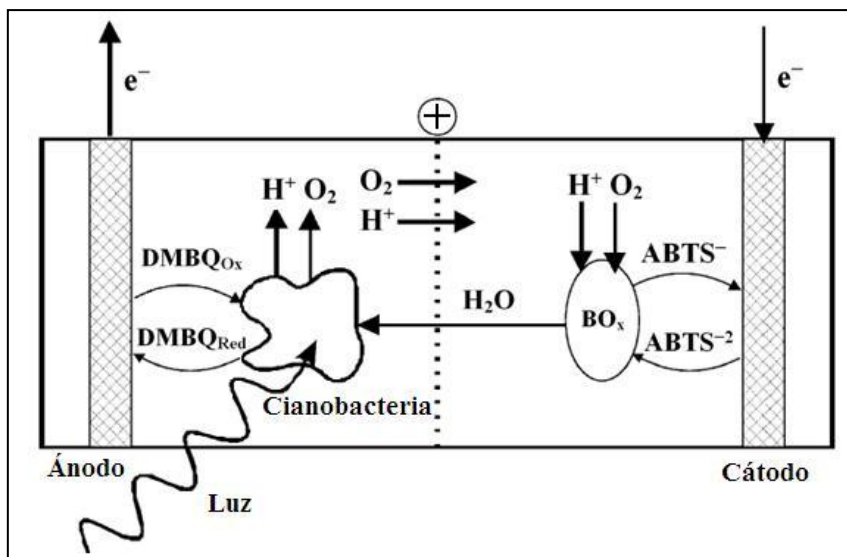


Figura 2.9 Celda fotoquímica de combustible (Bullen y col., 2006)

Capítulo 3. Caracterización de las CMB

3.1 Fundamentos de la generación de voltaje en una CMB

3.1.1 Termodinámica y la fuerza electromotriz

La electricidad se genera en una CMB sólo si la reacción global es termodinámicamente favorable. La reacción puede ser evaluada en términos de la energía libre de Gibbs, expresada en Joules (J), la cual es una medida del trabajo máximo que se puede derivar de la reacción (Newman, 1973; Bard y col., 1985), calculada como:

$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \ln(\pi) \quad (3-1)$$

donde

ΔG_r (J): es la energía libre de Gibbs para las condiciones específicas

ΔG_r^0 (J): es la energía libre de Gibbs en condiciones estándar: 298.15 K, 1 bar de presión y una concentración de 1 M para todas las especies

R (8.31447 J mol⁻¹ K⁻¹): es la constante universal de los gases

T (K): es la temperatura absoluta

Π (sin unidades): es el cociente de la reacción calculada como las actividades de los productos divididas por las de los reactivos

La reacción estándar de energía libre de Gibbs se calcula a partir de energías tabuladas de la formación de compuestos orgánicos en agua, las cuales están disponibles en muchas fuentes (Thauer y col., 1977; Amend y Shock, 2001; Alberty, 2003).

Para los cálculos en las CMB, es más conveniente evaluar la reacción en términos de la fuerza electromotriz total de la celda (E_{fem}), E_{fem} (V), definido como la diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo. Esto está relacionado con el trabajo, W (J), producido por la celda, o

$$W = E_{fem} Q = -\Delta G_r \quad (3-2)$$

donde

$Q = nF$: es la carga transferida en la reacción expresada en Coulombs y se determina por el número de electrones intercambiados en la reacción

n: es el número de electrones por mol de reacción

F (9.64853 × 10⁴ C/mol): es la constante de Faraday

Combinando estas dos ecuaciones se tiene:

$$E_{fem} = -\frac{\Delta G_r}{nF} \quad (3-3)$$

Si todas las reacciones son evaluadas en condiciones estándar, $\Pi = 1$, entonces:

$$E_{fem}^0 = -\frac{\Delta G_r^0}{nF} \quad (3-4)$$

donde

E_{fem}^0 (V): es la fuerza electromotriz estándar de la celda

Por lo tanto, se pueden utilizar las ecuaciones anteriores para expresar la reacción global en términos de los potenciales como:

$$E_{fem} = E_{fem}^0 - \frac{RT}{nF} \ln(\pi) \quad (3-5)$$

La ventaja de la ecuación anterior es que es positiva para una reacción favorable y crea directamente un valor de fem para la reacción. Esta fem calculada proporciona un límite superior para el voltaje de celda, el potencial real derivado de una CMB será menor debido a varias pérdidas potenciales.

3.1.2 Potenciales estándares de electrodo

Las reacciones que ocurren dentro de una CMB se pueden analizar en términos de las reacciones de media celda o por medio de las reacciones que ocurren por separado en el ánodo y el cátodo. De acuerdo con la convención de la IUPAC, los potenciales estándar (a 298 K, 1 bar, 1 M) se presentan como un potencial de reducción, es decir, la reacción se escribe como consumidora de electrones (Bard y col., 1985). Por ejemplo, si el acetato es oxidado por las bacterias en el ánodo, la reacción se escribe como sigue:



Los potenciales estándar se presentan en relación con el electrodo normal de hidrógeno (ENH), el cual tiene un potencial de cero en condiciones estándar (298 K, $p_{\text{H}_2} = 1$ bar, $[\text{H}^+] = 1$ M). Para obtener el potencial teórico del ánodo, $E_{\text{Ánodo}}$, en condiciones específicas, utilizamos la ecuación (3-5), con las actividades de las diferentes especies suponiendo iguales a sus concentraciones. Para la oxidación de acetato (Tabla 3.1) se tiene:

$$E_{\text{Ánodo}} = E_{\text{Ánodo}}^0 - \frac{RT}{8F} \ln \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{HCO}_3^-]^2 [\text{H}^+]^9} \quad (3-7)$$

Para el potencial teórico del cátodo, $E_{\text{Cátodo}}$, si se considera el caso donde el oxígeno se utiliza como aceptor de electrones para la reacción, se tiene:



$$E_{\text{Cátodo}} = E_{\text{Cátodo}}^0 - \frac{RT}{4F} \ln \frac{1}{p_{\text{O}_2} [\text{H}^+]^4} \quad (3-9)$$

Se ha utilizado una variedad de catolitos y para cada uno de ellos el voltaje de la celda varía. Por ejemplo, el óxido de manganeso y el ferrocianuro se han utilizado como alternativa al oxígeno. El pH de la solución del cátodo también puede variar, afectando el potencial del cátodo. Usando la ecuación 3-9 y los potenciales estándar tabulados disponibles de compuestos inorgánicos (Bard y col., 1985) bajo diferentes condiciones, se puede observar que el potencial teórico del cátodo para los diferentes catolitos varía de 0.361 a 0.805 V.

La fem de la celda se calcula como:

$$E_{fem} = E_{Cátodo} - E_{Ánodo} \quad (3-10)$$

Donde el signo menos es el resultado de la definición del potencial del ánodo como reacción de reducción (aunque ocurre una reacción de oxidación). Se considera que el resultado utilizando la ecuación 3-10 es igual al de la ecuación 3-3 y la ecuación 3-5 sólo si el pH en el ánodo y el cátodo son iguales. La ecuación 3-10 demuestra que el uso del mismo ánodo en un sistema con diferentes condiciones cátodo como se indica en la Tabla 3.1, se producen diferencias en los voltajes de celda y por lo tanto diferentes niveles de potencia. La energía producida por una CMB depende de la elección del cátodo y esto debe considerarse al comparar las densidades de potencia registradas por diferentes CMB. En la tabla 3.1, E_{CMB} se calculó mediante la ecuación 3.5 y todos los potenciales mostrados están evaluados contra el ENH.

Tabla 3.1 Potenciales estándar E_0 y potenciales teóricos para las condiciones típicas en las CMB (Logan y col., 2006)

Electrodo	Reacción	E_0 (V)	Condiciones	E_{CMB} (V)
ánodo	$2\text{HCO}_3^- + 8e^- \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	0.187 ^a	$\text{HCO}_3^- = 5\text{mM}, \text{CH}_3\text{COO}^- = 5\text{mM}, \text{pH} = 7$	-0.296 ^b
cátodo	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.229	$\text{pO}_2 = 0.2, \text{pH} = 7$	0.805 ^b
	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.229	$\text{pO}_2 = 0.2, \text{pH} = 10$	0.627
	$\text{MnO}_2(\text{s}) + 4\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	1.23	$[\text{Mn}^{2+}] = 5\text{mM}, \text{pH} = 7$	0.470
	$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.695	$\text{pO}_2 = 0.2, [\text{H}_2\text{O}_2] = 5\text{mM}, \text{pH} = 7$	0.328
	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + e^- \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0.361	$[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}] = [\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$	0.361

^a Calculado a partir de datos de energía libre de Gibbs tabulados en Thauer y col., 1977

^b Notar que una CMB con un ánodo de oxidación de acetato ($\text{HCO}_3^- = 5 \text{ mM}, \text{CH}_3\text{COO}^- = 5 \text{ mM}, \text{pH} = 7$) y un cátodo de reducción de oxígeno ($\text{pO}_2 = 0.2, \text{pH} = 7$) tiene un E_{CMB} de $0.805 - (-0.296) = 1,101 \text{ V}$

3.1.3 Voltaje de circuito abierto

La fem de la celda es un valor termodinámico que no considera las pérdidas internas. El voltaje de circuito abierto (VCA) es el voltaje que se puede medir después de algún tiempo en ausencia de corriente. Teóricamente, el VCA debe acercarse a la fem de la celda. Sin embargo, en la práctica, el VCA es menor que la fem de la celda debido a varias pérdidas potenciales. Por ejemplo, un potencial típico medido de un cátodo de oxígeno con un pH de 7 es aproximadamente 0.2V. Ésto es claramente más bajo que el valor esperado de 0.805V, lo que indica la gran pérdida de energía que ocurre en el cátodo. A esta pérdida de energía se le conoce como sobrepotencial o como la diferencia entre el potencial en condiciones de equilibrio y el potencial real, que para este caso es 0.605V (0.805V - 0.2V). Ésto ilustra que la principal aplicación de los cálculos termodinámicos sirven para identificar el tamaño y la naturaleza de las pérdidas de energía.

3.2 Identificación de los factores que disminuyen el voltaje

El máximo voltaje (fem) que puede desarrollar una CMB en teoría es del orden de 1.1V. Sin embargo, la medida del voltaje en cualquier CMB es considerablemente más baja debido a una serie de pérdidas. En un circuito abierto, cuando la corriente no fluye, el voltaje máximo registrado en una CMB hasta ahora es de 0.80V (Liu y col., 2005a). Durante la generación de corriente, los voltajes registrados continúan por debajo de 0.62V (Rabaey y col., 2005a). En general, la diferencia entre la medida del voltaje de la celda y la fem de la celda se denomina sobretensión y es la suma de los sobrepotenciales del ánodo y el cátodo y de la pérdida óhmica del sistema.

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{fem}} - (\Sigma\eta_a + |\Sigma\eta_c| + IR_{\Omega}) \quad (3-11)$$

Donde $\Sigma\eta_a$ and $|\Sigma\eta_c|$ son los sobrepotenciales del ánodo y el cátodo respectivamente e IR_{Ω} es la suma de todas las pérdidas óhmicas, las cuales son proporcionales a la corriente generada (I) y a la resistencia óhmica del sistema (R_{Ω}). Los sobrepotenciales de los electrodos son generalmente dependientes de la corriente y en una CMB se pueden clasificar de la siguiente manera: (i) Pérdidas de activación, (ii) Pérdidas del metabolismo bacteriano y (iii) Pérdidas por transporte de masa o por concentración.

En general, las medidas de voltaje en las CMB son una función lineal de la corriente y pueden ser descritas simplemente como

$$E_{\text{celda}} = \text{VCA} - IR_{\text{int}} \quad (3-12)$$

Donde IR_{int} es la suma de todas las pérdidas internas de la CMB, las cuales son proporcionales a la corriente generada (I) y a la resistencia interna del sistema (R_{int}). Una comparación de las ecuaciones 3-11 y 3-12 muestra que los sobrepotenciales del ánodo y el cátodo que se producen en condiciones de circuito abierto están incluidos en el valor de VCA en la ecuación 3-12, mientras que la corriente depende de los sobrepotenciales de los electrodos y las pérdidas óhmicas del sistema están capturadas en IR_{int} . Los sistemas CMB que están bien descritos por la ecuación 3-12 muestran una potencia máxima de salida cuando la resistencia interna (R_{int}) es igual a la resistencia externa (R_{ext}) (Cheng y col., 2006b). Aunque la R_{int} incluye más que solo la resistencia óhmica (R_{Ω}), ambos

términos se usan indistintamente, pero los investigadores deben estar conscientes de las diferencias entre estos dos términos. El rendimiento una CMB se puede evaluar en términos de sobrepotenciales y pérdidas óhmicas o en términos de VCA y pérdidas internas, basados en diversas técnicas.

3.2.1 Pérdidas óhmicas

Las pérdidas óhmicas o polarización óhmica en una CMB incluyen tanto a la resistencia al flujo de electrones a través de los electrodos y las interconexiones, así como a la resistencia al flujo de iones a través de la MIP (si está presente) y a los electrolitos anódicos y catódicos (Larminie y Dicks, 2000; Hoogers, 2003). Las pérdidas óhmicas se pueden reducir por medio de la disminución la distancia entre los electrodos, usando una membrana con una resistividad baja, comprobando minuciosamente todos los contactos y si es práctico, incrementar la conductividad de la solución a la máxima tolerada por las bacterias.

3.2.2 Pérdidas de activación

Debido a la energía de activación necesaria para la reacción de oxidación/reducción, las pérdidas de activación (polarización de activación) se producen durante la transferencia de electrones de o hacia el compuesto que reacciona en la superficie del electrodo. Este compuesto puede estar presente en la superficie bacteriana, como mediador en la solución o como aceptor final de electrones en el cátodo. Las pérdidas de activación a menudo muestran un fuerte incremento en corrientes bajas y un incremento constante cuando aumenta la densidad de corriente. Se pueden obtener bajas pérdidas de activación mediante el aumento de la superficie del electrodo, mejorando la catálisis de los electrodos, incrementando la temperatura de operación y mediante el establecimiento de una biopelícula enriquecida en el electrodo(s).

3.2.3 Pérdidas metabólicas bacterianas

Para generar energía metabólica, la bacteria transporta electrones de un sustrato a un potencial bajo a través de la cadena de transporte de electrones al aceptor final de electrones (oxígeno o nitrato) a un potencial más alto. En una CMB, el ánodo es el aceptor final de electrones y su potencial determina la ganancia de energía para las bacterias. Cuanto mayor sea la diferencia entre el potencial redox del sustrato y el potencial del ánodo, será posible una mayor ganancia de energía metabólica en las bacterias, pero será menor el máximo voltaje realizable por la CMB. Para aumentar al máximo el voltaje en una CMB, el potencial del ánodo debe mantenerse lo más bajo (negativo) como sea posible. Sin embargo, si el potencial del ánodo es demasiado bajo, el transporte de electrones se inhibe y la fermentación del sustrato (si es posible) puede proporcionar una mayor energía a los microorganismos. El impacto de un potencial bajo en el ánodo y su posible impacto en la estabilidad de la generación de energía debe ser abordado en nuevos estudios.

3.2.4 Pérdidas de concentración

Las pérdidas de concentración (polarización por concentración) ocurren cuando la tasa de transporte de masa de las especies de o desde el electrodo limitan la producción de corriente (Larminie y Dicks, 2000; Hoogers, 2003). Las pérdidas de concentración se producen principalmente a altas densidades de corriente debido a la limitada transferencia de masa de las especies químicas por difusión en la

superficie del electrodo. Las pérdidas de concentración del ánodo son causadas por una descarga limitada de especies oxidadas desde la superficie del electrodo o por un suministro limitado de especies reducidas hacia el electrodo. Ésto incrementa la relación entre las especies oxidadas y reducidas en la superficie del electrodo, la cual puede producir un incremento en el potencial de electrodo. En el lado del cátodo puede ocurrir lo contrario, provocando una caída en el potencial del cátodo.

3.3 Instrumentos para la medición

Además de los instrumentos convencionales utilizados para las mediciones químicas en los sistemas microbianos (por ejemplo, para determinar las concentraciones de sustrato y de productos de la degradación), los experimentos en CMB pueden requerir instrumentación electroquímica especializada (Liu y Logan, 2004; Rabaey y col., 2004). En la mayoría de los casos, los voltajes y los potenciales de electrodos son medidos de forma adecuada con medidores de voltaje comúnmente disponibles, con multímetros y con la adquisición de sistemas recolectores de datos conectados en paralelo con el circuito. Los voltajes de celda se pueden determinar directamente de la diferencia de voltaje entre el ánodo y el cátodo; los potenciales de electrodo se pueden determinar solamente contra un electrodo de referencia que debe ser incluido en el compartimiento del electrodo (Bard y Faulkner, 2001). La corriente se calcula utilizando la ley de Ohm ($I = E_{\text{celda}}/R$).

Para obtener una comprensión más detallada del sistema bioelectroquímico se puede utilizar un potencióstato (Ecochemie, Países Bajos; Princeton Applied Research, EEUU; Gamry Scientific, EEUU). Con un potencióstato, el potencial o la corriente de un electrodo se puede controlar con el fin de estudiar la respuesta electroquímica del electrodo a una condición específica. El potencióstato suele operarse en una configuración de tres electrodos, la cual consiste en un electrodo de trabajo (ánodo o cátodo), un electrodo de referencia y un electrodo contador (Bard y Faulkner, 2001). En los experimentos con CMB, el modo potencióstático de este instrumento se utiliza a menudo para las pruebas de voltametría, en el que se varía el potencial del electrodo de trabajo (ánodo o cátodo) a una cierta velocidad de registro (expresada en Vs^{-1}). La voltamperometría se puede utilizar para evaluar la actividad electroquímica de cepas o consorcios microbianos, la determinación de los potenciales redox estándar de los componentes redox activos (Rabaey y col., 2005b) y probar el rendimiento de nuevos materiales en el cátodo (Zhao y col., 2005). Un potencióstato también se puede utilizar en una configuración de dos electrodos para obtener curvas de polarización o para determinar la resistencia óhmica. En la configuración de dos electrodos, el conector del electrodo de trabajo está conectado al cátodo (terminal positiva) y los conectores del electrodo contador y de referencia están conectados al ánodo.

3.4 Cálculos y procedimientos para reportar datos

3.4.1 Potencial del electrodo

El potencial de un electrodo (ánodo y cátodo) sólo se puede determinar midiendo el voltaje contra un electrodo con un potencial conocido, es decir, un electrodo de referencia. Un electrodo de referencia se compone de varias fases de composición constante (Bard y Faulkner, 2001) y por lo tanto tiene un potencial constante. El electrodo estándar de hidrógeno (EEH) o electrodo normal de hidrógeno (ENH) consiste en un electrodo de platino en una solución ácida saturada de hidrógeno y tiene un

potencial de 0V. Debido a que el NHE no es una referencia muy práctica para trabajar en un montaje experimental, otros electrodos de referencia son de uso frecuente. El electrodo de referencia más popular en los experimentos con CMB es electrodo de referencia plata- cloruro de plata (Ag/AgCl) debido a su simplicidad, estabilidad y no toxicidad. En una solución saturada de cloruro de potasio a 25°C, el electrodo de referencia Ag/AgCl desarrolla un potencial de +0.197 V contra el ENH. También práctico, pero menos común en los experimentos con CMB es el electrodo de calomelanos saturado (0.242V contra el ENH). Los potenciales de electrodo a menudo dependen en gran medida del pH del sistema, por lo que es importante reportar este dato.

3.4.2 Potencia

El rendimiento global de una CMB se evalúa de muchas maneras, pero principalmente a través de la potencia de salida y la eficiencia coulombica. La potencia se calcula como sigue:

$$P = IE_{\text{celda}} \quad (3-13)$$

Normalmente, el voltaje se mide a través de una resistencia externa fija (R_{ext}), mientras que la corriente se calcula a partir de la ley de Ohm ($I = E_{\text{cell}}/R_{\text{ext}}$). Así, la potencia se calcula como:

$$P = \frac{E_{\text{celda}}^2}{R_{\text{ext}}} \quad (3-14)$$

Esta es la medida directa de la potencia eléctrica. La potencia máxima se calcula a partir de la curva de polarización.

3.4.3 Densidad de potencia

La potencia a menudo se normaliza con algunas características del reactor con el fin de hacer posible la comparación de la potencia de salida de diferentes sistemas. La elección del parámetro que se utiliza para la normalización depende de la aplicación, ya que muchos sistemas no están optimizados para la producción de energía. La potencia de salida suele ser normalizada con respecto a la superficie del ánodo, debido a que es el lugar donde se produce la reacción biológica (Habermann y Pommer, 1991; Park y col., 1999; Park y Zeikus, 2003; Rabaey y col., 2004). La densidad de potencia ($P_{\text{ánodo}}$, W/m^2) se calcula utilizando la superficie del ánodo ($A_{\text{ánodo}}$) como

$$P_{\text{ánodo}} = \frac{E_{\text{celda}}^2}{A_{\text{ánodo}}R_{\text{ext}}} \quad (3-15)$$

En muchos casos, sin embargo, se piensa que la reacción en el cátodo limita la generación de energía (Liu y Logan, 2004; Cheng y col., 2006c) o el ánodo consiste en un material que puede ser difícil de expresar en términos de superficie (material granular) (Rabaey y col., 2005a). En tales casos, el área del cátodo ($A_{\text{cátodo}}$), se puede utilizar para obtener la densidad de potencia ($P_{\text{cátodo}}$). Las áreas de las superficies de todos los componentes siempre deben indicarse, así como la superficie específica (si se conoce) y el método de su determinación.

Para realizar los cálculos del tamaño y costo de los reactores y como una comparación útil con respecto a las celdas de combustible, la potencia se normaliza con el volumen del reactor, o

$$P_v = \frac{E_{\text{celda}}^2}{vR_{\text{ext}}} \quad (3-16)$$

Donde P_v es la potencia volumétrica (W/m^3) y v es el volumen total del reactor (Bullen y col., 2006). La comparación del volumen del reactor resulta problemática cuando se comparan los reactores de una y dos cámaras, debido a que no hay una "segunda cámara" en un sistema de cátodo de aire. En tales casos, es útil comparar los reactores respecto al volumen del compartimiento anódico. Si varios reactores funcionan en concierto, por ejemplo, como una serie de reactores apilados, el volumen de aire utilizado por el cátodo o el volumen del catolito se incluye en el volumen total del reactor. Por lo tanto, el volumen utilizado en el cálculo debe ser indicado con claridad, así como los volúmenes de las cámaras individuales.

3.4.4 Curvas de polarización

Las curvas de polarización representan una poderosa herramienta para el análisis y caracterización de las celdas de combustible (Hoogers, 2003). Una curva de polarización representa el voltaje en función de la corriente (densidad). Las curvas de polarización se pueden registrar para el ánodo, el cátodo, o para toda la CMB utilizando un potencióstato. Si no está disponible un potencióstato, se puede utilizar una resistencia variable para configurar cargas externas variables. Usando una disminución periódica (o aumento cuando se inicia desde el corto circuito) de la carga, se mide el voltaje y la corriente se calcula utilizando la ley de Ohm. Para estudiar por separado el comportamiento del sistema en términos de los potenciales del ánodo o del cátodo, se utiliza un electrodo de referencia. Cuando se utiliza un potencióstato para registrar una curva de polarización se debe elegir una escala apropiada (1 mV s^{-1}) (Aelterman y col., 2006a). La curva de polarización debe registrarse tanto hacia arriba como hacia abajo (es decir, de una resistencia externa alta a una baja) y viceversa. Cuando se utiliza una resistencia externa variable para obtener una curva de polarización, los valores de corriente y de potencial deben tomarse sólo cuando se han establecido las condiciones de pseudo-equilibrio. El establecimiento del estado pseudo-estacionario puede tardar varios minutos o más dependiendo del sistema y la resistencia externa. Esta condición es sólo un estado de equilibrio temporal debido a que la concentración de sustrato en el reactor cambiará debido a la demanda de sustrato en el ánodo (a menos que se reponga continuamente). Esto a su vez afectará la incidencia de sustrato/transferencia de masa de productos sobre el voltaje y la corriente. Se debe tener cuidado en no esperar demasiado tiempo en el establecimiento del estado pseudo-estacionario. Las curvas de polarización también se pueden obtener sobre múltiples ciclos de lotes de alimentación, es decir, utilizando una resistencia para todo el ciclo, lo que permite la medición de la eficiencia coulombica para cada resistencia. Con el registro de datos a largo plazo se corre el riesgo de que ocurran cambios en la comunidad microbiana.

En general, las curvas de polarización se pueden dividir en tres zonas:

- i. Comenzando desde el VCA a corriente cero, aquí hay un descenso inicial del voltaje: Las pérdidas de activación son dominantes en esta zona
- ii. El voltaje cae más lentamente y la caída de voltaje es bastante lineal con la corriente: Las pérdidas óhmicas son dominantes en esta zona

- iii. Hay una rápida caída del voltaje a corrientes altas: Las pérdidas de concentración (efectos de transporte de masa) son dominantes en esta zona (línea continua, Figura 3.1a).

En las CMB, las curvas de polarización lineales se encuentran más a menudo (línea discontinua, Figura 3.1a). En una curva de polarización lineal, el valor de la resistencia interna (R_{int}) de la CMB se obtiene fácilmente a partir de la curva de polarización, ya que es igual a la pendiente (por ejemplo, $R_{int} = -\Delta E/\Delta I = 26 \Omega$; Figura 3.1a, línea discontinua).

3.4.5 Curvas de potencia

Una curva de potencia que describe a la potencia o densidad de potencia como función de la corriente o densidad de corriente, se calcula a partir de la curva de polarización. La Figura 3.1b (línea sólida) muestra una curva de potencia típica basada en una curva de polarización previamente reportada (Figura 3.1) (Niessen y col., 2004). Como no fluye corriente en condiciones de circuito abierto, no hay potencia producida. A partir de este punto en adelante, la potencia se incrementa con la corriente hasta un punto de potencia máxima (PPM) (14.6 mW en la Figura 3.1b). Más allá de este punto, la potencia decae debido al incremento de las pérdidas óhmicas y sobrepotenciales de electrodo hasta el punto en que no se produce más potencia (condiciones de corto circuito).

En muchas CMB, la resistencia óhmica juega un papel importante en la definición de la potencia máxima posible (PPM), en parte debido a la baja conductividad iónica de las soluciones del sustrato (Liu y col., 2005b) pero por lo general a un bajo grado de optimización en el diseño de la celda. El efecto de incrementar la resistencia óhmica en la forma de una curva de polarización se muestra en la Figura 3.1a. La curva continua representa los datos originales obtenidos previamente, mientras que la curva discontinua se calcula mediante la inclusión de una resistencia adicional de $\Delta R_{\Omega} = 20 \Omega$ restando una caída de potencial de $\Delta E_{IR} = I \Delta R_{\Omega}$. Incrementando la resistencia óhmica en esta cantidad se produce una curva de polarización que es lineal (Figura 3.1, línea discontinua), la cual se observa normalmente en las CMB. Cuando una curva de polarización es lineal, la pendiente es igual a la resistencia interna (ecuación 3-12), que para este ejemplo fue de $R_{int} = 30 \Omega$ (línea discontinua).

Si la curva de polarización no es lineal (línea continua), no se puede definir una R_{int} independiente de la corriente y el sistema se expresa mejor en términos de la resistencia óhmica (R_{Ω}) y de los sobrepotenciales de electrodo $\Sigma \eta_a$ y $|\Sigma \eta_c|$ (ecuación 3-11). El aumento de la resistencia óhmica disminuye el PPM de 14.6 a 4.8 mW. El semiciclo simétrico de la curva de potencia (línea discontinua, Figura 3.1b) es típico para una alta resistencia interna en la CMB limitada por la resistencia óhmica, en vez de una celda limitada por la transferencia de masa (línea continua, Figura 3.1b). En el caso del semiciclo simétrico, el PPM se producirá en un punto donde la $R_{int} = R_{ext}$.

3.4.6 La eficiencia del tratamiento

Las CMB han sido propuestas como un método para el tratamiento de aguas residuales, por lo que es importante evaluar el rendimiento global en términos de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), la demanda química de oxígeno (DQO) o el carbono orgánico total (TOC). La mayoría de autores se centran en el rendimiento en términos de la remoción de DQO, ya que es una medida común en la eficiencia de tratamiento de aguas y también porque la remoción de DQO es necesaria en los cálculos. La eficiencia de remoción de DQO (ϵ_{DQO}) puede ser calculada como la relación entre la

DQO removida y el afluente de DQO. Este parámetro mide la cantidad del combustible disponible que se ha convertido dentro de la CMB, ya sea en corriente eléctrica (a través de la eficiencia coulombica) o en biomasa o a través de reacciones competitivas con aceptores de electrones alternativos (por ejemplo con el oxígeno, el nitrato y sulfato).

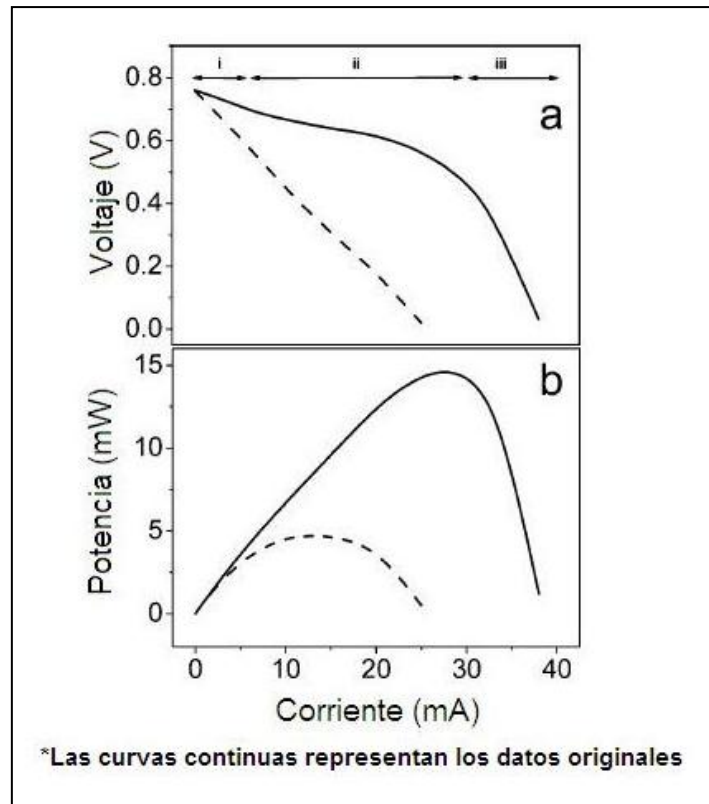


Figura 3.1 Curvas de polarización (a) y curvas de potencia (b) de una CMB operada con almidón (Niessen y col., 2004)

3.4.7 Eficiencia coulombica.

La eficiencia coulombica, ϵ_C , se define como la relación entre el total de Coulombs transferidos al ánodo provenientes del sustrato y el máximo de Coulombs posibles generados si todo el sustrato removido produce corriente. El total de Coulombs obtenidos se determina mediante la integración de la corriente en el tiempo, de modo que la eficiencia coulombica para una CMB en el modo de alimentación por lotes, ϵ_{Cb} , evaluada durante un período de tiempo t_b , se calcula como (Rabaey y col., 2005a; Cheng y col., 2006b)

$$\epsilon_{Cb} = \frac{M \int_0^{t_b} I dt}{F v_{\text{ánodo}} \Delta DQO} \quad (3-17)$$

donde

$M=32$: es el peso molecular de oxígeno

F : es constante de Faraday

$b = 4$: es el número de electrones intercambiados por mol de oxígeno

$V_{\text{ánodo}}$: es el volumen de líquido en el compartimiento del ánodo

ΔDQO : es el cambio de la DQO en el tiempo t_b

Para un flujo continuo a través del sistema, la eficiencia coulombica, ϵ_{Cb} , se calcula sobre la corriente generada en condiciones estables como

$$\epsilon_{\text{Cb}} = \frac{MI}{Fbq \Delta\text{DQO}} \quad (3-18)$$

donde

q : es la tasa de flujo volumétrico del afluente

ΔDQO : es la diferencia entre el afluente y efluente de la DQO

La eficiencia coulombica se ve disminuida por la utilización de receptores de electrones alternativos por las bacterias, ya sea por los presentes en el medio (aguas residuales) o por aquellos que se difunden a través de la MIP, tales como el oxígeno. Otros factores que reducen la eficiencia coulombica son los procesos competitivos y el crecimiento bacteriano. Las bacterias que no pueden utilizar el electrodo como aceptor de electrones son susceptibles de utilizar el sustrato para la fermentación o metanogénesis. Mientras que el ánodo se mantenga lo suficientemente atractivo para que las bacterias debido a su potencial, los aceptores de electrones alternativos no se usaran. Sin embargo, compuestos de alto potencial, tales como el nitrato (+0.55 V) es casi seguro que se usarán.

3.4.8 El aumento del rendimiento

El crecimiento celular ϵ_c se reducirá debido a la desviación de los electrones dentro de la biomasa. La utilización de sustratos para el crecimiento (Y) se calcula como:

$$Y = \frac{X}{\Delta\text{DQO}} \quad (3-19)$$

donde X es la biomasa (g DQO) producida en el tiempo (t_b o el tiempo de retención hidráulico).

Una ventaja importante de una CMB es la baja producción celular en comparación con los procesos aerobios. Esto se debe a la reducida energía disponible para el crecimiento de la biomasa, ya que una parte significativa de la energía del sustrato se convierte en energía eléctrica. Los informes de la producción de biomasa DQO en CMB oscilan entre 0.07 y 0.22g (g sustrato DQO)⁻¹, mientras que la producción típica aerobia en el tratamiento de aguas residuales son generalmente de 0.4 g biomasa DQO (g sustrato DQO)⁻¹ (Rabaey y Verstraete, 2005). La tasa de crecimiento se puede medir directamente mediante la determinación de la biomasa (g DQO) acumulada en la superficie del electrodo y descargada en el efluente (para la operación continua). La baja producción de biomasa en las CMB es una ventaja especialmente atractiva ya que la disposición de lodos por combustión (tecnología estándar en Europa) cuesta aproximadamente 600 euros por tonelada.

3.4.9 Balance de la DQO

Una vez que la eficiencia para la producción de electricidad y de biomasa se han completado, la fracción de DQO que se ha removido por procesos desconocidos, ϕ , se puede calcular como:

$$\phi = 1 - \epsilon_C - Y \quad (3-20)$$

3.4.10 Velocidad de carga

Al examinar el uso de las CMB para el tratamiento de aguas residuales, es útil examinar los resultados logrados con esta nueva tecnología en términos de velocidades de carga con las que normalmente se obtiene en los sistemas convencionales de tratamiento. Para ello, se calcula la carga en base a las tasas de carga volumétrica como B_v ($\text{kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$). Los valores típicos de B_v logrados hasta la fecha son de hasta $3 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Rabaey col., 2003), en comparación con los valores de la degradación anaerobia ($8\text{--}20 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) o de los procesos de lodos activados ($0.5\text{--}2 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ d}^{-1}$). Estas velocidades de carga se pueden normalizar con el volumen total del ánodo para compararlo con los procesos de suspensión de biomasa (lodos activados, degradación anaerobia) y con el total de la superficie del ánodo para compararlo con los procesos en la biopelícula.

3.4.11 Eficiencia energética

El factor más importante para evaluar el desempeño de una CMB para generar electricidad, es evaluar el sistema en términos de la recuperación de energía. La eficiencia energética, ϵ_E , se calcula como el cociente de la potencia producida por la celda en un intervalo de tiempo t entre el calor de la combustión del sustrato orgánico añadido en ese tiempo, o como sigue:

$$\epsilon_E = \frac{\int_0^t E_{\text{celda}} I dt}{\Delta H m_{\text{añadido}}} \quad (3-21)$$

donde

ΔH : es el calor de combustión (J mol^{-1})

$m_{\text{añadido}}$: es la cantidad (moles) de sustrato añadido

Esto suele calcularse sólo para afluentes de composición conocida (aguas residuales sintéticas), ya que no se conoce el ΔH de las aguas residuales actuales. La eficiencia energética en las CMB varía del 2 al 50% o más cuando son utilizados sustratos fácilmente biodegradables (Rabaey y col., 2003; Liu y Logan, 2004).

Capítulo 4. Experimentos realizados

4.1 Origen de las CMB

El primer trabajo que da origen al desarrollo de las celdas de biocombustible pertenece a Michael Cresse Potter con su artículo titulado “Efectos eléctricos que acompañan la descomposición de compuestos orgánicos” publicado en 1911 en la revista The Royal Society.

Este artículo concluye con la siguiente cita: “La desintegración de compuestos orgánicos debida a los microorganismos está acompañada de la liberación de energía eléctrica” (Potter, 1911), la cual es mencionada en una infinidad de artículos en la actualidad. Debido al extenso trabajo que se realizó para la publicación de este artículo, solo se presentan los resultados obtenidos con las celdas en las cuales utilizó levadura, ya que son el inicio de lo que hoy conocemos como celdas microbianas de combustible. También realizó experimentos con celdas galvánicas, hidrólisis y enzimas como la invertasa y diastasa.

El siguiente trabajo en abordar este tema se publicó en 1931 por Cohen Barnett, el trabajo se tituló “El cultivo bacteriano como una media-celda eléctrica” (media-celda hace referencia a la cámara anódica) y fue dado a conocer en la treinta y dosava reunión anual de la sociedad americana de bacteriólogos. En este trabajo se experimentó con varios cultivos de bacterias, de los cuales reporta sus resultados correspondientes y también la conexión de celdas en serie, de las cuales logra obtener un voltaje de 35 V (Cohen, 1931).

4.1.1 Efectos eléctricos que acompañan la descomposición de compuestos orgánicos

4.1.1.1 El dispositivo

El dispositivo empleado en la Figura 4.1 consistió en una jarra de vidrio dentro de la cual se colocó un cilindro poroso. Un fluido nutritivo se colocó en la jarra y en el cilindro poroso; se utilizaron dos electrodos de platino, uno dentro del fluido contenido en la jarra y el otro dentro del cilindro. Después de la debida esterilización se procedió a inocular el aparato con los microorganismos bajo investigación. Cuando los cultivos de microorganismos fueron introducidos dentro del fluido en la jarra (fluido externo) o en el cilindro poroso (fluido interno), bajo condiciones adecuadas, se produjo una reacción química, dando como resultado que el aparato se comportara como una celda galvánica.

En todos los experimentos principales se utilizó platino como electrodo y para evitar la necesidad de utilizar largos alambres de platino, una pequeña longitud de este metal se soldó con plata a un alambre de cobre. Los cables de los electrodos se conectaron a un condensador de un micro-farad y éste se descargaba a través de un galvanómetro por medio de un telégrafo. Este arreglo fue adoptado en sugerencia de H. Morris Airey, para eliminar la resistencia del circuito. Una celda Clark fue descargada de la misma manera a través del galvanómetro para demostrar el buen funcionamiento en las deflexiones de este.

En este experimento se descartaron problemas de mal funcionamiento o lecturas erróneas debido a diferencias de temperatura entre el líquido interno y externo, efectos de ósmosis o evaporación. Puesto que el CO₂ es el único gas liberado en la fermentación, se asumió que no ocurrió oxidación en

los electrodos de platino. Después del debido aislamiento de los alambres fuera de la jarra, éstos se fijaron a la jarra para prevenir que se sacudieran o generaran otro tipo de disturbio mientras duraba el experimento.

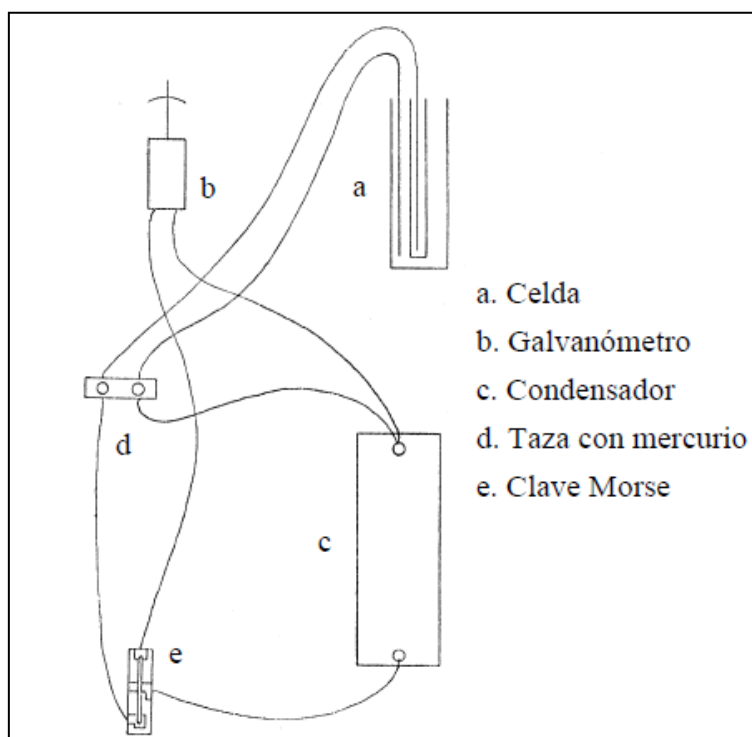


Figura 4.1 Dispositivo original de una CMB (Potter, 1911)

La actividad fermentativa de la levadura sobre soluciones de azúcar resultó ser un objeto prometedor de investigación, por lo cual se utilizó levadura con glucosa como medio de alimentación debido a su facilidad de comercio y a su rápida y marcada fermentación que puede desarrollar. El tipo de levadura utilizada fue la denominada “levadura alemana” y no descartó el uso futuro de cultivos puros de las variedades de *Saccharomyces* con diferentes tipos de azúcares con sus correspondientes comparaciones.

Como una medida arbitraria estándar se encontró conveniente tomar 5 g de levadura y mezclarlos con 100 cm³ de agua para repartir 10 cm³ en cada celda. Por este método, aproximadamente la misma cantidad de levadura se utilizó en cada celda y así los resultados de los experimentos pudieron ser comparables unos con otros. Mientras tanto en las celdas se vertieron 100 cm³ de solución de glucosa dentro del cilindro y de la jarra.

Después de lo anterior, la levadura fue vertida dentro del fluido externo. Por un corto tiempo después de la introducción de la levadura no se registró algún voltaje, pero cuando los microorganismos comenzaron su actividad, se registró un incremento gradual de voltaje.

Al desconectar la celda de glucosa-levadura y sustituirla por una celda estándar, siempre se encontró que la solución de glucosa con levadura actuaba como el zinc en una celda galvánica ordinaria, con

lo que la corriente dentro de la celda pasaba de la solución glucosa-levadura a la solución de glucosa. Además, cuando el fluido interno era inoculado en lugar del fluido externo la dirección de la corriente se invertía.

4.1.1.2 Varias concentraciones del medio

La Figura 4.2 muestra las variaciones de voltaje con soluciones de distintos grados de concentración. Con la medida estándar de 5 g de levadura a una temperatura de 25°C y una solución de 10% de glucosa se registró un voltaje de 0.32 durante 7 minutos, después de esto, el voltaje cayó gradualmente hasta que al final de 40 minutos era de 0.25. Con 20% de glucosa, el máximo voltaje fue de 0.32, con 5% de 0.3. La de 10% pareció ser la mejor concentración, pero como se observa más adelante en la gráfica las concentraciones de 5, 10 y 20 %, aunque variaron poco en su acción inicial rápida, lograron un voltaje muy similar y tiempo después las curvas siguieron casi el mismo curso. Con 30% de glucosa se observó un desarrollo más lento, el máximo voltaje fue de 0.26 y se logró luego de 23 minutos. Con 40% solamente se registraron 0.18 volts después de 90 minutos y con 50%, 0.08 volts después del mismo periodo. Con estas observaciones se concluyó que altos grados de concentración desarrollaron una acción más lenta en la levadura con un voltaje más bajo.

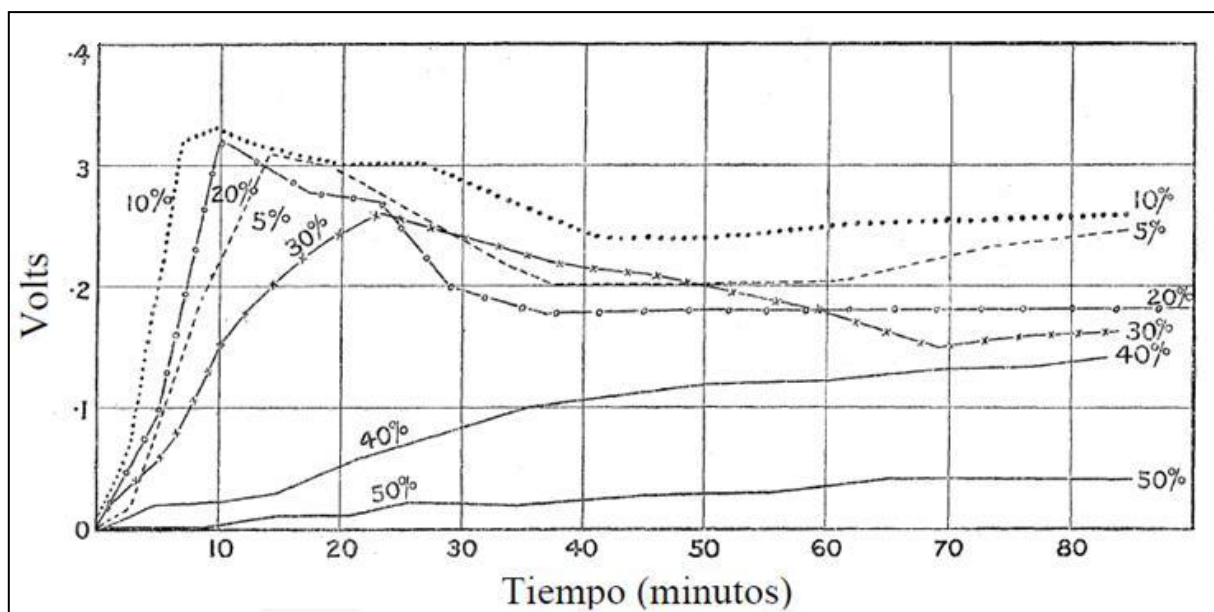


Figura 4.2 Desarrollo de voltaje en las celdas microbianas utilizando soluciones de glucosa al 5, 10, 20, 30, 40 y 50% y 5g de levadura en cada caso (Potter, 1911)

4.1.1.3 Variando la cantidad de levadura

La Figura 4.3 muestra los resultados de los experimentos para determinar el efecto de diferentes cantidades de levadura. Se utilizaron tres celdas, las cuales fueron cargadas a la misma temperatura (23.5°C) con la misma solución de glucosa; a la primera se le agregaron 5 g de levadura, a la segunda 2.5 g y a la tercera 0.05 g. Con 5 g de levadura se alcanzó un voltaje máximo de 0.36 en 10 minutos. Con 2.5 g el crecimiento de la curva fue más gradual, alcanzando un voltaje máximo de 0.3 al final de 2 horas. Con 0.5 g mostró un voltaje de solo 0.04 después de 80 minutos con un máximo de 0.3 V después de un periodo de 3 horas.

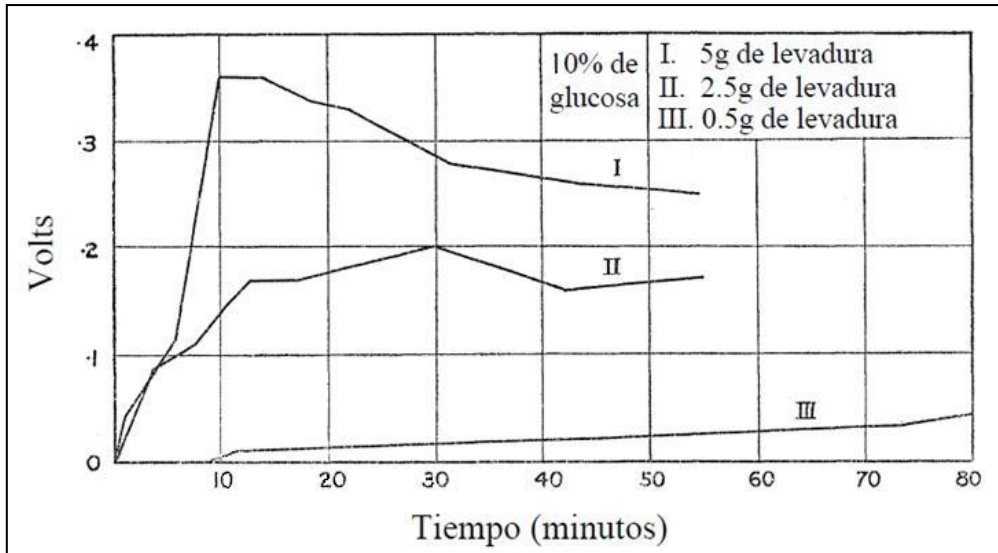


Figura 4.3 Desarrollo del voltaje variando cantidades de levadura (Potter, 1911)

4.1.1.4 Condiciones de temperatura

En la Figura 4.4 se muestran los resultados de utilizar diferentes temperaturas. Cuando la levadura fue introducida en una solución de 10% de glucosa a 25°C se logró un voltaje de 0.3 en 9 minutos, y el máximo de 0.32 en 15 minutos. Pero a 17°C el voltaje de 0.3 no fue alcanzado sino hasta después de 20 minutos, y el máximo de 0.32 después de 25 minutos. A 10°C el comienzo fue muy lento, después de 34 minutos se alcanzó un voltaje de 0.45 y en 45 minutos el máximo.

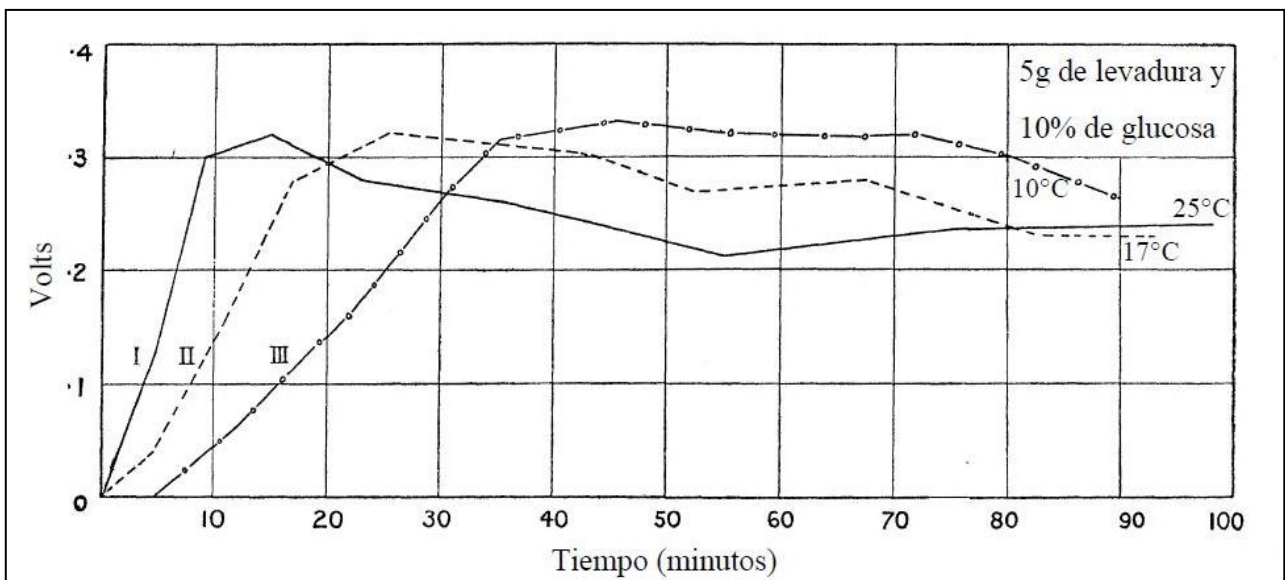


Figura 4.4 Voltaje obtenido variando la temperatura (Potter, 1911)

Es interesante notar que después del voltaje máximo obtenido en cada caso le siguió una pequeña caída en la curva, siguiendo la caída gradual de temperatura. A 0°C no se detectaron deflexiones, pero cuando la temperatura de estas celdas fue aumentando gradualmente en una incubadora, pronto se observó aumento en el voltaje y continuó en incremento conforme la temperatura era más favorable. En el punto de congelación la levadura no está muerta, sino que la ausencia de acción eléctrica a esta temperatura muestra que este efecto se encuentra suspendido. Cuando las celdas se mantuvieron a 50°C no se detectaron deflexiones en el galvanómetro y cuando la temperatura bajó a 25°C otra vez no se detectó algún efecto eléctrico, mostrando que la levadura había sido destruida.

Estos resultados demostraron que el voltaje desarrollado solo puede ser atribuido a la acción fermentativa de la levadura y los efectos eléctricos son una medida de la actividad de la levadura. Se ha observado que la característica del medio de cultivo eleva los efectos eléctricos producidos y que los grados de concentración que son muy altos para el crecimiento favorable de la levadura se reflejan en la disminución de voltaje registrado y en la disminución de la velocidad de la reacción. Además, la velocidad de la reacción varía con la cantidad de levadura activa presente en las celdas y el gradiente de la curva está directamente influenciado por este factor. También se encontró que el gradiente de la curva que indica el crecimiento del potencial es muy inclinada cuando la levadura es introducida en una solución de glucosa a una temperatura óptima, pero la curva es mucho menos inclinada cuando la temperatura se acerca a los límites máximos y mínimos de tolerancia de los microorganismos, es decir, a los 0°C y a los 50°C.

El máximo voltaje registrado con levadura y glucosa o azúcar de caña fue de 0.3 a 0.4, y el voltaje dentro de este rango nunca fue excedido en alguno de los experimentos bajo alguna condición especial.

Siempre se detectó una pequeña corriente eléctrica en las celdas glucosa-levadura. Cuando se realizaba un corto circuito debido a la unión de los electrodos, el voltaje se reducía considerablemente. Pero cuando los electrodos se separaban de nuevo, el voltaje aumentaba de forma gradual debido a la actividad de la levadura. La Figura 4.5 muestra el efecto de corto circuito y la recuperación de potencial después de separar los electrodos. Se utilizaron 5 g de levadura en una solución de glucosa al 10% a 28°C. El corto circuito se realizó a los 15, 22, 36, 60 y 78 minutos después de la introducción de la levadura.

4.1.1.5 Bacterias

M. C. Potter también experimentó con bacterias. Utilizó cultivos puros de *Bacillus coli communis*, *B. fluorescens*, *B. violaceus* y *Sarcina lutea* (Potter, 1911). Después de las debidas precauciones se procedió a inocular las celdas con una solución modificada de la muy conocida solución de Pasteur (Tabla 4.1).

Los *B. coli communis* florecieron rápidamente en este medio y resultaron ser un excelente sujeto de investigación. A los 30°C, cuando estos microorganismos se desarrollaron en la solución descrita anteriormente se registró un voltaje de 0.308. Usando la misma solución, pero reemplazando la asparagina con 0.2 % de almidón se registró un incremento de voltaje a 0.349. A 20°C, el voltaje fue de 0.534.

Tabla 4.1 Solución modificada de Pasteur (Potter, 1911)

Fosfato de potasio.....	2 g
Fosfato de calcio.....	0.2 g
Sulfato de magnesio.....	0.2 g
Tartrato de amonio.....	10 g
Asparagina.....	0.5 g
Agua.....	100 ml

En el caso de *B. fluorescens*, *B. violaceus* y *Sarcina lutea* no se detectó ningún voltaje a 30°C ó a 20°C. Posteriormente se encontró que el medio utilizado resultó ser inadecuado para el crecimiento de estas bacterias.

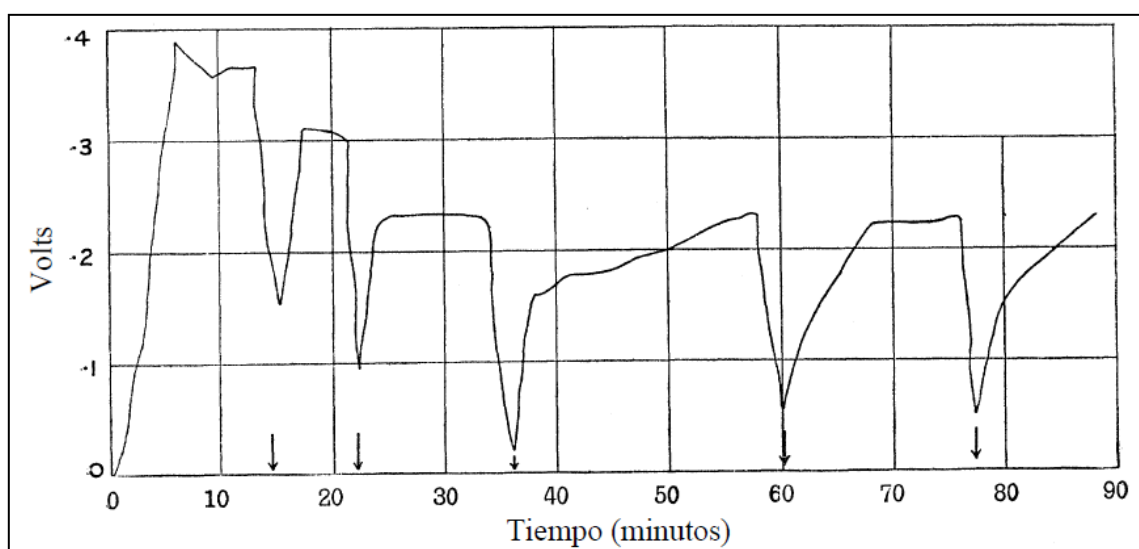


Figura 4.5 Efecto de corto circuito utilizando levadura y glucosa (Potter, 1911)

4.1.1.6 Electrodo

Aunque los alambres de platino fueron empleados como los electrodos estándar a lo largo de la investigación, también se realizaron ensayos con otros metales tales como el oro, níquel, estaño, zinc y aluminio. Todos estos metales, cuando fueron utilizados como electrodos incluyendo a las placas de carbón, mostraron la existencia de una diferencia de potencial entre la solución glucosa-levadura y la solución de glucosa, así como la existencia de una pequeña corriente eléctrica pasando de la glucosa-levadura hacia la glucosa. La cantidad de voltaje, sin embargo, varió con todos los electrodos empleados; debido a que las causas de estas variaciones salieron de tema de investigación, no se consideró investigar más a fondo.

4.1.2 El cultivo bacteriano como una media-celda (cámara anódica) eléctrica

Los experimentos que realizó Cohen se diseñaron para ilustrar la importancia mutua de la intensidad y los factores biológicos de oxidación-reducción y para los que utilizó diferentes cultivos de bacterias (Cohen, 1931). Después del crecimiento a 30°C por uno o dos días en un caldo de carne con extracto de peptona-fosfato a un pH de 7 de obtuvieron los siguientes potenciales (Tabla 4.2):

Tabla 4.2 Bacterias utilizadas por Cohen y sus potenciales (Cohen, 1931)

<i>Bact. dysenteriae</i>	0.15 a 0.30 V
<i>C. diphtheriae</i>	0.25 a 0.30 V
<i>B. coli</i>	0.35 a 0.45 V
<i>B.subtilis</i>	0.50 a 0.60 V
<i>Proteus vulgaris</i>	0.50 a 0.90 V

Mientras dura el proceso de conversión de energía, el cultivo bacteriano hasta cierto punto, podría considerarse como una media-celda (cámara anódica) eléctrica y de un modo concebible ser capaz de realizar trabajo. Su más grande deficiencia, sin embargo, es el hecho que la corriente de salida fue demasiado baja (10^{-5} a 10^{-6} A) y ésta se descargaba muy rápido.

La baja capacidad de la media-celda (cámara anódica) bacteriana es atribuida al hecho de que está pobremente equilibrada en cualquier momento con respecto a los productos de oxidación-reducción. Se encontró que esta situación pudo ser en parte por el incremento de la concentración de ingredientes orgánicos en el medio y la prevención en el acceso de aire. Este problema se resolvió con la introducción al medio de sustancias orgánicas o inorgánicas como el ferrocianuro de potasio o benzoquinona para equilibrar el medio. Con esto se logró construir una batería bacteriana que suministró corriente de 2 mA a 35V.

4.2 Avances de las CMB

El interés por este tipo de celdas resurgió en la década de 1960 y debido a que en la actualidad existen celdas con diferentes características, a continuación se presenta una clasificación de las CMB.

Esta clasificación describe tres generaciones de CMB desarrolladas, que no sólo se distinguen históricamente, sino que también se distinguen en la forma en que funcionan (Ieropoulos y col., 2004). La primera generación CMB requiere de mediadores exógenos como el azul de metileno o rojo neutro, que necesitan reponerse y pueden ser tóxicos. La segunda generación de CMB también depende de mediadores, sólo que en este caso el mediador es un metabolito electroactivo que emplean los microorganismos. El metabolito es producido a partir de sulfato que se puede reponer y

se utiliza como aceptor final de electrones. La tercera generación CMB son sistemas que no utilizan mediadores, puesto que los microorganismos utilizados son *anodófilos*, lo que significa que utilizan al ánodo como aceptor final de electrones. La segunda y tercera generación se refieren a los trabajos posteriores para mejorar el rendimiento del sistema mediante la explotación de la actividad metabólica de los microorganismos que se alimentan de diferentes sustratos (sulfato, acetato, glucosa).

4.2.1 CMB de primera generación

La potencia de salida de estos dispositivos depende, entre otros factores, del tamaño y volumen de la celda, así como de la superficie y el material de los electrodos. El voltaje promedio de circuito abierto de estos dispositivos es de 0.7V y la densidad de corriente promedio es de aproximadamente 0.15mA/cm². La primera generación (al igual que la segunda) emplea moléculas mediadoras, que enlazan a la célula microbiana con el electrodo (ánodo). Estos mediadores "entran" en la célula en su forma oxidada y después se reducen, es decir, ganan un electrón. La forma reducida luego hace su camino hacia el ánodo, en donde libera el electrón (oxidación) y el ciclo continúa. Los mediadores son sustancias químicas, que deben ser preparadas de forma manual y añadirse a la celda, ya que las bacterias de la primera generación no los pueden producir. Después de estar de tres a cuatro semanas en un sistema cerrado, estos mediadores se degradan y tienen que ser reemplazados. La intercepción entre la molécula mediador y el electrón se realiza ya sea con la NADH, (nicotinamida adenina dinucleótido), o en un estado más bajo (citocromo c). La NADH (forma reducida) es un transportador de electrones en el ciclo catabólico de las bacterias y actúa como una fuente de energía biológica. El contacto directo entre las células de la bacteria y la superficie del electrodo es también de gran importancia ya que entre menor sea la distancia entre los dos, menor será la resistencia óhmica en la transferencia de electrones. Una amplia gama de mediadores han sido probados por muchos investigadores en el mundo, a pesar que la transferencia directa de electrones sin el uso de los mediadores ha sido descrita previamente.

4.2.2 CMB de segunda generación

En la segunda generación, el mediador (sulfuro – H₂S) es producido por la reducción de sulfato (SO₄) por el microorganismo. Esto resulta en un mecanismo químico completamente diferente y mucho más eficiente. El principio básico de operación es más o menos el mismo que con la primera generación, excepto que en este caso el mediador es un metabolito electroactivo de los microorganismos. Ésto significa que se trata de un sistema más favorable para ser integrado con un agente autónomo, puesto que no hay necesidad de introducir manualmente algún químico, además de la fuente de energía que podría ser un sustrato rico en SO₄.

Durante muchos años una serie de microorganismos han sido conocidos por su capacidad de reducir sulfato. Uno de ellos es *Desulfovibrio desulfuricans*, un microorganismo marino anaerobio. *Desulfovibrio desulfuricans* tiene la capacidad de utilizar al sulfato como aceptor terminal y al hacerlo, reduce el sulfato en sulfuro (H₂S). El H₂S es electroactivo, lo que significa que dona sus electrones al oxidante con el potencial redox más positivo. En ausencia de oxígeno, el oxidante

siguiente más positivo es el ánodo. Por lo tanto el sulfuro ofrece los medios para que los electrones fluyan y se complete un ciclo entre la célula de la bacteria y la superficie del electrodo. Las reacciones redox que tienen lugar en la CMB se muestran en la Figura 4.6.

En un diseño especial, Habermann y Pommer (1991) emplearon un cultivo mixto de microorganismos para un funcionamiento más eficiente. *D. desulfuricans*, que es la bacteria dominante del consorcio microbiano, es estrictamente anaerobia y necesita lactato para metabolizar y producir sulfuro. Por lo tanto, el lactato (ácido láctico) es producido por microorganismos tales como *E. coli* y *Proteus vulgaris*, los cuales se añadieron en el anolito para producir el metabolito químico que es necesario para la sobrevivencia de los *D. desulfuricans* y también para consumir el oxígeno presente. *Pseudomonas aeruginosa* y *P. fluorescens* utilizan acetato de manera eficiente y se añadieron en el consorcio para la utilización de este producto de desecho y de O_2 . De esta manera, los únicos subproductos son H_2O_2 , CO_2 y S_2O_3 , que también puede ser reducido a sulfuro.

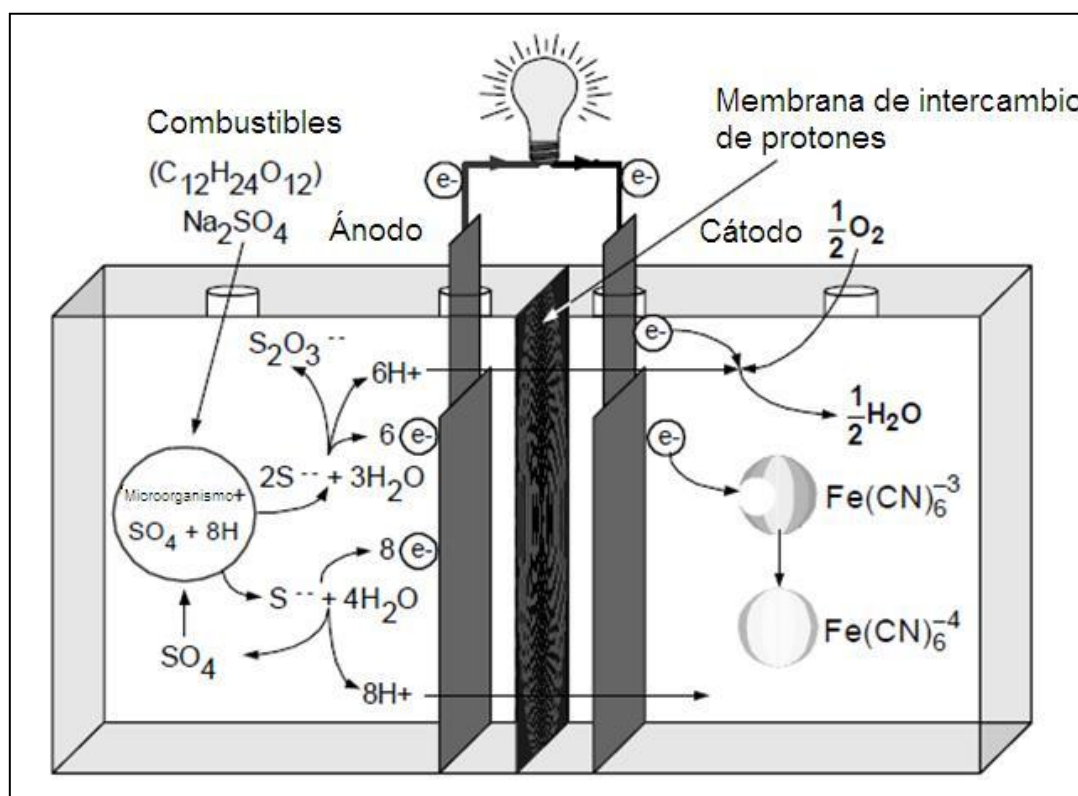


Figura 4.6 Reacciones redox que se llevan a cabo en la CMB (Ieropoulos y col., 2004)

4.2.3 CMB de tercera generación

La tercera generación de CMB emplean al microorganismo anaerobio *Geobacter sulfurreducens*, el cual dona fácilmente sus electrones a la superficie del electrodo (Habermann y Pommer, 1991). Estos microorganismos tienen la capacidad de fijarse en la superficie del electrodo formando una biopelícula. Todas las otras células en la vecindad no se fijarán hasta que encuentren una superficie de oxidación. Una vez que la biopelícula se forma, el electrodo se convierte entonces en su oxidante

natural, al que los microorganismos fácilmente liberarán sus electrones. Es importante destacar que este sistema funciona sin el uso de mediadores artificiales o naturales, por lo que es atractivo para aplicaciones autónomas. Además la tercera generación tiene dos ventajas importantes. En primer lugar, el contacto físico y bioquímico entre los microorganismos y la superficie del electrodo cuando se forma la biopelícula, ya que permite que la resistencia óhmica del flujo de electrones sea mínima, por lo tanto, la eficiencia es mayor. En segundo lugar, esta bacteria puede utilizar los desechos metabólicos, tales como acetato producido por otros microorganismos.

4.2.4 CMB desarrolladas desde 1994

Las Tablas 4.3 y 4.4 resumen las CMB publicadas en la literatura desde 1994 (Bullen y col., 2006). La Tabla 4.3 presenta las CMB que son alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa. En la Tabla 4.4 se muestran las CMB alimentadas por la oxidación de otros químicos.

4.3 Investigación en México

En México existen dos equipos de investigación que están experimentando con CMB. Los trabajos presentados a continuación no son los únicos realizados en México, pero si son los más representativos. El primer trabajo que se presenta (Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP) lo realizó el equipo de investigación encabezado por la Dra. Liliana Alzate-Gaviria en el centro de Investigación Científica de Yucatán (Alzate-Gaviria y col., 2008). El segundo en presentarse (Caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados) estuvo a cargo del Dr. Alessandro Carmona-Martínez y se realizó en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N (Carmona-Martínez y col., 2006). Los dos trabajos contaron con apoyo económico proporcionado por el CONACYT.

4.3.1 Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP

4.3.1.1 Microorganismos y sustrato

Los biocatalizadores empleados en la generación de energía se obtuvieron a partir de un inóculo mixto entérico previamente estabilizado en un reactor anaerobio de lecho de lodos (RALL) ubicado en el laboratorio del Centro de Investigación en Energía (CIE-UNAM, Morelos, México) siguiendo el procedimiento que detalla Alzate y col. (2007).

La fuente de sustrato fue agua residual sintética (ARS) cuya fuente de carbono fue glucosa grado reactivo marca Sigma (Poggi y col., 2005). El ARS tuvo un pH entre 5 y 6, y la siguiente composición (por litro): 4g de glucosa; 310mg de NH_4Cl ; 130mg de KCl ; 4.97g de NaH_2PO_4 y 2.75g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$ (Lovley y Philips, 1998).

Tabla 4.3 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente (μA cm ⁻²)	Densidad de potencia (μW cm ⁻²)	Referencia
TEM Glucosa/ferrocianuro (en cátodo CVR (carbón vítreo reticulado)) u O ₂ (en cátodo PCP, papel carbón platinizado)	<i>Proteus vulgaris</i> inmovilizados en la superficie del ánodo por un enlace amida, anaerobio	Ánodo de 1 g (49.5), CVR (no disponible) o cátodo PCP (20.25)	50 mmol dm ⁻³ de mediador difuso HNQ, buffer de fosfato/potasio a pH 7.0 en el ánodo. Buffer con 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro de potasio o buffer con 500 mmol dm ⁻³ de fosfato en el cátodo.	0.7 con cátodo de aire	8.1	3.2	Allen y Bennetto, 1993
TEM (varios) Azúcar/ferrocianuro	<i>Proteus vulgaris</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo CVR (30.4), cátodo de platino (16)	37 °C, mediador difuso: tionina, pH 7.0	No disponible	13.8	5.8	Kim y col., 2000
TEM (varios) Azúcar/ferrocianuro	<i>Proteus vulgaris</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo CVR (30.4), cátodo de platino (16)	Mediador difuso: tionina, buffer de fosfato, pH 7.0. 0.1 mol dm ⁻³ de ferrocianuro en el catolito	0.52 (con 1μA)	13.2	5.26	Kim y col., 2000
TEM Glucosa/ferrocianuro	<i>E. coli</i> suspendidos, ó <i>A. succinogenes</i> ó cultivos mixtos de aguas residuales, anaerobio	Anodo de 12 g de fieltro de grafito tejido, Cátodo de 12 g de fieltro de grafito tejido. (no disponible)	Glucosa, 100 μmol dm ⁻³ de rojo neutro (RN) o 300 μmol dm ⁻³ de mediador tionina, buffer con 50 mmol dm ⁻³ de fosfato en el ánodo, pH 7.0. buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato y 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro en el cátodo	0.85	8.5	5.3	Park y Zeikus., 2000
TDE Glucosa/ferrocianuro	<i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>ferrireducens</i> , anaerobio	Electrodos: varilla de grafito (0.65) ó fieltro (2.0)	10 mmol dm ⁻³ de solución de glucosa en el ánodo, ferrocianuro de potasio en el cátodo. No se da más información	No disponible	3.1 con resistencia externa de 1000 Ω	No disponible	Chaudhuri y Lovley., 2003
TEM Glucosa/O ₂	<i>E. coli</i> suspendidos ó cultivos de aguas residuales, anaerobio	Grafito tejido, RN- grafito tejido (80) ó ánodo de Mn ⁴⁺ - grafito (80), Grafito tejido ó cátodo de Fe ³⁺ -grafito (80)	Buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, 10 g dm ⁻³ de lactato de sodio, 5 g dm ⁻³ peptona y 5 g dm ⁻³ de extracto de levadura. pH 7.0	No disponible	109 (RN (rojo neutro)- tejido/Fe ³⁺), 175 (Mn ⁴⁺ /Fe ³⁺)	84.5 (RN (rojo neutro)- tejido/Fe ³⁺) 78.8 Mn ⁴⁺ /Fe ³⁺	Park y Zeikus., 2003

Continuación Tabla 4.3 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente (μA cm ⁻²)	Densidad de potencia (μW cm ⁻²)	Referencia
TEM y TDE Glucosa/oxígeno	Cultivos mixtos derivados de lodo metanogénico anaerobio, algunos experimentos con cultivos purificados aislados, anaerobio	Electrodos de placas de grafito (50)	Caldo nutritivo en el ánodo, 0.5–5 g dm ⁻³ day ⁻¹ de glucosa, purga de nitrógeno, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de hexaferrocianuro de potasio, aireación continua en el cátodo	No disponible	No disponible	360	Rabaey y col., 2003
TDE Glucosa/ferrocianuro	<i>E. coli</i> suspendidos, anaerobio	Tejido de grafito (7.5) platinizado modificado con poli(tetrafluoroanilina) como ánodo, tejido de grafito no modificado como cátodo (7.5)	10 g dm ⁻³ de glucosa, 5 g dm ⁻³ de extracto de levadura, 10 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 8.5 g dm ⁻³ de NaH ₂ PO ₄ en el ánodo, 50 mmol dm ⁻³ de solución de ferrocianuro, 10 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 8.5 g dm ⁻³ de NaH ₂ PO ₄ en el cátodo	0.895	2,600	1,200	Schroder y col., 2003
Celda de tipo de producto usando almidón, glucosa o melaza para generar H ₂ /ferrocianuro	<i>Clostridium butyricum</i> ó <i>Clostridium beijerinckii</i>	Tejido de grafito (7.5) platinizado modificado con poli(tetrafluoroanilina) como ánodo, tejido de grafito no modificado como cátodo (7.5)	10 g dm ⁻³ de sustrato, 5 g dm ⁻³ , de extracto de levadura, 10 g dm ⁻³ de peptona, 0.5 g dm ⁻³ l-cisteina-HCl, 8 mg dm ⁻³ de CaCl ₂ , 8 mg dm ⁻³ de MgSO ₄ , 40 mg dm ⁻³ de KHSO ₄ , 80 mg dm ⁻³ de NaCl, 0.4 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 1 mg dm ⁻³ de resazurina purga de nitrógeno en el ánodo. 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro en un buffer de fosfato a pH 7.0 en el cátodo	0.759	5,070	400 (a 0.473 V)	Niessen y col., 2004
TEM y TDE Glucosa/ferrocianuro	Cultivos mixtos derivados de lodo metanogénico, algunos experimentos con cultivos purificados aislados, anaerobio	Electrodos de placas de grafito (50)	Anolito (caldo nutritivo) con alimentación de glucosa a 1 g dm ⁻³ día ⁻¹ . Catolito de 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro de potasio en buffer con 100 mmol dm ⁻³ de potasio/sodio/ fosfato, pH 7.0	No disponible	No disponible	431 (máximo a 0.66 V)	Rabaey y col., 2004

Tabla 4.4 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas por la oxidación de otros químicos

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	Densidad de potencia ($\mu\text{W cm}^{-2}$)	Referencia
TEM Lactato/piruvato	<i>Desulphovibrio desulphuricans</i> , anaerobio	Ánodo de carbón activado	Mediador sulfato/sulfuro, pH 7.8	No disponible	1,980	No disponible	Cooney y col., 1996
TDE Lactato (también piruvato y formiato)/ferrocianuro	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo de fieltro de carbón (9.3), cátodo CVR (21.6)	Buffer con 0.05 mol dm ⁻³ de fosfato y 0.1 mol dm ⁻³ de NaCl, pH 7.0.	No disponible	0.645	No disponible	Kim y col., 1999
TEM Acetato/ O ₂	<i>E. coli</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo RN (rojo neutro) -grafito modificado (118), cátodo de grafito (118)	80 mmol dm ⁻³ de acetato, 1 g dm ⁻³ de KH ₂ PO ₄ , extracto de levadura, peptona, NH ₄ Cl y CaCl ₂ respectivamente, 2 g dm ⁻³ de NaCl en el ánodo. 1 mol dm ⁻³ de KCl en el cátodo	No disponible	3.1	1.14	Park y col., 2000
TDE Lactato/ O ₂	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos y <i>E. coli</i> (TEM), anaerobio	Electrodos de fieltro de carbón (56)	Buffer con 50 mmol dm ⁻³ de Na-fosfato, pH 7.0, 0.1 mol dm ⁻³ de NaCl. Para algunos experimentos con <i>E. coli</i> , el ánodo contenía 25 mmol dm ⁻³ de azul de metileno	0.5 (0.52 con <i>E. coli</i> + mediador)	0.71 (estabilizado a 0.43 después de 6 días)	0.02 (0.01 después de 6 días)	Kim y col., 2002a
TDE/TEM Sedimento marino/ agua marina	Diversas bacterias	Discos de grafito perforados (1,830)	Agua de mar. Ánodo situado a 15 cm debajo de la superficie, cátodo situado a 15 cm por encima de la superficie del sedimento.	0.75	7	3.2	Tender y col., 2002
TEM Lactato (también piruvato, acetato y glucosa)/ O ₂	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos, anaerobio	Grafito tejido, RN- grafito tejido, ánodo de grafito con Mn ⁴ (80), cátodo de grafito modificado con Fe ³⁺ (50)	100 ó 200 mmol dm ⁻³ de lactato, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, 1 g dm ⁻³ de extracto de levadura, peptona y NH ₄ Cl respectivamente, pH 7.0	0.6	3.75	0.94	Park y Zeikus, 2002

4.3.1.2 CMB

Se construyó una CMB de vidrio con volumen útil de trabajo, tanto del ánodo como del cátodo, de 350ml. El compartimiento del ánodo fue burbujeadado con N_2 para desplazar el O_2 presente previo al cierre del ánodo. El electrodo empleado fue papel carbón sin tratar distribuido por Fuelcell (Toray carbón paper).

La celda tipo MIP (celda con membrana de intercambio de protones) constó de dos compartimientos, uno del ánodo y otro del cátodo, unidos por una membrana intercambiadora de protones NafionR 117, película de $183\mu m$ reforzada a base de un copolímero de PTFE (teflón/ácido perfluorosulfónico). Su estructura molecular posibilita que absorba agua y una vez húmedo, conduce selectivamente iones de carga positiva, bloqueando los de carga negativa. Esta característica es asociada con la inactividad química, resistencia mecánica y estabilidad conocidas de las resinas Teflon (Fuelcell Internacional, EEUU). La membrana fue activada antes de usarla con $H_2SO_4 1N$ a $45^\circ C$ por 24h (Kim y col., 2005).

En el compartimiento del cátodo se empleó un catolito acuoso con burbujeo de aire para utilización del O_2 y como electrodo papel carbón sin tratar con Pt ($0.5\text{ mg de Pt } 10\% \text{ por cm}^2$), mientras que en el ánodo se utilizó un inóculo mixto de tipo floculento anteriormente seleccionado y estabilizado. A este último electrodo no se le aplicó ningún catalizador, ya que esa función la llevaron a cabo los microorganismos contenidos en dicho inóculo. Los electrodos de papel carbón empleados en cada compartimiento fueron de $1.7 \times 1.6\text{ cm}$, con un área de 2.72 cm^2 .

El arranque de la CMB consistió en colonizar el electrodo con el consorcio microbiano contenido en el inóculo, con el propósito de formar una biopelícula; es decir, una comunidad compleja de microorganismos que se adhieren al electrodo y producen un polímero celular como recubrimiento que les ayuda a retener el alimento y a protegerse de agentes tóxicos, para finalmente producir electricidad.

Durante este proceso se realizaron tres transferencias secuenciales de inóculo hasta obtener una respuesta electroquímica de voltaje constante; además, el patrón del voltaje se reprodujo a la tercera adición del inóculo mixto en el ánodo. Es de notar que para el cambio del inóculo no se tuvo condiciones estrictas anaerobias. Los experimentos se efectuaron a temperaturas mesofílicas, colocando la celda en un baño termostático.

Para el circuito de la celda tipo MIP se emplearon dos resistencias externas, una de $1000\ \Omega$ durante un periodo de 102 días y una segunda de $600\ \Omega$ durante los días restantes. Basados en previas experimentaciones (Liu y col., 2004; Logan, 2004) se operó la CMB por un periodo no superior a 155 días, sin incluir el arranque. Los cambios que ocurrieron en la comunidad microbiana durante este tiempo fueron monitoreados mediante métodos electroquímicos.

4.3.1.3 Análisis

El electrodo se monitoreó realizando mediciones de ácidos grasos volátiles por titulación, potencial de hidrógeno (pH), temperatura y demanda química de oxígeno soluble (DQOs) en la corriente líquida. Dichos parámetros fueron determinados de acuerdo al APHA (1998). Finalmente, las mediciones de corriente y voltaje se realizaron mediante un multímetro.

4.3.1.4 Aclimatación de la celda

Cuando la CMB fue inoculada con el cultivo bacteriano de tipo entérico hubo una fase de latencia de 30h seguida de un rápido incremento en el voltaje en las siguientes 40h, alcanzando un voltaje de 0.4V (Figura 4.7). Posteriormente el voltaje disminuyó gradualmente a medida que la materia orgánica contenida en el inóculo fue consumida. Al adicionar la tercera transferencia de inóculo a la CMB el comportamiento tiende a ser similar, produciéndose un intervalo de estabilidad de $0.37 \pm 0.03V$, constituyendo la última etapa en el patrón de crecimiento bacteriano. Una vez que el sustrato fue consumido cesó el crecimiento y ocurrió muerte celular, viéndose afectada la generación de voltaje.

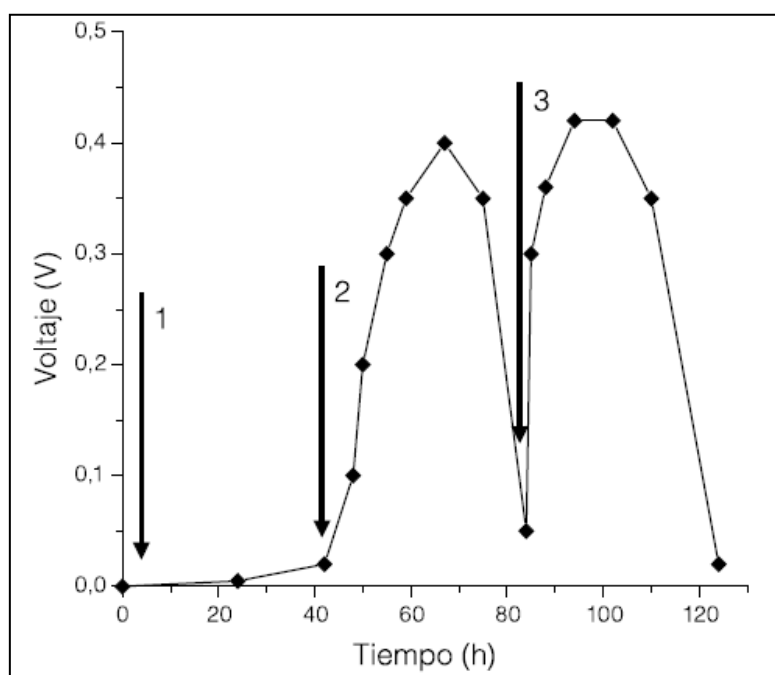


Figura 4.7 Aclimatación de la CMB con tres aplicaciones sucesivas de inóculo (Alzate-Gaviria y col., 2008)

Después de 120h de operación se reemplazó parte del inóculo por ARS, conservando únicamente 10% del inóculo. Se observó que se generó inmediatamente electricidad en la CMB previamente inoculada (Figura 4.8), alcanzando un voltaje máximo de 1.05V y manteniéndose en un intervalo de $0.90 \pm 0.1V$ en las siguientes 55h.

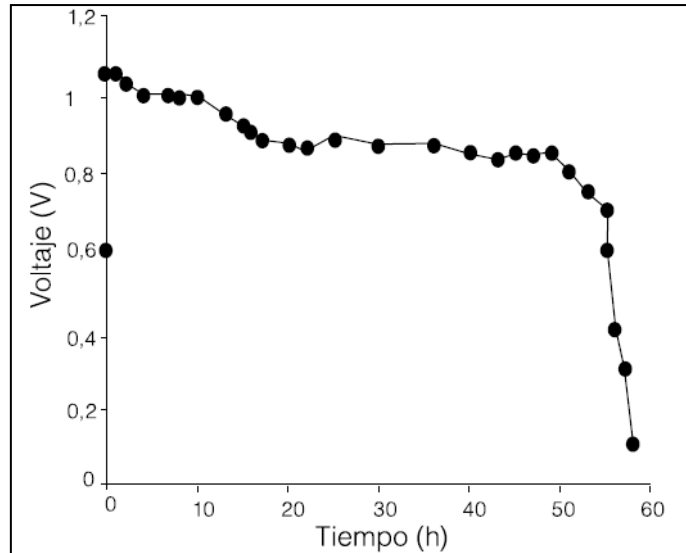


Figura 4.8 Generación de voltaje a partir de glucosa como sustrato (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.5 Efecto de la concentración del sustrato

La producción de voltaje en la CMB (Figura 4.9) siguió una cinética de saturación; es decir, de utilización del sustrato en sistemas biológicos en función de la concentración y la velocidad de transporte (Liu y Logan, 2004). Como se puede observar en la figura, el voltaje se incrementó a medida que la concentración de glucosa aumentó, manteniéndose constante a partir de una concentración de 1000ppm en $1.15 \pm 0.05V$. Así, el máximo radio de utilización del sustrato ocurre en altas concentraciones del mismo (Metcalf y Eddy, 2003).

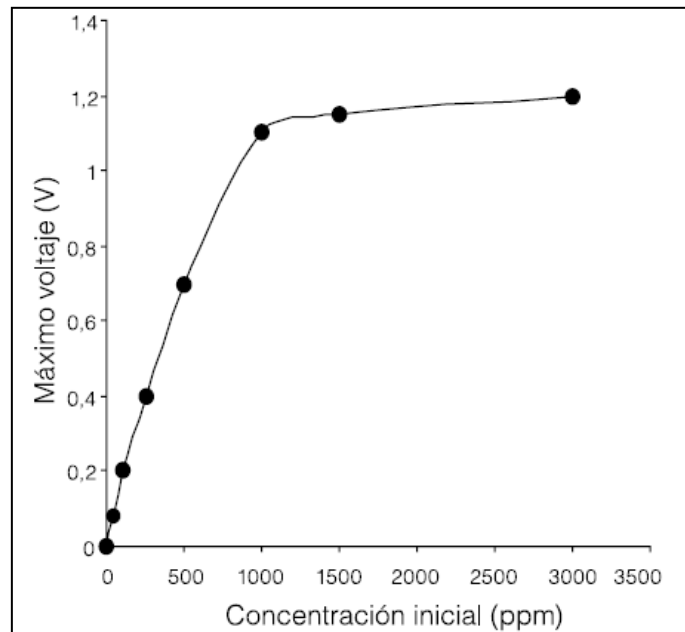


Figura 4.9 Voltaje máximo obtenido a partir de la concentración de glucosa (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.6 Generación de electricidad en medición continua

En esta etapa se monitoreó la generación de electricidad durante un periodo de 130 días. En la Figura 4.10 se observa que con una resistencia de 1000Ω , el voltaje se mantuvo en $0.88 \pm 0.17V$ durante los primeros 102 días, mientras que la generación de corriente osciló en un intervalo de $80 \pm 20\mu A$. Después de 102 días se empleó una resistencia de 600Ω , registrándose valores de $0.91 \pm 0.08V$, en tanto que la corriente se incrementó rápidamente hasta alcanzar un máximo de $170 \pm 18\mu A$. Con las dos resistencias utilizadas se comprobó, como se esperaba, que con una resistencia menor se registra una mayor corriente. Ésto se debe a que con bajas resistencias, los electrones se mueven más fácilmente a través del circuito. A mayor oxidación del combustible por los microorganismos se espera altos índices de oxidación de los transportadores de electrones en el cultivo a bajas resistencias. Adicionalmente, una CMB puede ponerse en marcha a bajas resistencias para remover contaminantes de altos índices orgánicos (Jang y col., 2004).

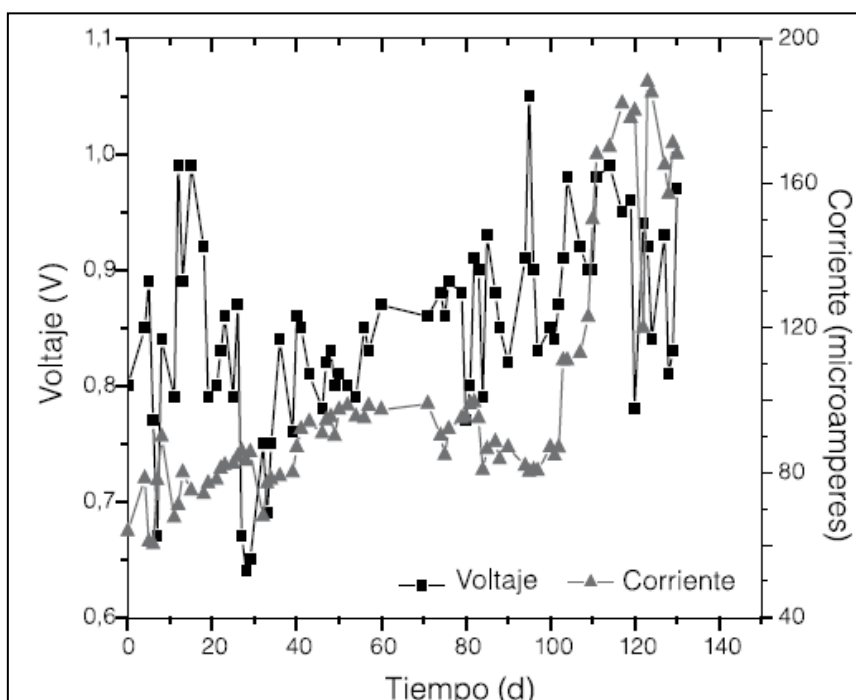


Figura 4.10 Generación de electricidad en la etapa de medición continua, utilizando resistencias externas de 100 y 600Ω (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.7 Generación de potencia en la CMB

La densidad de potencia generada por la CMB se mide en mW/m^2 , y para los cálculos se emplea la ecuación de la potencia. La producción de la densidad de potencia se muestra en la Figura 4.11. Al emplear una resistencia de 1000Ω , la máxima potencia generada fue de $335 mW/m^2$ ($263 \pm 72mW/m^2$) con un voltaje de $1.05V$. Cuando se utilizó una resistencia de 600Ω se obtuvo una máxima densidad de potencia de $640 mW/m^2$ ($515 \pm 125mW/m^2$) con $0.99V$, es decir, la potencia fue

cerca del 50% mayor que la obtenida con una resistencia de 1000 Ω . De igual forma, la remoción de materia orgánica expresada en DQO fue de 65 y 82% con 1000 y 600 Ω respectivamente.

Los resultados muestran que operar con resistencias externas más bajas aumenta la producción de densidad de potencia y conlleva una mayor remoción de materia orgánica (Jang y col., 2004). Los valores obtenidos se encuentran en un intervalo medio alto con respecto a otros trabajos reportados en la literatura.

El sistema CMB empleó un catolito acuoso para proveer O_2 disuelto al electrodo, sin emplear mediadores externos. Los consorcios microbianos generan mayor densidad de potencia que los cultivos puros (Rabaey y Verstraete, 2005; Pham y col., 2006; Rittmann, 2006).

La densidad de potencia más alta que reporta la literatura es de 3600 mW/m^2 en el estudio de Rabaey y col. (2003) donde utilizaron glucosa como sustrato y hexaferrocianuro de potasio para optimizar el rendimiento del cátodo. El ferrocianuro es muy popular como aceptor de electrones en experimentos con CMB y pueden alcanzarse voltajes mayores que utilizando O_2 . La gran ventaja del ferrocianuro es el bajo sobrepotencial utilizando cátodos de carbón plano; sin embargo, la generación de potencia con ferrocianuro no es sustentable debido a la insuficiente reoxidación por O_2 , lo cual requiere que el catolito sea remplazado regularmente. Además, largos términos de desempeño del sistema pueden ser afectados por la difusión de ferrocianuro a la cámara del ánodo (Logan y Regan, 2006a).

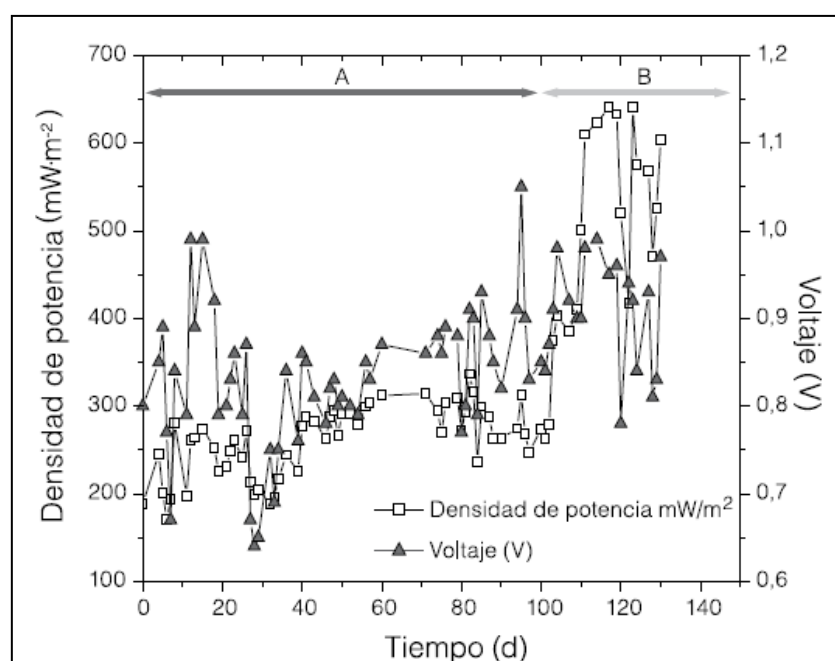


Figura 4.11 Generación de potencia en la CMB, empleando una resistencia de 1000 Ω (A) y una resistencia de 600 Ω (B) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.8 Influencia del pH

Otro parámetro importante en el desempeño de la CMB es el pH del compartimiento anódico. Durante la experimentación de la CMB se mantuvo el pH del anolito en 5.95 ± 0.75 . La Figura 4.12a muestra la relación entre la producción de potencia de la CMB y el pH. Como puede apreciarse, las más altas densidades de potencia ocurrieron en valores de pH entre 5.5 y 6.0 obteniéndose resultados que oscilaron entre 280 y 335 mW/m² para el caso de 1000 Ω (Figura 4.12b). La densidad de potencia disminuyó ligeramente a medida que el pH aumentó hasta 6.8; sin embargo, cuando el pH fue >7.0 , la densidad de potencia registrada se redujo, manteniéndose en 225 ± 45 mW/m². Estos últimos resultados demostraron que es recomendable operar la CMB a un pH entre 5.5 y 6. En las mediciones efectuadas empleando una resistencia de 600 Ω (Figura 4.12b), se alcanzó a pH entre 5.8 y 6.3 una densidad de potencia máxima de 640 mW/m².

Las condiciones de pH son un factor clave en el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de las bacterias entéricas no toleran niveles de pH arriba de 7.5 o debajo de 4.0. Además, valores de pH por debajo de 6.8 inhiben la actividad metanogénica (Metcalf y Eddy, 2003).

Para este proceso se requirió que durante el metabolismo de fermentación anaerobia se inhibieran algunos microorganismos, como los homoacetogénicos los cuales requieren H₂ para la producción de acetato y los metanogénicos que utilizan el H₂ para la producción de metano. Es por ello que la operación de los sistemas se realiza a bajos niveles de pH (Angenent y col., 2004).

4.3.1.9 Efecto de la temperatura en el rendimiento de la CMB

La CMB operó bajo temperatura mesofílica de $35 \pm 5^\circ\text{C}$ los primeros 102 días. Durante este periodo la máxima densidad de potencia que se alcanzó fue de $30 \pm 6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($336 \text{ mW}/\text{m}^2$) empleando 1000 Ω a 37°C (Figura 4.13). Los siguientes días se mantuvo una temperatura constante de 40°C , obteniéndose una densidad de potencia máxima de $61 \pm 7 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($640 \text{ mW}/\text{m}^2$) con 600 Ω . Bajo este último esquema se aumentó la temperatura en 5°C , obteniendo $63 \pm 5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$; observándose que al incrementar la temperatura a 45°C no se registran incrementos substanciales en la densidad de potencia, puesto que el resultado obtenido es muy similar al que se alcanzó a una temperatura de operación de 40°C (Figura 4.13). Estos resultados reflejan la gran influencia de la resistencia externa utilizada, aunada a una temperatura óptima de operación (Rozendal y col., 2006).

Una ventaja importante de las CMB es que pueden producir electricidad a partir de materia orgánica, operando a temperaturas moderadas, como son $20\text{-}40^\circ\text{C}$ (Min y Logan, 2004; Niessen y col., 2004; Oh y col., 2004; Kim y col., 2005; Liu y col., 2005a; Aelterman y col., 2006a; Cheng y col., 2006b; Zhao y col., 2006; Logan y col., 2007; Oh y Logan, 2007).

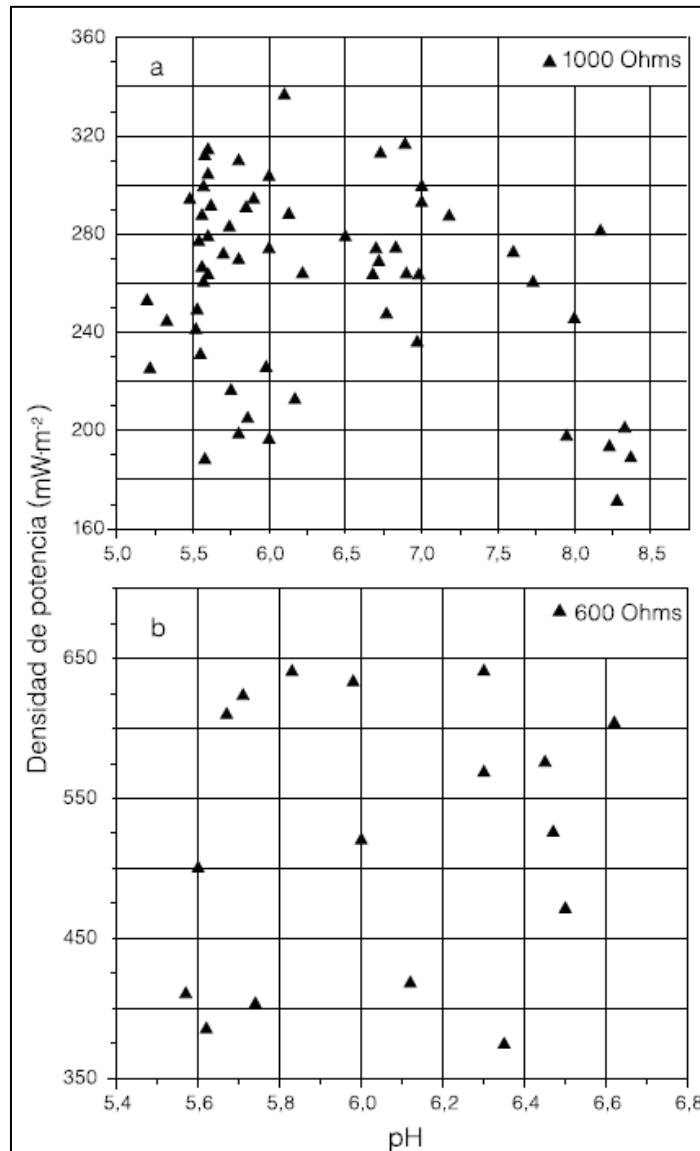


Figura 4.12 Efecto del pH en la densidad de potencia, con una resistencia de 1000 Ω (a) y una resistencia de 600 Ω (b) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.10 Eficiencia obtenida en una CMB

La eficiencia de corriente se determina con base a la eficiencia coulombica (EC), la cual se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera como electricidad:

$$E = \frac{C_p}{C_{ti}} \times 100 \quad (4-1)$$

Para determinar C_p se utiliza la grafica de la corriente en función del tiempo de operación de la CMB. Al integrar el área bajo la curva desde ($t=0$ hasta 130 días) se obtiene la carga total (q) en coulombs, que fue $C_p = 12367,23$ (Figura 4.14). El sustrato empleado fue glucosa. Para el cálculo de

la cantidad teórica de coulombs que pueden ser producidos por la glucosa se emplea la ecuación anteriormente descrita (Liu y col., 2005b) para C_{ti} ,

$$C_{ti} = \left[\frac{F \times b \times S \times v}{M} \right] \quad (4-2)$$

donde

F: Constante de Faraday (98485 C/mol de electrones)

b: Numero moles de electrones producidos por mol de sustrato (para glucosa como sustrato $b=24$)

S: Concentración del sustrato (g/l)

v: Volumen del líquido

M: Peso molecular del sustrato (glucosa, 180)

De esa manera se obtiene $C_{ti}=20,681.85$. Por su parte, la eficiencia coulombica de la CMB es

$$EC = \left[\frac{12,367.23}{20,681.85} \right] \times 100 = 59.79\% \quad (4-3)$$

Las EC calculadas para celdas de combustibles microbianas que registra la literatura varían pero, en general, incrementan con la densidad de potencia porque hay menos tiempo para que se pierda sustrato durante la competencia en procesos físicos y biológicos (Logan y Regan, 2006b).

En este estudio se obtuvo una EC del 59.79%. Por ejemplo, con acetato se obtuvieron eficiencias de 65% (Min y Logan, 2004) y 63-78% (Oh y col., 2004). Con glucosa, las EC fueron de 89% empleando hexacianoferrato de potasio en su cátodo (Rabaey y col., 2003), mientras que Liu y Logan (2004) obtuvieron 40-55% empleando una MIP y 9-12% sin el uso de membrana, pero utilizando un cátodo de aire, observándose que la mayor desventaja de este sistema fue la pérdida de sustrato debido a la oxidación aerobia en el ánodo, es decir, en la ausencia de una MIP existe una mayor difusión de O_2 de la cámara del cátodo al ánodo. Con aguas residuales las EC fueron de 3-12% (Liu y col., 2004), con proteínas la eficiencia fue de 6% (Heilman y Logan, 2006) y, finalmente, empleando lactato y ferrocianuro de potasio la eficiencia fue de 2.4% (Ringeisen y col., 2006).

4.3.1.11 Conclusiones

- Un dispositivo de celda de combustible microbiana tipo MIP puede generar electricidad y a la vez depurar agua residual, lo que lo hace atractivo para tratamientos *in situ* o para la modificación de las actuales plantas de tratamiento convencionales.
- Un aspecto a mejorar en futuros estudios es aumentar el área del ánodo para compensar las pérdidas por muerte y espacio ocupado por otras bacterias no generadoras de electricidad en la biopelícula.
- La eficiencia coulombica en un electrodo acuoso se puede mejorar empleando para el circuito una menor resistencia.

- Se demostró como teniendo un aceptor de electrones externo la presencia de conductividad es inminente en el anolito de la CMB.

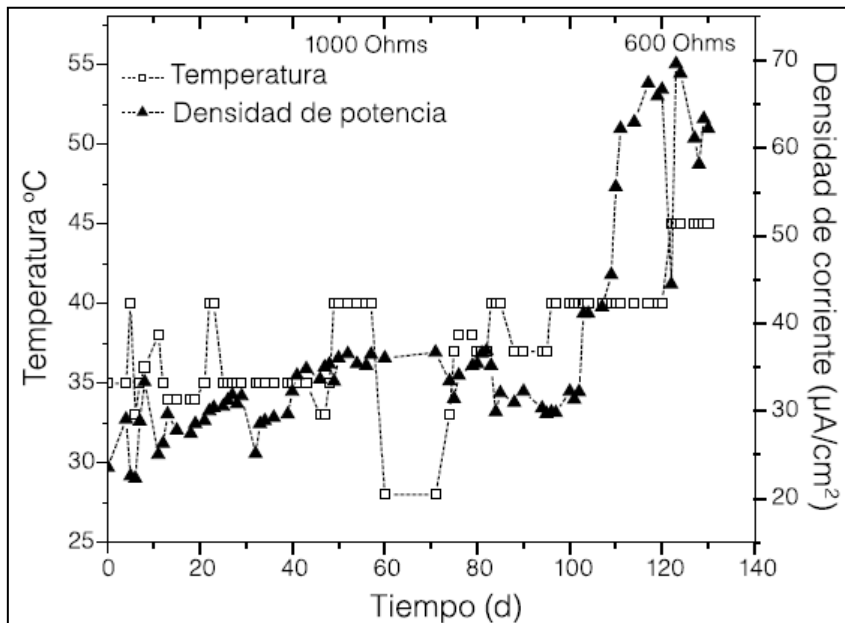


Figura 4.13 Relación de la temperatura de operación sobre la densidad de corriente, utilizando 100 y 600 Ω (Alzate-Gaviria y col., 2008)

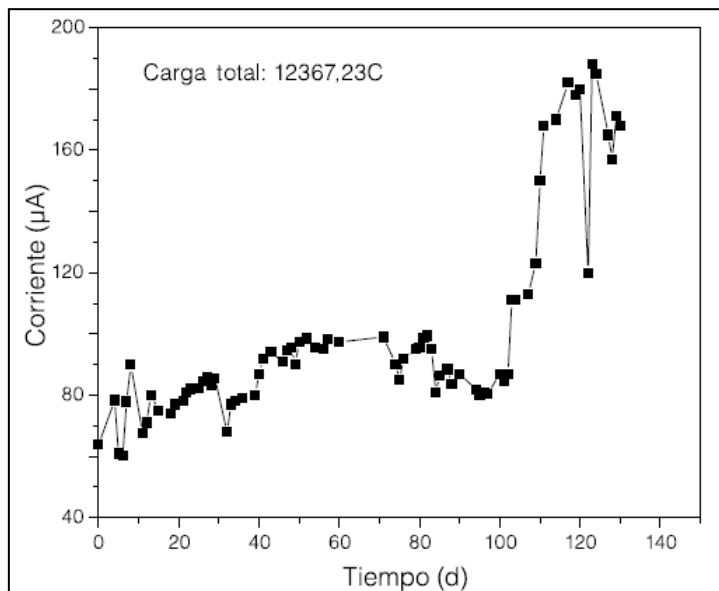


Figura 4.14 Corriente registrada en función del tiempo (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.2 Caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados

4.3.2.1 Materiales y métodos

La CMB consistió de un cilindro horizontal construido de plexiglass, 78 mm de largo (distancia entre electrodos) y diámetro interno de 48 mm. En un extremo del cilindro, se colocó un ánodo circular hecho de una lámina de acero inoxidable de 1 mm de grosor.

En el otro extremo, se colocó un cátodo constituido por tres capas circulares (desde adentro hacia fuera): Membrana de intercambio protónico (Nafion 117), papel de carbón Toray con una concentración de 0.5 mg Pt/cm² como catalizador, y lámina perforada de acero inoxidable de 1 mm de grosor.

El cátodo fue aireado por convección natural, ya que la capa de metal estuvo en contacto con el aire (Figura 4.15). El área superficial del ánodo por unidad de volumen fue de 12.82 m²/m³. Dos puertos de muestreo (parte superior e inferior) fueron taladrados en el cuerpo del cilindro de la CMB para alimentar y purgar.



Figura 4.15 Diagrama de una CMB creada en México (Carmona-Martínez y col., 2006)

La CMB fue inoculada con 143 ml de inóculo proveniente de un reactor metanogénico completamente mezclado. La concentración de biomasa en el inóculo fue de 200 mg SSV/L. La CMB fue cargada con 7 ml de un extracto modelo similar al perfil de metabolitos generados en la producción biológica de hidrógeno a partir de residuos sólidos municipales (Valdez-Vázquez y col., 2005).

El extracto usado como modelo fue constituido por una mezcla de los siguientes ácidos: Acético, propiónico y butírico, así como de acetona y etanol y sales minerales (Tabla 4.3). La DQO del extracto modelo fue de 16 g DQO/L. La CMB fue operada en régimen por lote de 50h a 37°C. El pH inicial y final fue de 7.66 y 8.32, respectivamente.

Tabla 4.5 Composición del extracto modelo para la CMB (Carmona-Martínez y col., 2006)

Componente	Cantidad (g/L)
Acetona	4.0
Etanol	4.0
A. acético	4.0
A. propiónico	4.0
A. butírico.	4.0
NaHCO ₃	3.0
K ₂ HPO ₄	0.6
Na ₂ CO ₃	3.0
NH ₄ Cl	0.6

El ánodo fue conectado con el cátodo a través de una resistencia externa variable con el objetivo de estimar el valor de la resistencia interna de la CMB. La resistencia interna de la CMB es una de las características esenciales de la CMB, ya que de acuerdo con el Teorema de Jacobi de la máxima potencia generada por una fem, una CMB operada bajo una resistencia externa igual a su resistencia interna dará la potencia máxima. Bajo esta consideración, se llevó a cabo la curva de polarización de la CMB, ésto es, el voltaje de la celda y la intensidad de corriente en función de un valor de resistencia externa.

4.3.2.2 Resultados

En la Figura 4.16 se observa la variación de E_{CMB} CA y en función de la variación de la Rext. Como se puede apreciar, para generar la Curva de Polarización para la CMB fue necesario variar las Rext de 10 kΩ hasta 1000 kΩ y viceversa. Adicionalmente, de la Figura 4.16 se aprecia que para comenzar la Curva de Polarización, fue necesario operar la CMB en Circuito Abierto durante un poco más de 1h.

Al finalizar la curva de polarización, nuevamente se operó la CMB en Circuito Abierto con lo cual se logró corroborar el estado estacionario del sistema y de la misma forma que las condiciones en que se obtuvo la Curva de Polarización fueron adecuadas. Ya que en periodos más largos, la concentración del sustrato habría variado debido a la demanda del mismo que ocurre en el ánodo (Logan y col., 2006).

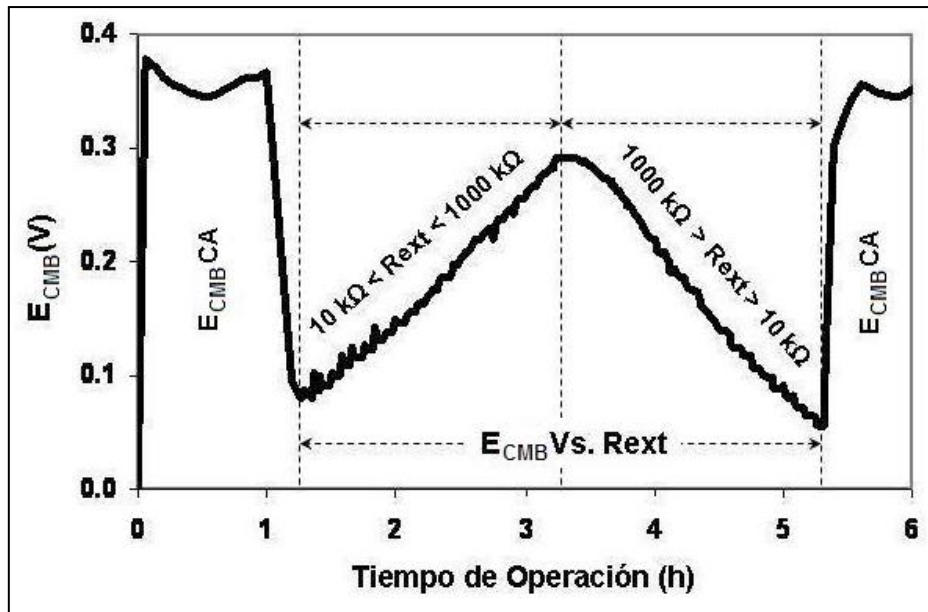


Figura 4.16 Voltaje a circuito abierto y sometido a una resistencia externa (Carmona-Martínez y col., 2006)

Con el fin de observar de manera más clara el efecto de la variación de las R_{ext} en el comportamiento de la CMB, la Figura 4.17 muestra como E_{CMB} e I_{CMB} se ven afectadas al recibir un impulso externo debido a la manipulación de la R_{ext} .

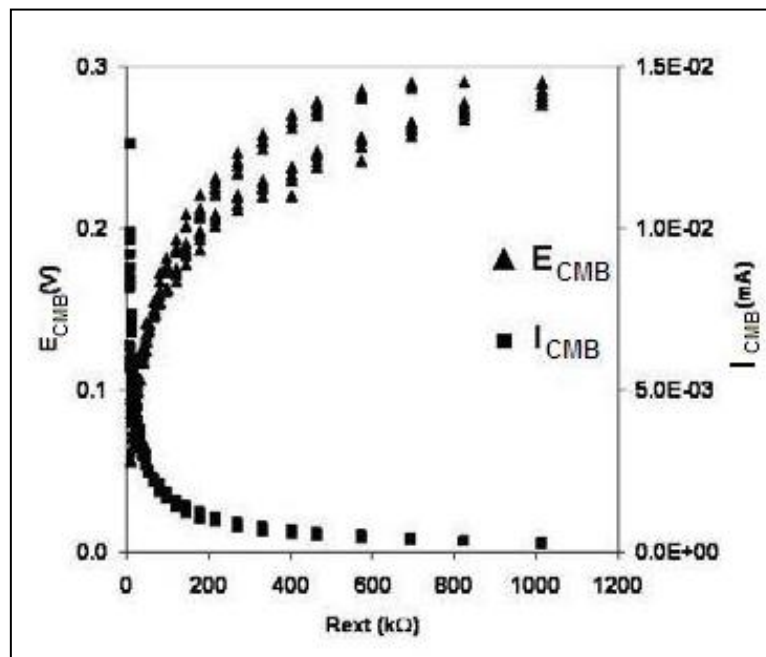


Figura 4.17 Voltaje y corriente en función de una R_{ext} (Carmona-Martínez y col., 2006)

Otro de los beneficios que ofrece estudiar una CMB a través de la realización de una Curva de Polarización, es dilucidar la Resistencia Interna (R_{int}) del sistema. De acuerdo a diversos autores (He y col., 2005; Kim y col., 2007; Zhao y col., 2006; Zuo y col., 2006), la R_{int} de una CMB se puede extraer mediante la pendiente de la Curva de Polarización.

Primero, el voltaje a circuito abierto fue monitoreado (~ 0.36 V). Después de 1 h, la curva de polarización fue determinada al registrar E_{CMB} y I_{CMB} a valores ascendentes de la resistencia externa y viceversa. La curva de polarización promedio no fue lineal. La pendiente promedio de tal curva fue calculada y dio un valor de ~ 32 k Ω para la resistencia interna de la CMB (Figura 4.18).

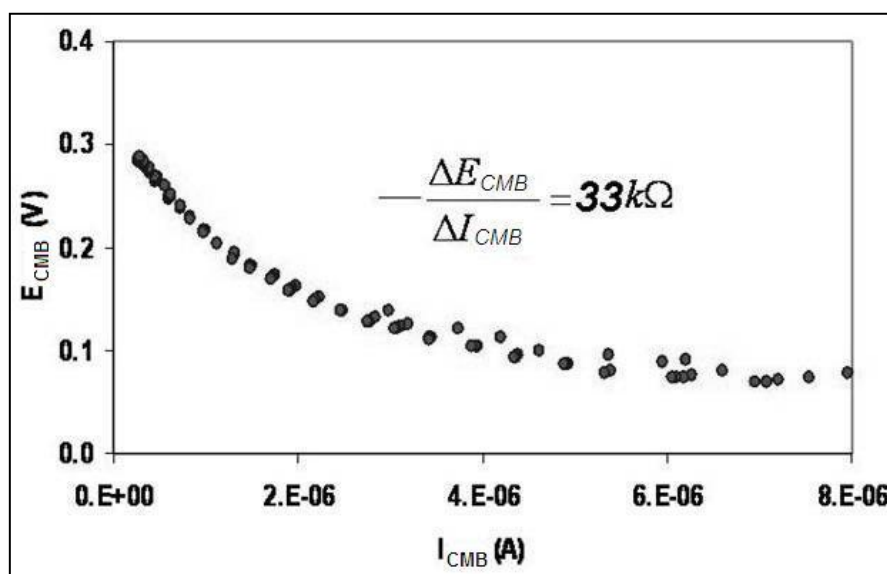


Figura 4.18 Método gráfico para encontrar R_{int} (Carmona-Martínez y col., 2006)

Más tarde, el voltaje a circuito abierto fue nuevamente monitoreado y se encontró un valor de 0.35V. Lo anterior fue congruente con el primer valor del voltaje a circuito abierto, con lo cual se validó el procedimiento de la curva de polarización.

La CMB mostró un valor de potencia máximo cercano a 5×10^{-5} mW (Figura 4.19). Este valor es considerado bajo, y a la vez atribuido al alto valor de R_{int} , entre otras pérdidas.

4.3.2.3 Conclusiones

La Curva Polarización aunque mostró una Resistencia Interna del sistema alta, cual indicaría aún la posibilidad de utilizar la CMB en cuestión para el tratamiento de extractos de la producción biológica de hidrógeno. Adicionalmente la Curva de Polarización brindó los datos necesarios para caracterizar la CMB con respecto a un inóculo metanogénico y a la concentración de catalizador utilizada.

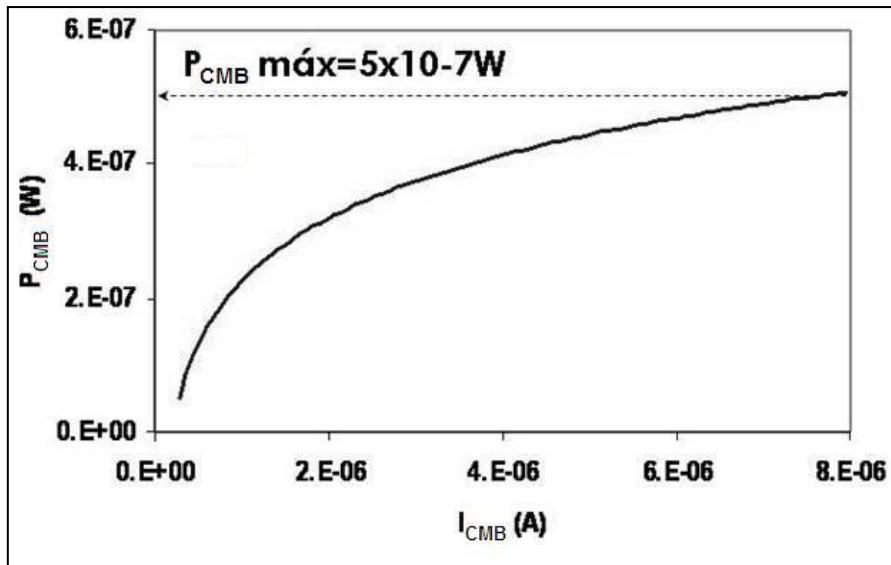


Figura 4.19 Potencia máxima obtenida de la CMB (Carmona-Martínez y col., 2006)

Capítulo 5. Aplicaciones de las CMB

Las CMB se encuentran en un proceso de investigación y desarrollo. Los reactores más grandes que se han reportado a la fecha, tienen un volumen interno del ánodo de 0.388 litros (Liu y col., 2004). Sin embargo, la intensa investigación que se ha venido realizando por diversos grupos de investigación a nivel mundial, ha logrado grandes avances en el desarrollo de las CMB y ha encontrado usos alternativos para esta tecnología que ya pueden aplicarse para solucionar problemas de gran importancia a nivel mundial. A continuación se mencionan algunas de las aplicaciones alternativas más importantes de las CMB.

5.1 Producción de hidrógeno

Las CMB pueden ser modificadas de manera que se utilicen para la producción de H_2 , por medio del proceso de electrólisis, esta modificación se puede realizar mediante la remoción del oxígeno de la cámara catódica y añadiendo un pequeño voltaje. Bajo condiciones normales de operación, los protones liberados por la reacción anódica migran al cátodo para combinarse con el oxígeno y formar agua. La generación de hidrógeno a partir de los electrones y protones producidos por el metabolismo de microorganismos en una CMB es termodinámicamente desfavorable. Por ello, la aplicación de un potencial externo para incrementar el potencial del cátodo en un circuito de CMB permite superar la barrera termodinámica. Así, los protones y electrones producidos por la reacción anódica se combinan en el cátodo para formar hidrógeno (ésto se logra en ausencia de oxígeno). El potencial externo requerido teórico para una CMB es 110mV, el cual es mucho menor que los 1210mV requeridos para llevar a cabo la electrólisis directa de agua a pH neutro, ésto se debe a que algo de energía proviene del proceso de oxidación de la biomasa en la cámara anódica. (Du y col., 2007)

Las CMB pueden potencialmente producir alrededor de 8 a 9 mol H_2 /mol glucosa comparado con el típico 4 mol H_2 /mol glucosa alcanzado en fermentaciones convencionales. (Liu y col., 2005b; Logan y Reagan, 2006a) Entre las ventajas que presenta este sistema para la producción de hidrógeno se encuentra la mejora en eficiencia debida a la ausencia de oxígeno en la cámara catódica y que el hidrógeno producido puede acumularse y almacenarse para su uso posterior.

5.2 Tratamiento de aguas residuales

Recientemente, el tratamiento bioelectroquímico de aguas residuales ha emergido como una tecnología potencialmente interesante para la producción de energía de aguas residuales. El tratamiento bioelectroquímico de aguas residuales se basa en el uso de microorganismos electroquímicamente activos.

Los microorganismos electroquímicamente activos son capaces de transferir electrones extracelularmente y pueden usar este mecanismo para transferir electrones a un electrodo mientras oxidan la materia orgánica presente en las aguas residuales. Los microorganismos funcionan como un catalizador para la oxidación electroquímica de la materia orgánica, y el electrodo es por lo tanto

descrito como un biánodo microbiano. El proceso de tratamiento bioelectroquímico de aguas residuales puede ser modificado por una conexión eléctrica del biánodo a un electrodo auxiliar (cátodo) que desempeñará una reacción de reducción. Como resultado de esta conexión eléctrica entre el ánodo y el cátodo, las reacciones de los electrodos pueden ocurrir y los electrones pueden fluir del ánodo al cátodo produciendo así una corriente eléctrica (Rozendal y col., 2008).

Las aguas residuales provenientes de la industria, la agricultura y de las casas contienen materia orgánica disuelta que requiere removerse antes de descargarse al medio ambiente. Actualmente, existen procesos para remover los contaminantes orgánicos presentes en esta agua de desecho, la mayoría de estos procesos son tratamientos aerobios, los cuales consumen grandes cantidades de energía en el proceso de aireación. Sin embargo, el tratamiento de aguas residuales ha empezado a ser reconocido como una fuente renovable para la producción de electricidad lo cual podría emplearse para el mismo proceso de tratamiento de efluentes (Aelterman y col., 2006b; Logan y Reagan 2006a).

5.3 Biorremediación

Existe también la posibilidad de modificar una CMB para utilizarla en procesos de biorremediación de suelos y aguas subterráneas. Aunque hay quienes argumentan que al ser modificadas ya no son CMB reales, ya que no producen electricidad, el principio de operación es similar y se usa la tecnología de las CMB para cumplir estos objetivos. Las bacterias no son solo capaces de donar electrones a un electrodo, también pueden aceptar electrones del mismo. Al modificar una CMB convencional, ésta no se usa para producir electricidad, en lugar de esto, se aplica una corriente al sistema para llevar a cabo la reacción deseada y así remover o degradar, por ejemplo U(VI) soluble a U(IV) insoluble. Es por esto que se ha propuesto su aplicación en sitios contaminados por metales pesados como U(VI). Una estrategia simple para prevenir posibles contaminaciones con uranio es adicionar un donador orgánico de electrones, como acetato a las aguas subterráneas. El acetato estimula el crecimiento de especies de *Geobacter*, las cuales obtienen la mayoría de su energía con la oxidación del acetato y la reducción de los óxidos de Fe(III), los cuales son abundantes en la mayoría del subsuelo. Como las aguas subterráneas que contienen U(VI) entran a una zona de adición de acetato, las especies *Geobacter* también transfieren electrones de U(VI) soluble reduciéndolo a U(IV) el cual es altamente insoluble. Esto previene la futura migración de uranio, ya que queda secuestrado en el suelo. Así, cuando un electrodo sirve como donador de electrones al U(IV) que es producido, precipita en la superficie del electrodo. El uso de esta tecnología para este fin ayuda con los problemas de contaminación ambiental, ya que no solo previene la movilidad del uranio, si no también, se puede extraer con bicarbonato cuando se retiran los electrodos de los lugares en los que operaron y posteriormente pueden reutilizarse dichos electrodos (Gregory y col., 2004; Gregory y Lovley, 2005).

5.4 Biosensores

Datos del medio ambiente pueden ser útiles para entender y modelar respuestas de los ecosistemas, aquí nace una aplicación importante para las CMB, las cuales pueden emplearse para monitorear ambientes de tres maneras diferentes como se explica a continuación.

Los sistemas distribuidos en ambientes naturales requieren energía para su operación. Las CMB pueden ser usadas como dispositivos que proporcionan dicha energía, particularmente en ríos y aguas profundas marinas donde es difícil acceder de manera continua al sistema para reemplazar baterías. Celdas combustibles en sedimentos han sido desarrolladas para monitorear sistemas ambientales como son arroyos, ríos y océanos (Logan y Reagan, 2006a).

Otra aplicación importante en el campo de los biosensores es el monitoreo de compuestos tóxicos. Las bacterias muestran una baja actividad metabólica cuando son inhibidas por compuestos tóxicos. Esta inhibición causa una baja transferencia de electrones hacia el electrodo. De esta forma, un biosensor puede construirse inmovilizando una bacteria en el electrodo de una CMB y protegiéndola detrás de una membrana. Si un compuesto tóxico se difunde a través de la membrana, éste puede medirse por el cambio en el potencial del sensor. Dichos sensores pueden ser de utilidad como indicadores de sustancias tóxicas en ríos o en la entrada de plantas de tratamiento de aguas (Meyer y col., 2002; Chang y col., 2004; Rabaey y col., 2005d)

Aparte de las aplicaciones antes mencionadas, otra aplicación potencial de la tecnología de las CMB es usarla como un sensor para análisis de poblaciones y un control de procesos *in situ*.

Capítulo 6. Aplicaciones recientes en funcionamiento

6.1 Alimentación de una boya meteorológica

A continuación se describe la primera demostración de una celda microbiana de biocombustible (CMB) como una alternativa práctica para aplicaciones de bajo consumo energético. La aplicación reportada es una boya meteorológica de un consumo promedio de aproximadamente 18 mW, que mide la temperatura del aire, presión, humedad relativa y temperatura del agua, y que está configurada para proporcionar datos en tiempo real (Tender y col., 2008). El tipo específico de CMB utilizada en la demostración es la celda microbiana de biocombustible bentónica (CMBB). Las CMBB operan en el fondo de los ambientes marinos, en donde oxidan la materia orgánica que reside en los sedimentos sin oxígeno con la ayuda del oxígeno del agua que se encuentra sobre éstos. Son libres de mantenimiento, pueden funcionar indefinidamente y son lo suficientemente potentes como para operar una amplia gama de instrumentos científicos de bajo consumo de energía que normalmente funcionan con pilas. Se utilizaron dos prototipos de CMBB para alimentar la boya. El primero fue desplegado en el río Potomac en Washington, DC. EEUU, con un peso de 230 kg, un volumen de 1.3 m³, y sostenido con 24 mW (energía equivalente a aproximadamente 16 pilas alcalinas D por año a 25°C). Aunque no fue una aplicación práctica debido al alto costo y extensa manipulación, pero estableció la prioridad de que un instrumento científico en funcionamiento podría derivar toda su energía de una CMBB. También proporcionó lecciones valiosas para el desarrollo de una segunda y más práctica CMBB que se utilizó posteriormente para alimentar una boya en un pantano de sal cerca de Tuckerton, NJ. EEUU. La segunda versión tiene un peso de 16 kg, un volumen de 0.03 m³, sustentó 36mW (energía equivalente a aproximadamente 26 pilas alcalinas D por año a 25°C), y se desplegó por una sola persona en una pequeña embarcación con mínima o ninguna manipulación en el agua. Esta CMBB está siendo desarrollada para reducir costos y permitir una mayor salida de potencia de la conexión eléctrica de varias unidades en paralelo.

6.1.1 Celda microbiana de biocombustible bentónica (CMBB)

La celda microbiana de biocombustible bentónica (CMBB) se compone de un ánodo no corrosivo (típicamente grafito) incrustado superficialmente (1-5 cm de profundidad mínima) en los sedimentos marinos y está conectado a través de un circuito eléctrico (por ejemplo, un instrumento científico marino) a un cátodo no corrosivo (normalmente grafito) colocado en el agua (Reimers y col., 2001; Tender y col., 2002).

La materia orgánica que reside en los sedimentos de muchos ambientes marinos se deriva normalmente de fitoplancton muerto y/o detritus vegetal (Yan, 1977). Además, en muchos ambientes marinos oxidativos como el oxígeno y sulfato son suministrados dentro de los sedimentos desde el agua por medio de difusión y por la acción de esfuerzo cortante entre la interfaz sedimento-agua resultante del movimiento del agua sobre el sedimento. En tales ambientes, la combinación de materia orgánica y el suministro de oxidantes sustentan la actividad microbiana. Normalmente la cantidad de materia orgánica excede a la cantidad de oxidante, dando como resultado que los oxidantes se encuentren a milímetros o centímetros por debajo de la superficie del sedimento (Froelich y col., 1979). En estas condiciones, el ánodo de la CMBB actúa como un oxidante potente

debido a su conexión eléctrica a través del circuito intermedio y el cátodo con oxígeno del agua suprayacente.

Cuando una CMBB se despliega en los sedimentos anóxicos, se forma espontáneamente una biopelícula en la superficie del ánodo. En la mayoría de los ambientes marinos probados hasta ahora, la biopelícula del ánodo se enriquece con al menos dos tipos de microorganismos sedimentarios (Lowy y col., 2006). El primero, de la familia *Geobacteracea* (más similares a *Desulfuromonas acetoxidans*) se conocen por la oxidación del acetato en los poros de los sedimentos con la reducción de minerales oxidantes insolubles. Estos microorganismos utilizan el ánodo como oxidante inagotable, proliferan en la superficie del ánodo, oxidan acetato y explotan su capacidad para reducir oxidantes insolubles para transferir de forma directa electrones hacia el ánodo, sin la dependencia de añadir mediadores para realizar dicha transferencia (Reimers y col., 2006). Su fuente de acetato es la fermentación de materia orgánica (por ejemplo, glucosa o celulosa) por otros microorganismos anaerobios en los sedimentos (por ejemplo, *Clostridium*). El segundo tipo de microorganismos que enriquecen el ánodo son los *Desulfobulbus* o *Desulfucapsa*, que han demostrado oxidar el azufre elemental a sulfato (Holmes y col., 2004a). Ésto se realiza en el ánodo por la oxidación de sulfuro sedimentario y mediante la oxidación del azufre, estos microorganismos eliminan la suciedad precipitada en la superficie del ánodo. La actividad combinada de estos microorganismos y la reposición continua de combustible por difusión, convección y esfuerzo cortante garantizan que los ánodos de la CMBB puedan funcionar indefinidamente (Wilcock y Kauffman, 1996; Bond y col., 2002; Holmes y col., 2004b; Reimers y col., 2006).

Los electrones adquiridos en el ánodo fluyen a través del circuito externo hacia el cátodo. Una biopelícula también se forma en la superficie del cátodo y cataliza la reducción del oxígeno (Wilcock y Kauffman, 1996; Bond y col., 2002; Holmes y col., 2004b; Reimers y col., 2006). La reacción en la CMBB, el consumo de glucosa con el oxígeno y la formación de dióxido de carbono y agua es termodinámicamente favorable, permitiendo que la potencia generada se gaste en el circuito externo. Ésto se manifiesta como un voltaje de circuito abierto de aprox. 0.75 V.

Una característica clave de la CMBB es la longevidad, que se atribuye al suministro constante de combustible y oxidante por procesos ambientales, el rejuvenecimiento constante de los catalizadores microbianos en el electrodo, y la capacidad de estos catalizadores microbianos para intercambiar electrones con sus electrodos sin dependencia de mediadores y por oxidar completamente el acetato a dióxido de carbono (Bond y col., 2002). Lo anterior demuestra el auto-mantenimiento que pueden tener este tipo de celdas microbianas utilizando biopelículas anódicas de *Geobacteracea* como catalizadores (Chaudhuri y Lovley, 2003).

Hay una serie de propiedades de las CMBB que son importantes a considerar:

1. La CMBB es una verdadera celda de combustible microbiana; es decir, la reacción del ánodo es catalizada por microorganismos (Palmore y Whitesides, 1994; Logan y col., 2006).
2. La CMBB parece ser la más adecuada para los sedimentos que contienen materia orgánica suficiente para exhibir un gradiente redox a través de la interfaz bentónica (Reimers y col., 2001) lo que resulta en un voltaje de circuito abierto en la CMBB. Estos sedimentos son una característica común de los márgenes continentales. Los gradientes redox resultan del agotamiento de oxígeno por

microorganismos aerobios en la interfaz sedimento-agua, y la generación de reductores (por ejemplo, sulfuro) por microorganismos anaerobios situados debajo de la superficie del sedimento. La presencia de un gradiente redox indica que se cuenta con suficiente combustible y actividad microbiana para la generación de energía y aísla el ánodo del oxígeno del agua.

3. Hasta ahora, se ha demostrado que los prototipos CMBB en el campo han operado continuamente durante al menos 2 años.

4. El voltaje de operación de una CMBB es muy bajo (aproximadamente 0.35 V) (Reimers y col., 2001; Tender y col., 2002). Debido a que las CMBB están abiertas al medio ambiente, no pueden ser conectadas en serie para suministrar un voltaje más alto. Además, una CMBB no puede suministrar descargas de corriente cortas de gran intensidad que normalmente requieren los instrumentos científicos marinos. Para superar estas limitaciones, se utiliza un acondicionador de voltaje especializado para regular la potencia de salida de una CMBB y transformar la salida a un voltaje electrónicamente útil; por ejemplo, 6, 9, 12V, etc. El voltaje transformado es utilizado para cargar una batería o un capacitor.

6.1.2 Experimentos realizados con CMBB

6.1.2.1 Construcción y operación de la primera versión de CMBB

La primera versión CMBB estuvo compuesta por siete subunidades conectados en paralelo (Figura 6.1). Cada subunidad consistió de dos placas de grafito (GS10 Graphite Engineering, Inc.), cada una con medidas de 61 cm x 61 cm x 2.5 cm, colocadas en la parte superior e inferior de una caja de plástico de leche por medio de fuertes amarres de lazos. Se realizó la perforación por medio de un patrón de agujeros de 2.54 cm de diámetro a través de cada electrodo para que facilitara la incrustación de los ánodos en el sedimento. En cada electrodo se colocaron 14 cables eléctricos marinos aislados de 45 cm de largo enchufados a un conector húmedo. Estos cables se colocaron en los electrodos mediante la exposición de aproximadamente 5 cm del conductor con tornillos de titanio colocados en agujeros ajustados a través del electrodo.

Cuando se implementó en el río Potomac con una profundidad de 1 a 3 m dependiendo de la marea, las subunidades CMBB se asentaron en el fondo del río con los electrodos inferiores (ánodos) cubiertos por aproximadamente 5 cm de sedimento, y los electrodos superiores (cátodos) expuestos al agua. Las siete subunidades fueron separadas entre sí a una distancia de 30 a 45 cm. Todos los cátodos fueron conectados eléctricamente entre sí y de la misma forma también todos los ánodos, usando conectores húmedos para crear una sola CMBB.

6.1.2.2 Construcción y operación de la segunda versión de CMBB

El ánodo de la segunda versión CMBB consistió en 12 placas de grafito dispuestos en una matriz vertical con 2.5 cm de separación. Las placas de grafito se colocaron en la parte inferior de una placa de fibra de vidrio. Cada placa de grafito medía 30.5 cm x 30.5 cm x 0.32 cm, mientras que la placa de fibra de vidrio medía 30.5 cm x 30.5 cm x 2.5 cm. Se colocaron tiras de titanio en cada placa y se realizó la conexión entre ellas, de las cuales se obtuvo un nodo común, este nodo se conectó a los cables eléctricos por medio de un conector húmedo. El cátodo de la segunda versión CMBB

consistió en un cepillo de grafito posicionado en el agua de un 1 m de largo, el cual fue conectado a cables eléctricos por medio de un conector húmedo. Este cepillo se formó con aproximadamente 3,000 hilos de grafitos de 7 μm de diámetro por 4 pulgadas de largo atrapados entre un par de cables trenzados de acero inoxidable. Recibió un tratamiento térmico para separar las fibras, con lo que aumentó la actividad catalítica para la reducción del oxígeno del agua.



Figura 6.1 Siete subunidades conectadas eléctricamente en paralelo para proporcionar potencia suficiente para a la boya (Tender y col., 2008)

6.1.3. Resultados

En agosto de 2004, la boya meteorológica alimentada por la primera versión CMBB fue desplegada en el río Potomac, en Washington, DC, EEUU. (Figura 6.2). Antes de conectar la boya, la potencia de salida de la CMBB fue de $24 \pm 2 \text{mW}$ a 0.35V a lo largo de 3 meses en el río Potomac. Una vez conectada, la boya alimentada con la CMBB operó desde octubre de 2004 a marzo de 2005 (casi 7 meses) sin incidentes hasta que la boya fue retirada del río debido a que el flujo de hielo cortó la conexión eléctrica a la CMBB.

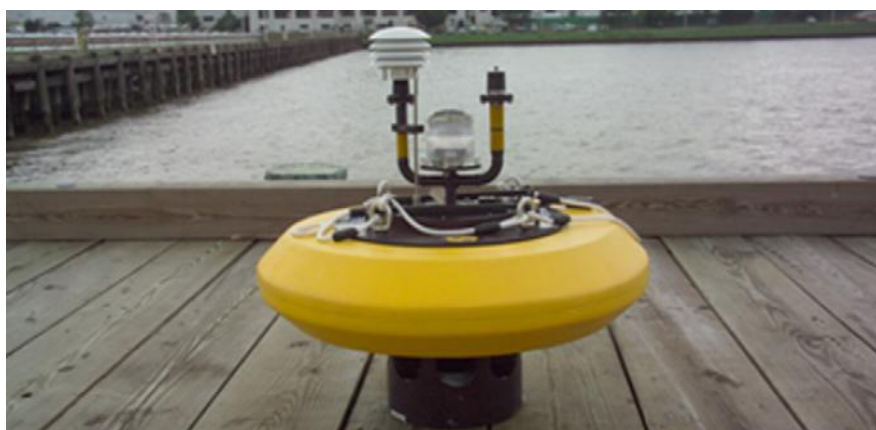


Figura 6.2 Boya meteorológica usada en la demostración en el muelle del Laboratorio de Investigación Naval en Washington, DC (Tender y col., 2008)

En la Figura 6.3 se muestra el registro de transmisión de datos meteorológicos de una semana transmitidos con la primera generación de CMBB que alimenta a una boya marina.

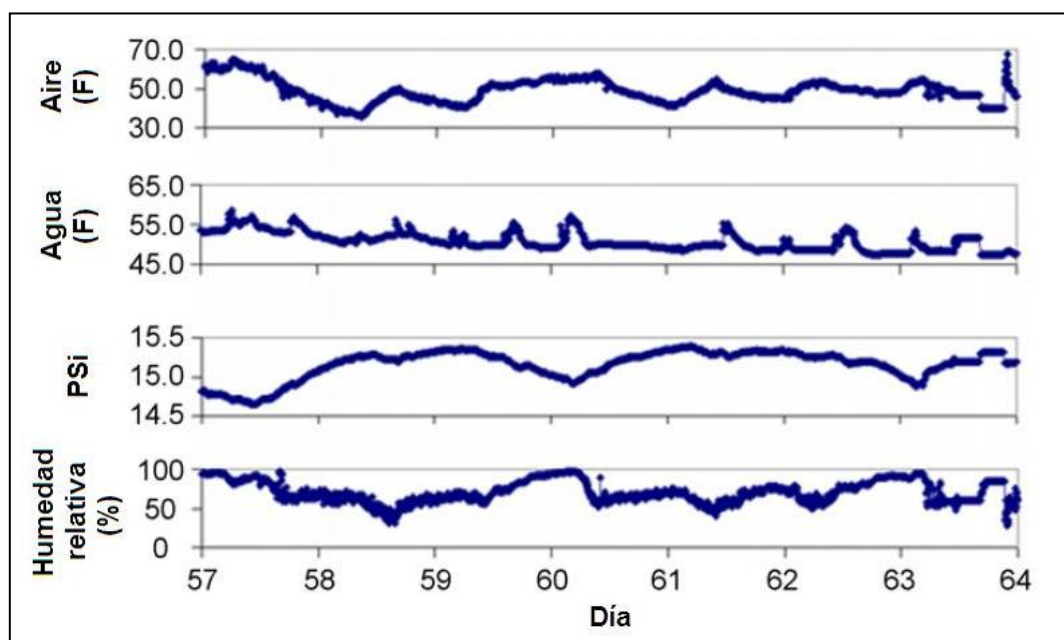


Figura 6.3 Ejemplo de un registro meteorológico de 7 días en una boya marina (Tender y col., 2008)

En la Figura 6.4 se presenta el ánodo de la segunda versión CMBB, se desarrolló para reducir costos y simplificar la instalación desde un muelle, un barco pequeño o por un vehículo operado remotamente. Esta CMBB se desplegó en agosto de 2006 para alimentar una boya en la cuenca de una laguna de sal cerca de Tuckerton, NJ, EUA y generó 36 mW en el ambiente de agua salada. Ésto representa una densidad de potencia de aproximadamente 16 mW/m^2 de la superficie geométrica del ánodo ($36 \text{ mW}/2.2\text{m}^2$), lo cual es consistente con la densidad de potencia observada durante los ensayos de la primera CMBB. La CMBB se incrustó al inicio del día uno. El voltaje de circuito abierto duró dos días y se observó un aumento de voltaje debido al restablecimiento del gradiente redox bentónico perturbado cuando el ánodo se incrustó. Comenzando el día tres, la CMBB descargó voltaje entre 0.35 y 0.65 (Figura 6.5). Este resultado indica que, aunque las placas individuales que componen el ánodo están estrechamente espaciadas, hay flujo suficiente de combustible para los procesos. Actualmente se está investigando la relación entre la separación entre placas, la generación de energía y la fuerza necesaria para empotramiento en diferentes tipos de sedimentos.



Figura 6.4 Ánodo de la segunda versión de una CMBB (Tender y col., 2008)

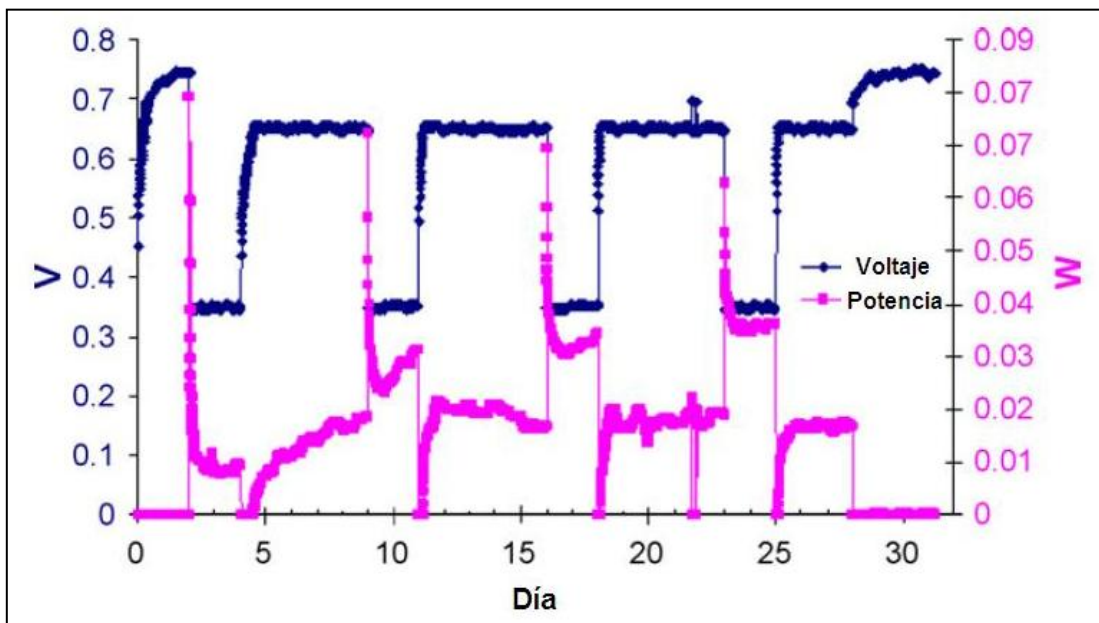


Figura 6.5 Registro de la generación de energía en los primeros 30 días de la instalación de la segunda generación de una CMBB (Tender y col., 2008)

6.2 Robots

El término “robot autónomo” se le ha atribuido a los sistemas de robótica que funcionan sin supervisión humana. De hecho, desde los tiempos antiguos, el hombre ha intentado construir sistemas que funcionen sin un control directo. Por ejemplo, en el año 60 DC, Herón de Alejandría construyó posiblemente el primer ejemplo registrado de un autómeta (Webb, 1999). Sin embargo, el término "autonomía" es un poco flexible, ya que se pueden considerar diferentes “modos de autonomía”. Hay dos modos principales (McFarland y Spier, 1997):

1. La autonomía de cómputo
2. La autonomía energética

La autonomía de cómputo se puede definir como la capacidad de determinar y llevar a cabo acciones independientemente, lo que puede o no estar relacionado con la obtención de energía (McFarland y Spier, 1997). La autonomía energética se refiere a la capacidad del agente para mantenerse en un estado viable por largos períodos de tiempo. Su comportamiento debe ser estable para no tener problemas con cualquier recurso vital, es decir, no deben cruzar cualquiera de sus límites letales (McFarland y Spier, 1997; Wilkinson, 2001). Hasta hace poco, la autonomía ha sido mayormente abordada desde la perspectiva de la computación. Por ejemplo, se considera el caso de un robot operado a baterías que se libera para llevar a cabo una tarea sin intervención externa. Al término de la tarea o cuando la carga de la batería es baja, el robot regresa a la base para recargarse y/o adquirir nuevas instrucciones. Por un lado, ciertos aspectos del comportamiento del robot se pueden considerar como autónomos, como la toma de decisiones de cálculo y control. Por otro lado, sin un ser humano, el robot no sería capaz de reponer su energía para realizar la tarea. Con esto en mente, en esta sección se presenta el desarrollo de robots que pueden generar energía por sí mismos.

La adopción de tal estrategia puede tener un impacto en la manera en que los investigadores e ingenieros en la comunidad robótica incorporen nuevos requisitos en sus misiones. Hay tres cuestiones fundamentales: En primer lugar, la energía útil (en el futuro previsible) no se podrá convertir instantáneamente a partir de sustratos crudos. En segundo lugar, habrá tareas (en particular los efectos en el movimiento) que no se podrán alimentar de forma continua. El efecto neto es que esta clase de robot tenga que incluir un comportamiento de “espera” en su repertorio con el fin de acumular energía suficiente para llevar a cabo una tarea o sub-tarea. Se refiere a esta forma de conducta como “comportamiento de impulsos”. En tercer lugar, el robot deberá resolver múltiples problemas de selección de objetivo. En particular, puede ser necesario exhibir un comportamiento “oportunista” en términos de "interrumpir" la misión de recolección y aprovechar otro tipo de recurso energético de más fácil acceso.

6.2.1 EcoBot I

El primer robot construido en el mundo alimentado de manera directa y totalmente por energía de reducción bacteriana (Wilkinson, 2000a) recibe el nombre código de EcoBot I. Su construcción resultó económica y los materiales utilizados fueron explotados al máximo de su rendimiento para dar salidas de energía en el rango de 37.2J y lograr eficiencias del orden de 1.56%. Aunque esta

cifra es baja, es coherente con la actual tecnología CMB. La Figura 6.6 muestra al EcoBot I totalmente montado.

El robot utilizó un banco de ocho CMB (cultivos puros de *E. coli* con mediadores sintéticos), un circuito electrónico de control, dos fotodiodos y dos motores. La energía producida por las CMB se acumuló en un banco de seis condensadores y al llegar a cierto umbral se liberaba para alimentar a los motores de acuerdo a la indicación de los fotodiodos. Después de seguir la luz hasta que la energía se agotaba, el robot adoptaba una posición de reposo hasta que se acumulaba la suficiente energía para encender los motores de nuevo. El experimento del robot, pasando de un punto de partida hacia una fuente de luz se repitió siete veces. Dos de estos ensayos fueron de vídeo grabados y los otros cinco fueron registrados con datos. En la Figura 6.7 se muestra una fotografía de las videograbaciones, la Figura 6.8 es un gráfico que ilustra la carga promedio por ciclos de descarga, en términos de la distancia promedio y el tiempo de los cinco ensayos.

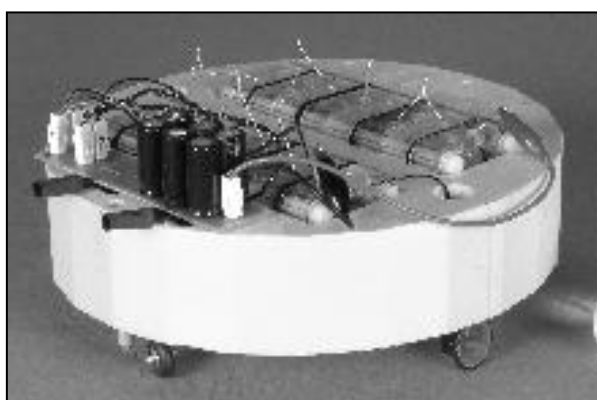


Figura 6.6 Fotografía de prototipo Ecobot I (Ieropoulos y col., 2003a)

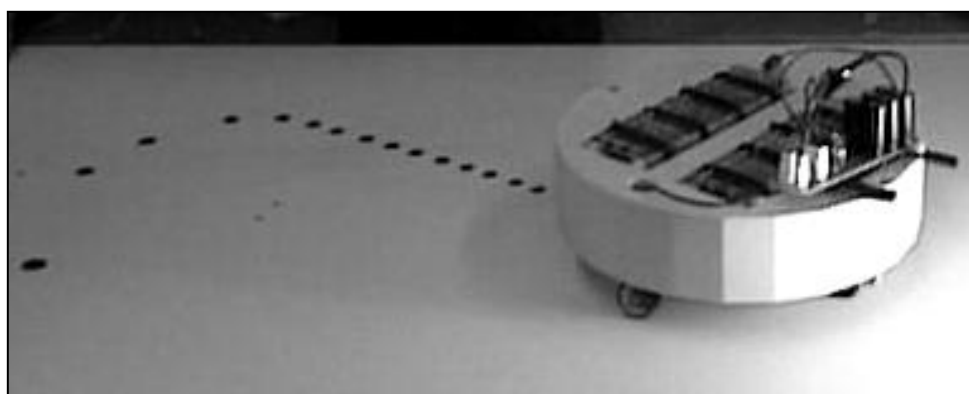


Figura 6.7 Desplazamiento del Ecobot I (Ieropoulos y col., 2003b)

El EcoBot I es solo el primer paso de muchos, para producir el sistema final para un robot independiente y hay una serie de implicaciones que deben considerarse para cualquier desarrollo posterior. Éstos se pueden dividir en dos categorías principales: El hardware y el comportamiento del sistema.

En un sistema donde se emplea un flujo de químicos continuo, tendrá que tener un cierto número de micro-bombas y filtros para mantener el sistema en operación. Parámetros como la temperatura, el pH y el nivel de líquido tendrán que estar continuamente monitoreados y controlados. A medida que el robot busque su fuente de energía, que será en forma de alimentos crudos y la extracción de los nutrientes de éstos, la electrónica y la mecánica involucrada tendrán que ser muy eficientes y precisos. Por supuesto, un efecto secundario importante es que el empleo de estos dispositivos tendrá un requerimiento de energía asociados, los cuales tienen consecuencias en el comportamiento.

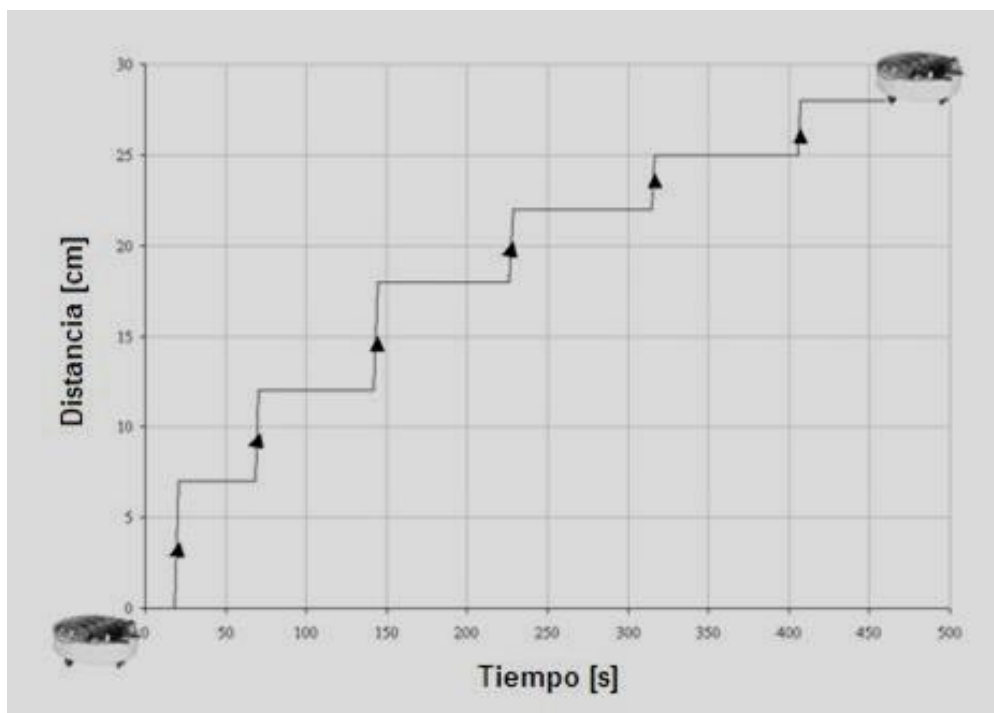


Figura 6.8 Promedio de ciclos de carga y descarga del EcoBot I (Ieropoulos y col., 2003b)

Simple advertencias de "batería baja" no son suficientes. Ésto implica que tanto los sensores internos que proporcionan la información para un control más preciso y sensores externos para que el agente pueda llevar a cabo su tarea tendrán que utilizarse. La realimentación negativa será un elemento clave en el sistema debido a que es el funcionamiento normal de los sistemas biológicos. Es a través de la realimentación que la homeostasis se logra en todos los niveles de organización en los sistemas vivos, desde lo molecular a lo social. Homeostasis significa "mantenerse igual" y se refiere a la capacidad única de los sistemas biológicos para mantener el control automático sobre las variaciones físico-químicas, por medio de la retroalimentación negativa. Imitar este parámetro crítico implica un gran desafío.

La tecnología CMB está todavía en su infancia y los niveles de potencia obtenidos son muy bajos. Es evidente que la fuente de energía no está en condiciones de proporcionar la energía suficiente para que el robot opere en un modo continuo. Por lo tanto, el prototipo EcoBot I primero tendrá que acumularla antes de usarla, resultando así en un "comportamiento de pulsos". Manejar la variable recurso energético no es un problema trivial ya que habrá situaciones en que las reservas de energía

deberán ser empleadas, como por ejemplo, cuando la distancia entre el agente y el alimento sea mayor de lo normal.

La autonomía real, en el contexto de la inteligencia artificial no es sólo una cuestión de ejecutar una tarea con un mínimo o ninguna intervención exógena, si bien, se tiene que confiar en el factor humano para las necesidades de energía. Los sistemas naturales metabólicos resuelven este problema mediante el empleo de la energía redox para realizar un trabajo. Al tratar de imitar a la naturaleza con el EcoBot I, se demuestra que este enfoque es factible.

En el futuro, tales robots podrían ser clasificados de acuerdo a la variedad de alimentos que consumirán. Un nombre adecuado para estos robots sería el de *Specivores*, los cuales podrían alimentarse de un tipo de alimento o tal vez mediante el uso de microorganismos de un cultivo mixto que podrían digerir la mayoría de las fuentes de alimentos naturales y los clasificaría como omnívoros.

6.2.2 EcoBot II

Los experimentos reportados en el trabajo de Ieropoulos y col. (2004), se llevaron a cabo utilizando una plataforma sencilla y de bajo costo (Figura 6.9 y Figura 6.10). Ésta consistió de estireno ligero como chasis, circuitos electrónicos y dos motores. El EcoBot II fue construido con bolsas en el chasis superior para acomodar y permitir la exposición de aire libre a los cátodos de O_2 de las CMB con cultivos mixtos de lodos activados. Esta estrategia ofrece las siguientes ventajas: Potencia de salida más alta, mejor estabilidad y la posibilidad de utilizar una amplia variedad de sustratos debido a la diversidad de la comunidad microbiana. El EcoBot II totalmente ensamblado registró un peso de 780 g, que fue de aproximadamente 180 g más ligero que el EcoBot I.

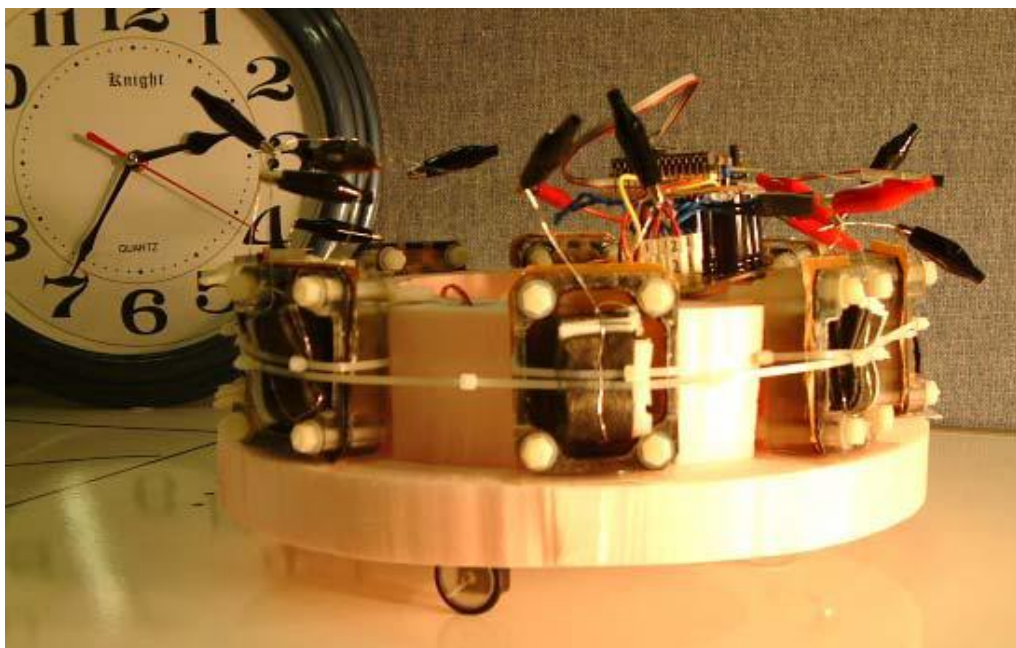


Figura 6.9 EcoBot II con una CMB y cátodos de O_2 colocados en el exterior para permitir su exposición al aire (Ieropoulos y col., 2004)

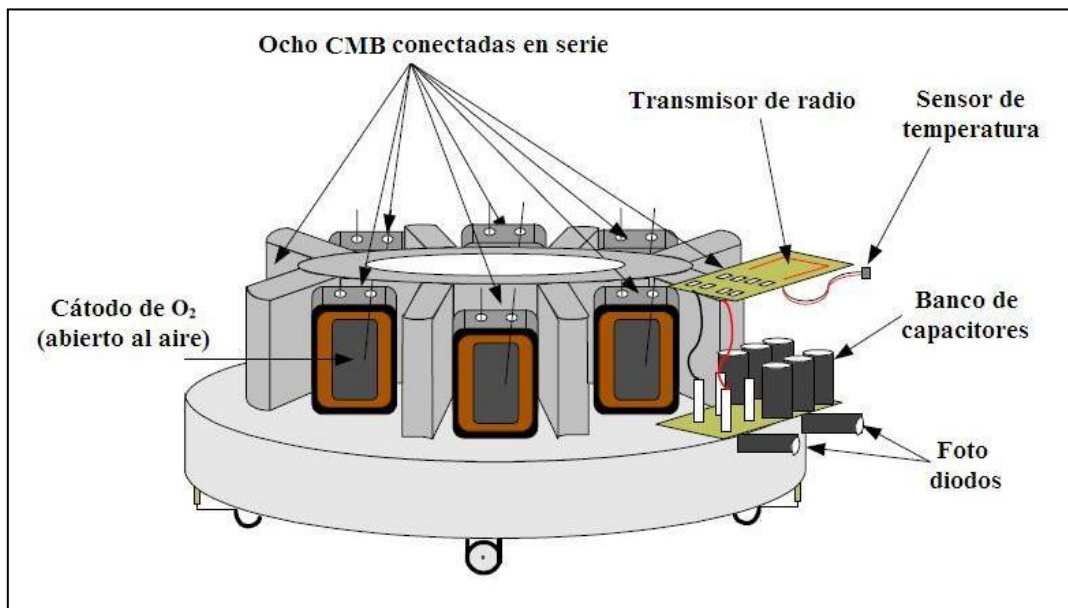


Figura 6.10 EcoBot II (Ieropoulos y col., 2004)

Como fue el caso del EcoBot I, el EcoBot II operó con destellos de energía. Ésto ha sido descrito anteriormente como “comportamiento de impulsos”. Ninguna de las dos versiones de EcoBot incorpora cualquier otro aspecto de comportamiento o tarea, aparte de la acumulación de energía. Por lo que fueron simplemente "inactivos" durante el tiempo necesario para cargar el acumulador a bordo. Una de las principales diferencias entre el EcoBot II y su predecesor el EcoBot I, fue que EcoBot II incorpora tareas adicionales. El EcoBot II realizó la detección de la temperatura ambiente y realizó la transmisión de datos de la temperatura detectada. Ésto dió lugar a que la energía se distribuyera en tres tareas, en lugar de ser solamente utilizada para la locomoción foto-táctica (EcoBot I) y por lo tanto resultó ser más lento que el EcoBot I.

Las CMB que se utilizaron en el EcoBot II se probaron con anterioridad por medio de su descarga a través de una resistencia de carga. Estos experimentos se realizaron para obtener un punto de referencia en la generación de electricidad. En la Figura 6.11 se muestra un ciclo típico de agotamiento para ocho diferentes CMB antes de conectarlas con el EcoBot II. La flecha que apunta hacia arriba indica el punto de alimentación de moscas (0,1% peso/volumen). Ésto equivale a 1 mosca/CMB. La base de referencia se estableció en 35µA. También para garantizar que la cantidad de nutrientes residuales se mantuvieran al mínimo y que la energía para conducir el robot se derivara sólo de la adicción de moscas como sustrato. Durante el ciclo de agotamiento, que normalmente duró 24 horas, los cátodos de O₂ se humedecieron una vez con agua de mar artificial (AMA).

Las carreras de corta distancia (Figura 6.12) se llevaron a cabo en 50 cm y la duración de cada carrera fue variable y dependió del ciclo carga/descarga del robot. El final de la carrera se produjo cuando el robot llegó a la fuente de luz. Para que EcoBot II realizara la búsqueda de la luz, el punto de inicio se colocó para las tres repeticiones en un ángulo de 90° con respecto a la fuente de luz.

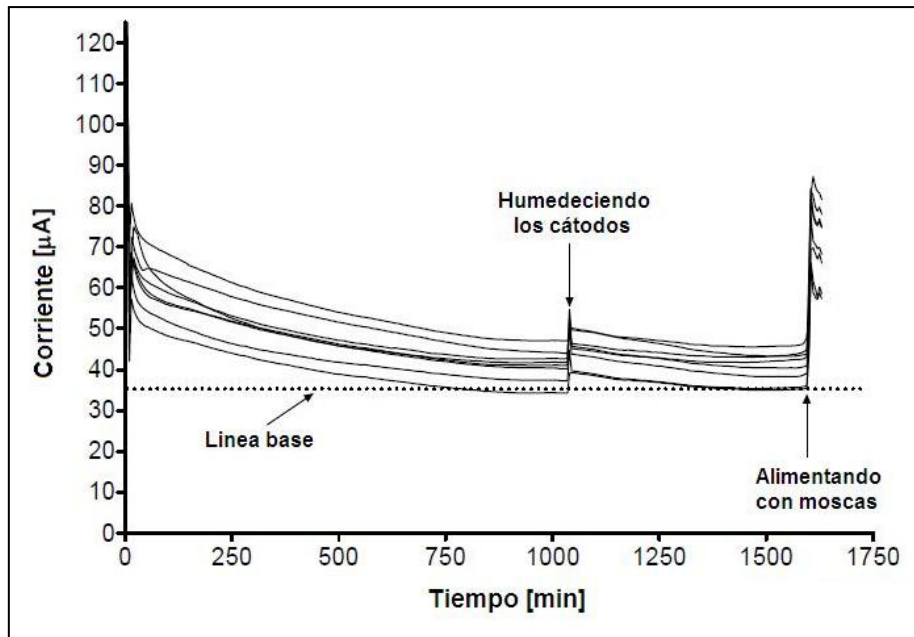


Figura 6.11 Ciclo típico de agotamiento para ocho diferentes CMB antes de conectarlas con el EcoBot II. (Ieropoulos y col., 2004)

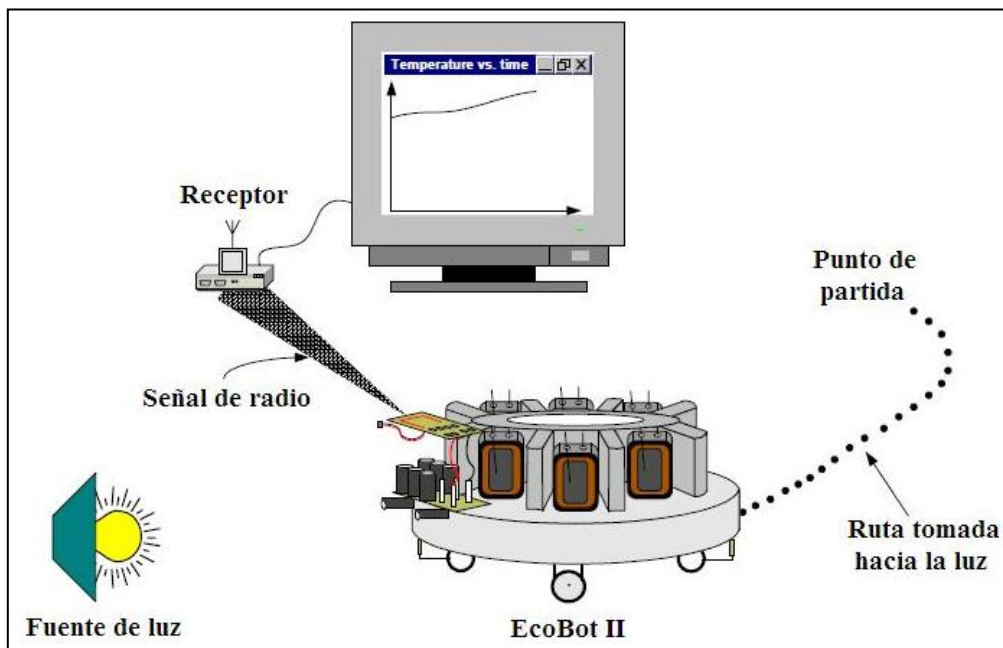


Figura 6.12 Arreglo experimental para las carreras del EcoBot II (Ieropoulos y col., 2004)

Los experimentos realizados se llevaron a cabo en diferentes días, comenzando a la misma hora. En cada caso, cada CMB fue alimentada con una mosca de masa idéntica, lo que fue equivalente a 0.1% peso/volumen en el inicio de la corrida. Durante cada corrida, los cátodos de O₂ se humedecieron una vez con 3 ml de AMA.

A continuación, en la Figura 6.13 se muestran los datos promedios de los tres experimentos. En promedio, el robot se movía cada 14 minutos por cada 2 ó 3 segundos de movimiento, para detenerse de nuevo y acumular energía. La distancia recorrida por cada movimiento fue de 2 a 3 centímetros. Los puntos muestran el avance promedio de las tres repeticiones y la línea continua es la curva de ajuste de la regresión no lineal. Como puede observarse, en promedio tomó seis horas para cubrir una distancia de 50 cm (8.3 cm/h).

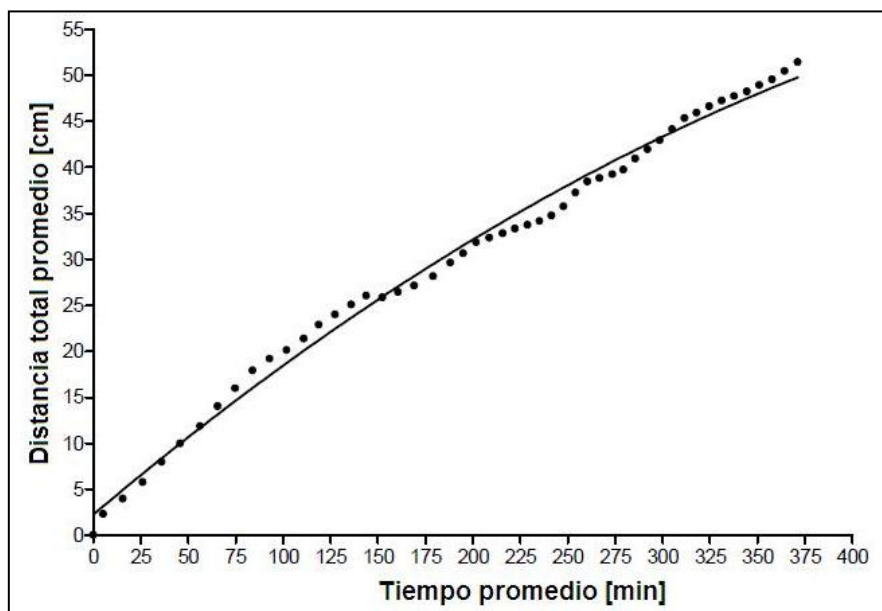


Figura 6.13 Tiempo promedio de las tres carreras para llegar a la meta del robot a 50 cm. (Ieropoulos y col., 2004)

La Figura 6.14 muestra la temperatura transmitida por el EcoBot II hacia un receptor. Un gradiente de temperatura desde el comienzo de la carrera hacia la línea de meta fue creado mediante el empleo de dos lámparas halógenas como fuente de luz. Ésto se realizó para probar la capacidad de detección de la temperatura del robot. Los puntos representan los datos promedios para las tres repeticiones, con un ajuste de curva de regresión no lineal (línea continua) y con bandas de confianza de $\pm 95\%$ (líneas punteadas).

Las bacterias en los ánodos fueron alimentadas con 0.1% peso/volumen de moscas y en este caso se dejó el robot en un espacio abierto para operar continuamente hasta que dejara de funcionar. Ésto se hizo para investigar la cantidad de tiempo que el robot podía funcionar de forma continua con el mismo cultivo bacteriano en un sistema de flujo no-continuo y alimentado con una sola mosca/CMB. Para las primeras etapas de estos experimentos (los primeros cinco días), los cátodos de O_2 fueron humedecidos manualmente con AMA una vez al día. La Figura 6.15 muestra el tiempo promedio con relación a la distancia promedio. En promedio, el robot operó durante 11 días (máximo de 12 días) y la distancia recorrida fue de 2 metros (máximo de 2.15 metros).

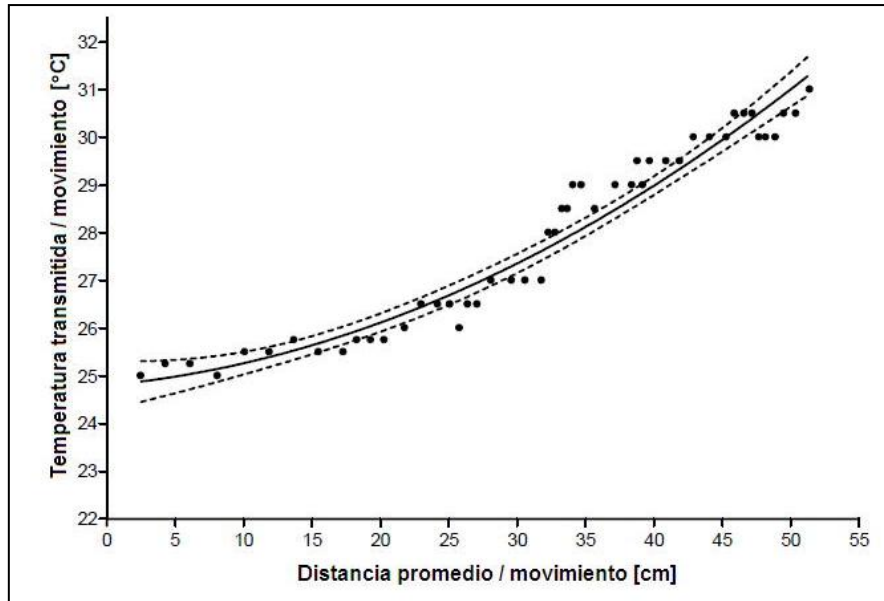


Figura 6.14 Gradiente de temperatura producido y detectado por el robot cuando se movía hacia el calor de la fuente de luz (Ieropoulos y col., 2004)

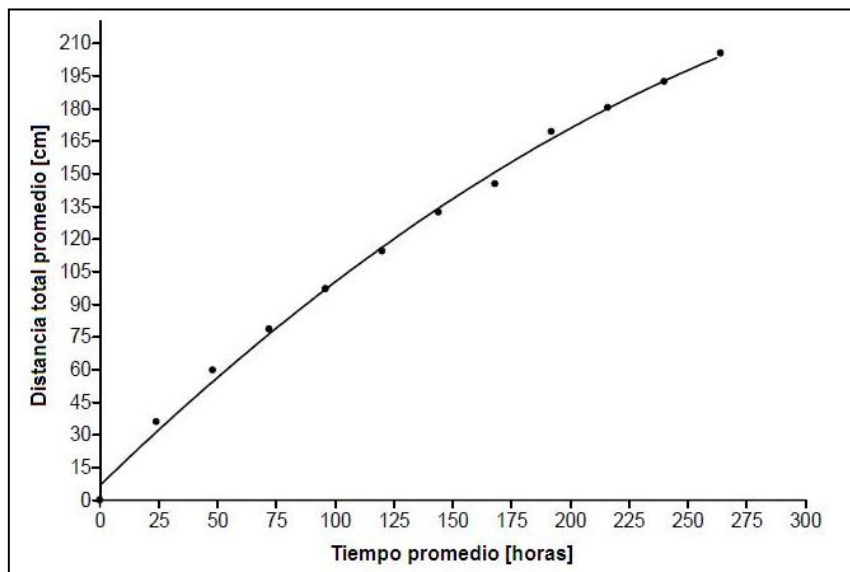


Figura 6.15 Datos promedio de distancia versus tiempo promedio para las pruebas de resistencia del EcoBot II (Ieropoulos y col., 2004)

La Figura 6.16 muestra la temperatura promedio reportada por el EcoBot II por día mientras se desplazaba hacia la fuente de luz. Las luces halógenas se colocaron a una distancia de seis metros con respecto al punto de inicio de las carreras. Debido a que el robot nunca se acercó lo suficiente a las lámparas, sólo se transmitió la temperatura ambiente. La línea continua es la curva de ajuste de la regresión no lineal para los datos medidos con puntos y las líneas punteadas son las bandas de confianza ($\pm 95\%$).

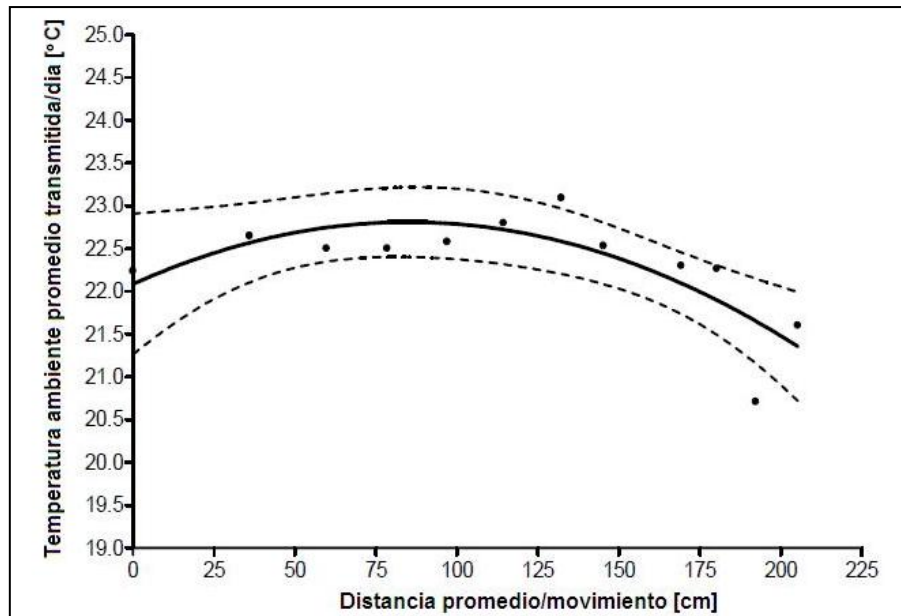


Figura 6.16 Relación entre la temperatura ambiente promedio transmitida por día y la distancia promedio en experimentos con EcoBot II (Ieropoulos y col., 2004)

6.2.3 Robot que se alimenta de materia orgánica (SlugBot)

Una aplicación de las CMB es un trabajo de Greenman y col. (2003) donde se aborda el problema de diseñar y construir un robot capaz de sostenerse por sí mismo por ciertos períodos de tiempo mediante la búsqueda de una fuente de energía natural (comida) y convertir ésta en una forma utilizable de energía para alimentarse (Greenman y col., 2003).

Para ello se deben considerar algunas cuestiones: Un robot tiene que ser capaz de moverse para buscar su respectivo alimento. Esta fuente de alimentación sólo estará disponible en ciertos momentos y lugares limitados dependiendo del clima, la hora del día, las estaciones, etc. y mucho depende de la naturaleza de los alimentos. La vegetación estática requiere una estrategia de alimentación diferente a la requerida para la caza de presas móviles. El proceso de encontrar alimento y después convertirlo y almacenarlo en una forma útil de energía se puede considerar como una especie de metabolismo artificial. En cuanto al robot, se debe prever un sistema que incorpore los elementos de un robot móvil y una unidad de conversión de energía. Éstos pueden ser combinados en un solo robot o separarse para que el robot lleve su alimento a un "digestor". Una opción es emplear el metabolismo artificial a bordo del robot (Wilkinson, 2000a). Otro sistema podría emplear una estación externa de metabolismo (digestor central) suministrado con material digerible por uno o varios robots. Sea cual sea la combinación que se emplee, se debe presupuestar de forma eficiente la energía, la eficiencia metabólica, tipo de alimento, tamaño físico del digestor, etc.

En el estudio se optó por separar físicamente el robot y el sistema digestor debido a que una unidad de fermentación es demasiado grande y pesada para ser transportada por un robot. Se eligieron a las babosas como la presa del robot por las siguientes razones:

- a) La presa debe ser lo suficientemente abundante y debe tener una densidad de energía suficiente para justificar el gasto de energía utilizado en la búsqueda, captura y transporte
- b) La presa no debe ser capaz de realizar movimientos rápidos ya que esto requerirá que el robot consuma una cantidad de energía considerable en la captura de la presa

Las babosas se desplazan lentamente y son abundantes en la tierra agrícola del Reino Unido, especialmente las *Deroceras reticulatum* (South, 1992), esta especie representan una amenaza considerable a la vegetación y realiza un daño considerable en los cultivos. Su poder destructivo es contrarrestado por los agricultores del Reino Unido, los cuales gastan más de 20 millones de libras al año en medidas de control químico (Glen, 1994).

El robot denominado "Slugbot" está equipado con un brazo largo (Figura 6.17) con un gancho al final de este. En la "palma" del gancho se encuentra una cámara por medio del cual, el robot puede detectar la presencia de babosas en la noche. El robot puede recoger las babosas y depositarlas en su almacén. Cuando el robot necesita recargar su batería regresa a la estación para recargarla. Mientras se lleva a cabo este proceso se descargan las babosas acumuladas en el robot en un "sistema digestivo". El producto de la digestión es un biogás que se introduce en una celda de combustible, la cual produce la energía eléctrica.

6.2.3.1 La autosuficiencia en los robots

Para ser realmente autosuficiente, un agente debe mostrar estabilidad en el comportamiento y viabilidad de mercado. La estabilidad en el comportamiento implica que el agente no sucumba ante alguna deuda irrecuperable de cualquier recurso vital. Los recursos vitales son aquellos que permiten al agente llevar a cabo sus tareas de diseño y pueden incluir a la energía, tiempo, herramientas, etc. La viabilidad de mercado son variables que deben agrandar al que usa el robot (McFarland, 1999). El usuario quedará satisfecho si el agente es estable, si es capaz de realizar las tareas para las que está diseñado y que los gastos de funcionamiento sean aceptables.

Los agentes autosuficientes deben tener un grado de autonomía debido a que deben tener la libertad de decidir por sí mismos cuando recargar energía, cuando descansar, en qué momento realizar ciertas actividades, etc. (McFarland, 1993 y 1995). El grado de autonomía, por lo general equivale a la cantidad de recursos básicos que el agente tiene que manejar. Los agentes autosuficientes son egoístas en el sentido de que manejan sus propios recursos independientemente de otros agentes que puedan operar en el ecosistema.

Hay dos recursos básicos que deben ser proporcionados por el entorno del robot si éste es autosuficiente y económicamente viable. Se trata de la variable energética (E) que el robot debe ser capaz de obtener de alguna manera, y la variable M, que puede ser el resultado de realizar trabajo. M puede estar localizado en la memoria para guardar la cantidad de trabajo realizado, los puntos de mérito por el trabajo realizado, puede ser dinero o la viabilidad de mercado. Cada vez que el robot

tiene una cierta cantidad de trabajo (cumple la tarea de utilidad para el propietario) gana una unidad de M .

Cuando consideramos un robot autosuficiente, es evidente que debe realizar un ciclo básico de actividades para mantener la viabilidad. El robot pasa por un ciclo: trabajo - encontrar combustible - recargar energía. Cuando trabaja, el robot gana M y pierde E . En algún momento el robot debe interrumpir el trabajo y proceder a buscar combustible, lo que también conduce a una reducción de E , pero ¿qué pasa con M ? La respuesta a esta pregunta depende de la actitud del dueño del robot. M representa la utilidad del trabajo del robot desde el punto de vista del dueño del robot. Hay tres posibilidades básicas, como se indica en la Figura 6.18. Si el propietario está principalmente interesado en robots que gasten tanto tiempo como sea posible haciendo trabajo útil, independientemente de los gastos de energía, entonces el propietario no ganará utilidad del tiempo que se gastó no trabajando. Ésto significa que el robot debe estar diseñado de manera que M disminuya durante el tiempo improductivo, como se muestra en la Figura 6.18a.



Figura 6.17 Robot que se alimenta de babosas (Slugbot) (Greenman y col., 2003)

Si el dueño está preocupado por el gasto de energía en actividades que no son productivas, entonces M debe declinar durante ese período del ciclo básico, como se muestra en la Figura 6.18b. Si por el contrario, el propietario se ocupa de reducir al mínimo el gasto de energía, entonces tiene sentido para el robot pagar por el combustible. En la Figura 6.18c M se obtiene durante el trabajo y se gasta durante la recarga. En otras palabras, M es como el dinero que gana el robot por el trabajo realizado y que gasta para obtener combustible.

La estabilidad del ciclo básico depende de dos tipos principales de factores, la naturaleza del medio ambiente y las decisiones tomadas por el robot. Así, el sistema puede volverse inestable debido a que

el ambiente puede resultar demasiado difícil de afrontar. Un equivalente animal podría ser un entorno en el que la comida es muy escasa. El sistema también podría ser inestable simplemente porque el robot tomó malas decisiones, como ignorar una posibilidad de recarga de energía (cuando se acerca de la estación de recarga). Por lo tanto la estabilidad del comportamiento y la toma de decisiones están estrechamente relacionadas.

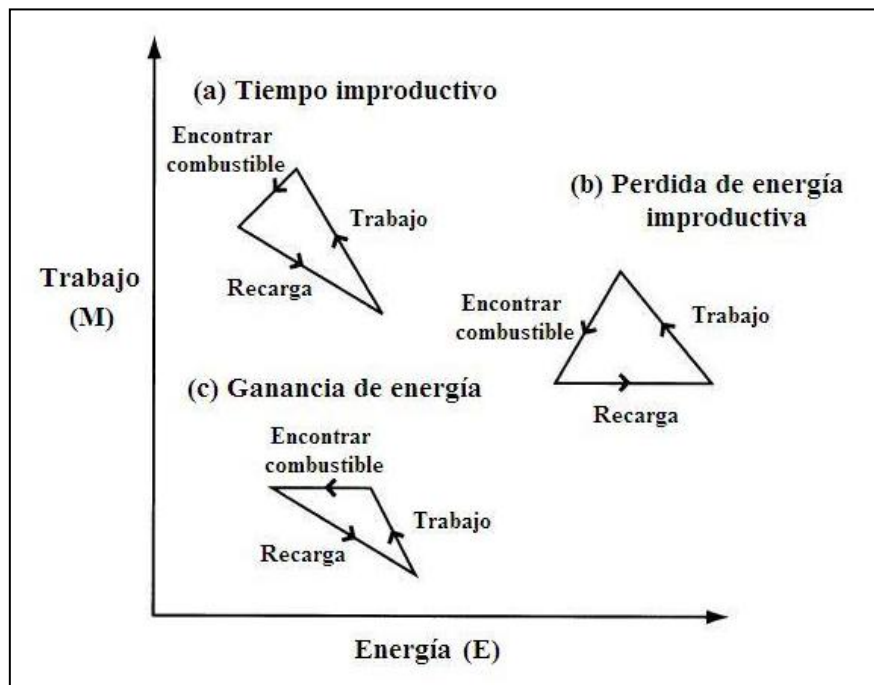


Figura 6.18 Ciclos básicos de operación de un robot (Greenman y col., 2003)

6.2.3.2 El ciclo básico del SlugBot

El ciclo básico del SlugBot se compone de las siguientes actividades: Recargar, buscar, examinar, capturar, regresar a casa. Ahora se tiene que considerar qué tipo de ciclo básico es el adecuado. De los tres tipos que se ilustran en la Figura 6.18a no es relevante, porque el gasto de energía del SlugBot es importante y si el SlugBot no puede cumplir con sus necesidades de energía, la energía adicional tendrá que ser suministrada y esto será costoso e inconveniente.

En el caso (b), en donde el dueño se preocupa solamente por el gasto de energía en actividades que no son productivas, tenemos que recordar que el robot puede descansar durante los tiempos improductivos. Durante el descanso, su gasto de energía será muy reducido.

El dueño del SlugBot debe desear reducir al mínimo, el gasto de energía en todos los ámbitos y por lo tanto el ciclo tipo (c) es el más apropiado. Como se observa en la Figura 6.18c, durante la recarga el robot tiene una ganancia neta de energía E. En todas las demás actividades tiene una pérdida neta de energía. Durante la recarga el robot tiene una pérdida neta de M, mientras que durante la búsqueda, exploración y captura se considera como trabajo, por lo que, tiene una ganancia en M. Durante su estancia en la base no gana ni pierde M. Una vez que el robot está en la estación de

recarga puede tomar energía a cambio de ciertas unidades de M . En otras palabras, M es como el dinero.

Una vez que el SlugBot inicia la búsqueda de alimento, su éxito depende en gran medida de la disponibilidad de las babosas en el lugar donde se lleve a cabo la captura. La alta disponibilidad dará lugar a un ingreso alto (en términos de M) para el robot, siempre que el robot capture de manera eficiente. Obviamente, el robot debe dejar de alimentarse si, en promedio, el gasto energético es mayor que la energía adquirida. Ésto puede ocurrir si la disponibilidad de babosas es muy baja o si la energía consumida por unidad de tiempo es muy alta debido al mal tiempo o terreno accidentado. Si el robot decide dejar de buscar alimento, entonces se debe tomar una de las dos opciones siguientes: (i) Volver a casa o (ii) Descansar. El primero incluirá excesivos gastos de energía dependiendo de la distancia a la estación, mientras que el segundo implica un gasto bajo de energía. Siempre que el robot permanezca inmóvil sólo consumirá energía suficiente para mantener a sus sensores en funcionamiento, por lo que se gasta muy poca energía. La desventaja del descanso es que el costo de ir a casa todavía tiene que ser pagado en el futuro, porque con el tiempo, la energía abordo se agotará.

Una vez esbozado el ciclo básico del SlugBot hay que considerar otras desventajas. Es evidente que el robot no debe gastar demasiado tiempo y energía en el trabajo o puede ser incapaz de encontrar la estación antes de que se quede sin combustible. El robot debe decidir cuándo dejar de trabajar y empezar a buscar la estación, si lo hace demasiado pronto no va a trabajar con la eficiencia máxima y si lo deja demasiado tarde puede quedarse sin combustible. Argumentos similares se aplican a las decisiones de dejar de recargar y comenzar a trabajar o parar de capturar y tomar un descanso.

6.2.3.3 Accesibilidad de las babosas

Hay una velocidad máxima del número de babosas que puede capturar el SlugBot. Una vez que una babosa es detectada, el robot debe abrir su pinza, recoger la babosa, retraer su brazo, depositarla en el contenedor, extender su brazo y reiniciar la rutina de búsqueda. Incluso cuando las babosas son muy abundantes, el robot no puede completar este ciclo en menos de 10 s.

Las *D. reticulatum* varían en tamaño desde unos pocos miligramos hasta 700 mg y es evidente que no vale la pena para el SlugBot capturar las pequeñas. La pregunta sobre el tamaño de babosas que sería rentable reunir es una cuestión para futuras investigaciones. Por el momento, las babosas de más de 500 mg son de interés. Si la tasa de captura máxima posible es una babosa cada 10 s, entonces habrá una tasa máxima correspondiente a la ingesta energética. Ésto dependerá del valor energético de cada babosa en el robot y éste, a su vez, dependerá de las pérdidas de energía producidas por la búsqueda de las babosas y en la eficiencia de conversión de las babosas en energía utilizable.

6.2.3.4 Aspectos cuantitativos

El ciclo básico, independientemente de la definición, consiste en el trabajo, encontrar la estación y recargar. Ahora se puede definir otro ciclo que considere el tiempo desde el final de una recarga de energía hasta completar otra. Una recarga implica una cierta cantidad de tiempo en la estación de reabastecimiento de combustible, una cierta cantidad de tiempo dedicado al trabajo y una cierta

cantidad de tiempo en encontrar la estación de nuevo. Para el SlugBot, este ciclo durará probablemente 16 h. La batería totalmente cargada permite cerca de 3 h de tiempo de búsqueda de alimento y se necesitara alrededor de 12 horas para recargar la batería. Sin embargo, la disponibilidad de babosas varía en un ciclo de 24 h, por lo que el SlugBot tendrá que llenar las nueve horas extras descansando ya sea en la estación de recarga o en el campo.

Se estima que el robot consumirá 45 J/h cuando esté descansando. El robot permanecerá inmóvil con todos los mecanismos que consuman electricidad apagados a excepción de su reloj interno. Algunos sensores se encenderán cada 15 minutos para que el robot pueda monitorear periódicamente su entorno. Entre estos sensores se encuentran los de temperatura, humedad y los receptores de luz, que dan una indicación de la disponibilidad de babosas.

Mientras realice las demás actividades, el robot se consumirá alrededor de 5,460 J/h. El SlugBot es capaz de escanear un área de 1.86 m de diámetro de suelo (se pueden encontrar aproximadamente 10 babosas/m²) mientras permanece inmóvil en la base (South, 1992; Glover, 1998).

Se estima a partir de pruebas de laboratorio, que el SlugBot consumirá 1,100 s para escanear el área y 13 s para pasar a la próxima área. En promedio, el robot debe ser capaz de capturar al menos 1,048 babosas en 3 h, gastando 390 kJ. Puesto que la capacidad de la batería es de 432 kJ, sobran 32 kJ para utilizarlos en el regreso a casa. Cada babosa capturada tiene un peso de por lo menos 500 mg y un valor de 1.5 kJ brutos (South, 1992). Esta cifra se obtiene con 75 mg de biomasa utilizable por cada babosa ya que el 85% de su masa es agua.

Obviamente, la cantidad de energía gastada en regresar a la estación de recarga depende de lo lejos que el robot se encuentre cuando decida volver a casa. Las pruebas de laboratorio indican que el robot recorrerá 1.8 m en 13 s con un consumo de 1 kJ. Cada área es de 1.8 m de diámetro, por lo que si el robot cubre 10 áreas en 3 h de búsqueda, la distancia máxima al hogar será de 18.6 m, el regreso tomará algo más de 2 minutos y consumirá 10.3 kJ. Así que el gasto total de energía por día (suponiendo un viaje de 3 horas de búsqueda) será de aproximadamente 400 kJ con una ganancia de energía bruta de 1,572 kJ. Ésto significa que la eficiencia del proceso de conversión de la biomasa de la babosa en electricidad utilizable debe estar en la región del 25%.

6.2.3.5 Generación de combustible

El SlugBot funciona con corriente eléctrica. Atrapa babosas y éstas tienen que ser convertidas en energía eléctrica de alguna manera. Una posibilidad es que se deben secar las babosas y luego quemarlas para producir energía en forma de calor. El problema aquí es que la conversión de calor en electricidad es un proceso ineficiente. Una alternativa es digerir las babosas y fermentar el producto digestivo. Esto produce una salida de energía en forma de combustibles químicos o gases.

6.2.3.5.1 Energía teórica de la materia orgánica

La materia orgánica se compone de materiales poliméricos (proteínas, lípidos y polisacáridos). Si están lo suficientemente secos pueden ser quemados para producir energía en forma de calor. La cantidad total de energía que contienen (suponiendo la oxidación completa del oxígeno del aire) sería de entre 4.1 y 9.3 kcal/g (17 a 39 kJ/g), dependiendo de su composición exacta. Los polisacáridos (la

celulosa, almidón, pectina, etc.) se construyen por medio de repetir unidades de hexosa (azúcar) ($C_6H_{12}O_6$) y producen menos energía que los lípidos (su fórmula empírica se aproxima a $C_{18}H_{36}O_2$), los cuales producen valores más altos de calor. El valor calórico de las proteínas es intermedio y contienen cerca de 5 a 6 kcal/g (21 a 25 kJ/g). Cantidades similares de energía también se pueden extraer a través del metabolismo de las células vivas. Estimaciones de Wilkinson (2000b) sugieren que el follaje contiene aproximadamente el 4% de hidratos de carbono en peso, lo que equivale a 0.82 kJ/ml para la materia licuada (a 4% peso/volumen). Según Wilkinson (2000b) si la energía de los alimentos se puede convertir en una forma eléctrica, daría 5 kWh/kg para la azúcar hexosa pura ó 0.2 kWh/l de materia vegetal licuada (a 4% peso/volumen). Wilkinson (2000b) comenta que “Este resultado es sorprendentemente similar a la densidad de energía de una batería de ion-litio, con la diferencia considerable que la energía química en los alimentos no está fácilmente disponible como electricidad”.

La degradación anaerobia puede convertir ciertas materias primas en una mezcla de compuestos altamente reducidos, tales como combustibles químicos (acetato, butirato, etanol) o gases (hidrógeno, metano) que pueden ser convertidos en energía eléctrica por otros medios tecnológicos. Las siguientes estrategias están disponibles:

1. Las moléculas volátiles de combustibles (metano e hidrógeno) se queman para producir energía térmica que a su vez puede alimentar un generador convencional. En esencia, lo que un digestor de aguas residuales hace. Este proceso es muy ineficiente a pequeña escala.
2. La combustión catalítica de combustibles químicos se puede realizar con celdas de combustible convencionales.
3. La digestión de sustratos para producir energía microbiana de reducción, que puede ser extraída por medio de una celda de combustible microbiana.
4. Se puede emplear un dispositivo que combine las estrategias anteriores, sobre todo las últimas dos.

6.2.3.5.2 Factores físicos que se deben considerar en la digestión artificial

Cuando aumenta el tamaño, la proporción entre el área y volumen o peso disminuye. Este simple hecho determina los límites de tamaño para los robots bio-autónomos. Para el tamaño pequeño, la transferencia de masa-energía se facilita, pero la pérdida de calor y los rápidos cambios de las condiciones (por ejemplo, la difusión de aire en lo que debería ser un proceso anaerobio) puede convertirse en un problema. A gran escala, el robot es más pesado y será mayor la demanda de energía y combustible. Un digestor grande es más difícil de mezclar y puede ser el mismo el contribuyente mayor del peso total del robot. La homeostasis del medio ambiente (temperatura y anaerobiosis) es más fácil de mantener a gran escala, pero la eliminación selectiva de los combustibles mediante tecnología de membrana (electrodifusión) que depende de la superficie puede llegar a ser problemática.

Para un sistema abierto, la tasa de dilución (D) se obtiene dividiendo la tasa de flujo (f) por el volumen (v). Si la tasa de dilución es mayor que la tasa de crecimiento de los principales grupos de

organismos, entonces se producirá el lavado del cultivo con la consiguiente desaceleración de la tasa de formación de producto. Si la tasa de dilución es demasiado lenta, la tasa de absorción de energía para el robot será demasiado baja para soportar la demanda. Por lo general, la tasa de dilución para los mamíferos es del orden de 0.01 a 0.1/h equivalente a un tiempo medio de generación de 60 a 6 h. La mayoría de los digestores parecen funcionar bastante bien a temperaturas de 35 °C a un pH neutro (7.0). Ésto se acerca a las condiciones que ocurren en el intestino grueso de los mamíferos. El uso de altas temperaturas por parte de algunos microorganismos (especies termófilas) podría tener importantes beneficios en lo que respecta a acelerar el ritmo del proceso. Por ejemplo, los microorganismos termófilos que funcionan a una temperatura de alrededor de 75 °C podrían tener tasas de transformación de más de 10 veces mayor que los microorganismos que operan a 35 °C. Una especie termófila metanogénica (*Methanopyrus kandleri*) aislada de las fuentes hidrotermales marinas pueden crecer a temperaturas por encima del punto de ebullición del agua.

En un digestor artificial, las etapas de la digestión se pueden separar en diferentes unidades dentro del sistema. En el futuro se podrá construir un robot que tenga un sistema digestivo tubular dividido en varias unidades y podrán llevar a cabo diferentes funciones dependiendo de las necesidades del sistema. Las unidades se podrán inocular con diferentes comunidades de microflora, las cuales se establecerán como biopelículas dentro de los envases. Si se recolecta material celulósico se podrá utilizar un dispositivo análogo al rumen que contendrá especies capaces de digerir y fermentar el material en ácidos. Otros dispositivos podrán contener diferentes actividades tales como la proteolítica, amilolítica o pectinolítica para obtener sustratos ricos en proteínas, almidón o pectina respectivamente. Otro dispositivo podría asegurar las condiciones para que la microflora y el ambiente lleven a cabo la acetogénesis mientras que un dispositivo final contendría metanógenos, los cuales podrán ser controlados y optimizados (pH, temperatura) con el fin de producir eficientemente metano. Para cualquier tipo de flujo determinado a través de todo el sistema, los tamaños de los dispositivos podrán predecir el tiempo promedio de residencia de los contenidos. La mezcla y el flujo podrían mantenerse por una bomba. Proveer la captación selectiva de ácidos o el cambio de fase de gases también serán necesarios.

Un sistema futuro de monitoreo o control del proceso se podrá obtener mediante la medición y el control de la temperatura, el pH y las concentraciones de productos importantes (ácidos grasos y metano). El monitoreo utilizará sensores y biosensores acoplados a un microprocesador, que mediante pequeñas bombas podrían liberar los reactivos necesarios para neutralizar el pH o corregir las condiciones físico-químicas.

6.2.3.5.3 Extracción de energía

Una vez en la estación de carga, el robot transferirá su carga de babosas a un fermentador. Aquí las babosas se fermentarán anaerobicamente para producir biogás, que es una mezcla compuesta principalmente de dióxido de carbono y metano. El biogás se pasará a través de una celda de combustible de óxido sólido tubular especialmente desarrollada para producir electricidad. Las modernas celdas de combustible de este tipo pueden producir electricidad a partir de biogás que contiene metano en concentraciones de 20% o menos (Staniforth y Kendall, 1998). El robot

Gastrobot desarrollado en la Universidad del Sur de la Florida utiliza celdas de combustible microbianas para producir electricidad a partir de una solución de glucosa pura (Wilkinson, 1999). A diferencia del sistema que se propone para el SlugBot, su ánodo es colocado directamente en la fuente de alimentos orgánicos. Se afirma que con celdas de combustible de este tipo se pueden esperar eficiencias de hasta el 80% en la conversión de alimentos disponibles en electricidad utilizable (Wilkinson, 1999). Sin embargo, en este momento, la membrana de intercambio en el diseño del SlugBot se atascaría por las fuentes de alimentos tales como las babosas.

El propósito de una celda de combustible es convertir la energía química de una molécula orgánica en electrones. En las células biológicas, ésto se hace a través de una membrana lípida, utilizando soluciones acuosas y catalizadores enzimáticos. El equivalente en el hombre es la celda de combustible de hidrógeno, en la que la membrana preferida es un polímero perfluorado con ácido sulfónico con electrodos de carbono catalizados con platino y es donde se separa el hidrógeno y el oxígeno en el gas (Buchi, 1999). Esta membrana no funciona con eficiencia con combustibles de hidrocarburos, por lo que en estos casos se prefieren las membranas de cerámica, permitiendo que el combustible reaccione a temperaturas altas.

En la Figura 6.19 se muestra una típica celda de combustible de alta temperatura basada en una membrana de óxido de circonio. Esta celda consiste en un tubo cerámico blanco con una pared delgada que actúa como un conductor de iones de oxígeno (Kendall y Prica, 1994). En el interior se encuentra el electrodo que generalmente es una mezcla de partículas de circonio y níquel, con un alambre de níquel para recolectar los electrones. En el exterior de la celda se encuentra el electrodo de oxígeno con un alambre envuelto alrededor de él para el suministro de electrones. El combustible fluye a través del tubo mientras que el aire circula en el exterior. Ésto ofrece un potencial de alrededor de 1.1 V con una potencia de salida de 0.2 W/cm² a 800 °C.

El principio de funcionamiento de este dispositivo es electroquímico. El oxígeno es reducido a iones O²⁻ en el cátodo y los iones son transportados a través de la membrana para liberar electrones en el ánodo, donde el combustible se oxida. Los electrones circulan por un circuito externo. Un dispositivo de 1 kWe podría operar al 50% de eficiencia con un bajo costo de mantenimiento. El calor producido se utiliza para mantener la temperatura del dispositivo y también para procesar el combustible crudo en hidrocarburos más adecuados.

6.2.3.6 Construcción del SlugBot

El robot tendrá que realizar sus actividades en el barro, humedad, lluvia y viento. La ingeniería debe hacer énfasis en la eficiencia energética, fiabilidad y robustez. El robot utiliza un sistema de cuatro ruedas con tracción para moverse por los campos de barro y es este sistema el que tiene el consumo más grande de energía. Con el fin de minimizar la deformación del suelo y ahorrar energía se utilizaron neumáticos de globo. Un motor maneja las ruedas izquierdas a través de una correa dentada y un sistema idéntico se aplicó a las ruedas derechas.

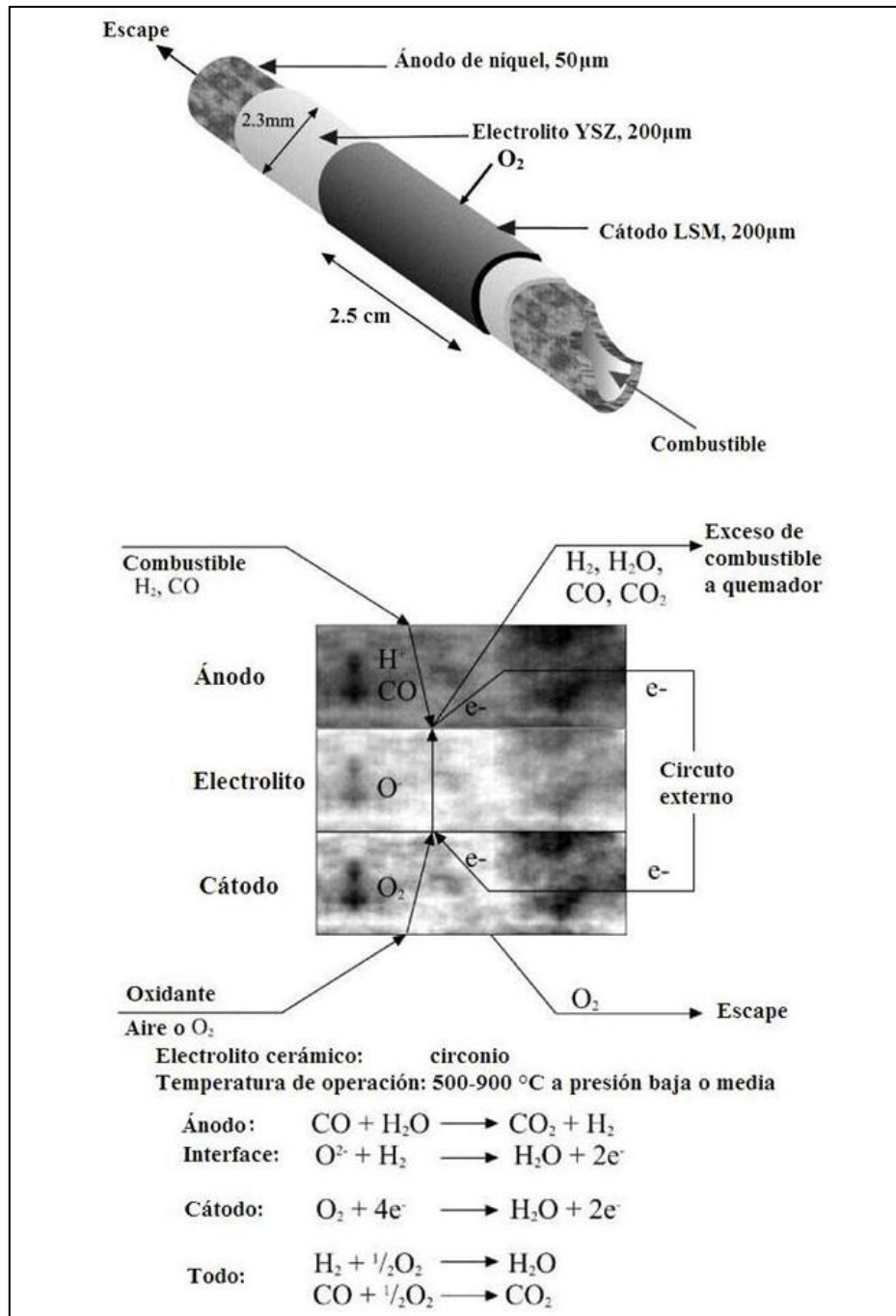


Figura 6.19 Celda de combustible de alta temperatura (Greenman y col., 2003)

Para reducir el consumo de energía, el escaneo y la captura de las babosas se lleva a cabo por un brazo ligero que puede buscarlas en un radio de 1.8 m. El final del brazo contiene una cámara para la detección, una pinza y transductores de sonar que exploran el terreno 360° alrededor del robot. Tan pronto como una babosa es detectada, se recoge y se deposita en un compartimento situado en el chasis del robot. El escaneo se reanuda a partir de la ubicación donde la babosa fue recogida. Una vez que el terreno circundante ha sido suficientemente analizado, el robot se mueve hacia un nuevo punto de inicio y la rutina de análisis se reanuda una vez más.

El diseño del brazo involucra un problema entre su longitud y el consumo de energía, por un lado, entre más largo sea el brazo mayor es el área que se puede escanear sin mover el robot, pero un brazo más largo es más pesado y se requiere más energía para moverlo. Se calculó que una longitud de brazo de 1.5 a 2 m produciría el mayor ahorro de energía con la máxima área de escaneo, por esta razón se optó por un brazo de 1.8 m de largo. Para cumplir con los criterios de ligereza y rigidez, el brazo se armó con dos secciones de tubo de fibra de carbono conectados por una junta articulada. Las demás partes que conforman el brazo se fabricaron con aluminio. Los motores de control del brazo se colocaron en su base para reducir el peso y la inercia del brazo. El movimiento del brazo se logra a través de una correa dentada colocada dentro del primer tubo. Las babosas están mayormente disponibles en determinados momentos del día, cerca de 2 horas después de la puesta del sol y cerca de 2 horas antes del amanecer. Esta ventana de tiempo limita la tasa de captura de babosas, por lo que se debe aprovechar de manera eficiente este tiempo. Como se muestra en la Figura 6.17, el brazo está fijado a una plataforma giratoria que le permite girar completamente alrededor de la base del robot. Las baterías se montaron en la parte posterior de la unidad de giro para actuar como un contrapeso para el brazo y la energía es transferida por la estructura principal a través de un par de cables. El chasis es lo suficientemente grande como para que las ruedas se monten en las posiciones que aseguran la estabilidad del robot en todas las extensiones posibles del brazo.

Se realizaron varios experimentos y diseños para lograr la construcción de una pinza ligera, la cual es capaz de recoger y liberar babosas húmedas y secas independientemente de su tamaño y su orientación en el suelo. Se encontró que las babosas secas son muy pegajosas, lo que hace que sean difíciles de liberar dentro del compartimento, mientras que las babosas húmedas son resbaladizas, lo cual hace difícil su recolección. El diseño de la pinza se construyó en torno a un sistema de tres dedos, cada uno con una separación de 120° con respecto a los demás, lo que permite que una babosa de menos de 75 mm de longitud se recolecte independientemente de su orientación. Cada uno de los dedos tiene una placa, lo que permite que al cerrarse estos dedos sea posible recoger a las babosas resbaladizas. También, cada dedo tiene una hoja de limpieza para garantizar que las babosas no tengan el tiempo suficiente para adherirse. La pinza se muestra en la Figura 6.20.

6.2.4 Branquias artificiales para robots

La autonomía energética en los robots es un área que gradualmente está recibiendo más atención. Se pueden utilizar diferentes estrategias para lograr la eficiencia energética, principalmente en función de la aplicación para la que se esté diseñando. Una de ellas es el empleo de la tecnología de las CMB, que permite la extracción de energía a partir de alimentos (plantas o insectos) a través de la degradación microbiana (Ieropoulos y col., 2005a y 2005b; Melhuish y col., 2006). Antes ya se mencionaron robots que emplean tecnología CMB para generar energía. Hasta la fecha, estos robots se han utilizado de forma terrestre y han utilizado oxígeno atmosférico en el cátodo (Ieropoulos y col., 2005a y 2005b; Melhuish y col., 2006).

En este trabajo se analizó la posibilidad de utilizar la tecnología CMB bajo el agua. De esta manera, se podría contemplar la posibilidad de utilizar la materia orgánica como "combustible" para las bacterias y a la vez emplear el oxígeno del agua en un cátodo acuoso. En cierto modo, este cátodo podría considerarse como una branquia artificial.

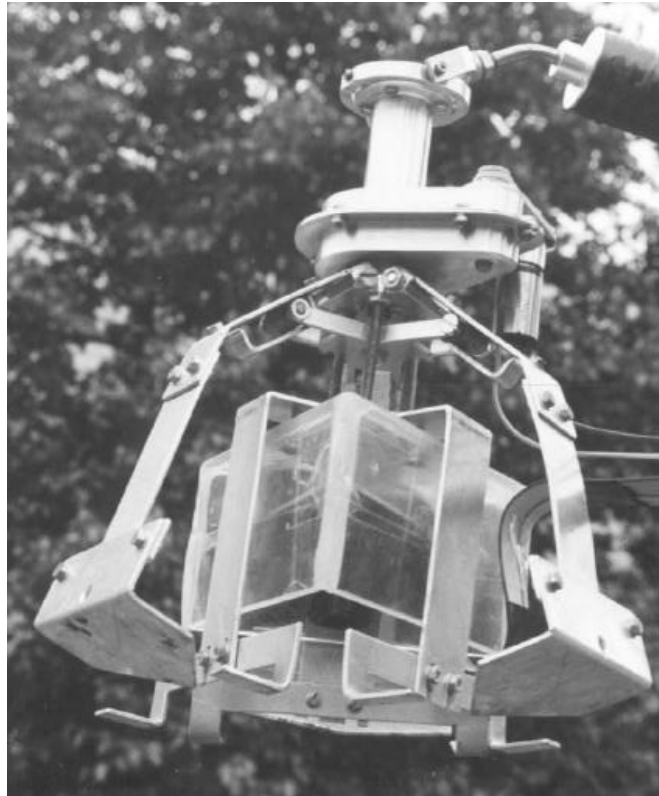


Figura 6.20 Pinza del Slugbot (Greenman y col., 2003)

En general, hay dos tipos de cátodos de uso común para las CMB, un sistema de cátodo químico basado en el ferrocianuro y el cátodo de difusión de gas, sistema que se basa en el oxígeno. Experimentos y trabajos anteriores han demostrado que el cátodo de difusión de gas puede emplear agua oxigenada como la que se puede encontrar en ambientes fluviales o marinos. A esta media-celda catódica se le nombra como “cátodo de oxígeno acuoso” para distinguirlo del “cátodo de oxígeno atmosférico” que se utilizó en los robots EcoBot I y II (Ieropoulos y col., 2005 a y b; Melhuish y col., 2006).

6.2.4.1 Cátodo de O₂

En los experimentos de laboratorio se han empleado varios compuestos sintéticos en el compartimiento del ánodo y el cátodo para investigar la mejora en la producción de energía en los sistemas de las CMB. Una de las mejoras es la adición de un agente altamente oxidante en el compartimiento del cátodo llamado ferrocianuro. Esta sustancia química ofrece excelentes características de corto plazo en el consumo de los electrones generados en el ánodo y en mantener el sistema de ciclo redox equilibrado. Sin embargo, este químico se consume durante el proceso. En términos de autonomía robótica, el empleo de ferrocianuro sería un factor limitante ya que se requiere el reemplazo frecuente del mismo para mantener la viabilidad del sistema.

El cátodo de difusión de O₂ ha sido empleado por muchos investigadores en el campo de la investigación en las CMB como una alternativa a los sistemas basados en químicos (Kang y col., 2003; Kim y col., 2003b; Chang y col., 2004; Liu y col., 2004; Liu y Logan, 2004; Min y Logan,

2004; Moon y col., 2004; Oh y col., 2004; Logan y col., 2005b). Ésto se debe principalmente a las propiedades redox que posee el O₂, ya que es una de las moléculas más electropositivas de la naturaleza y es el aceptor de electrones final para muchas reacciones aerobias. Una vez ensamblado como cátodo en la CMB, debido a las tasas sub-óptimas de difusión de gas en el electrodo, el rendimiento de este sistema es a corto plazo inferior a los sistemas de cátodos químicos. Sin embargo, es un sistema que no requiere de mantenimiento y puede, en teoría, seguir funcionando durante períodos prolongados. Por lo que resulta potencialmente adecuado para los robots autónomos.

6.2.4.2 Diseños de CMB

Se emplearon cuatro CMB en total para la primera parte de la investigación de Melhuish y colaboradores (2006). Dos de éstas tenían el cátodo abierto al aire como se muestra en la Figura 6.21 y las dos restantes eran exactamente del mismo tipo y tamaño, pero con una cámara cerrada para el cátodo como se muestra en la Figura 6.22. Estas cuatro unidades se consideraron apropiadas para la investigación de los distintos posibles escenarios de operación debajo o cerca del agua. Con el uso de las CMB de cámara cerrada con puertos de entrada y salida del agua sería posible examinar las propiedades de los cátodos totalmente sumergidos con agua estancada y en movimiento. Por otra parte, con el cátodo abierto al aire se pueden observar los efectos de la evaporación cuando el electrodo debe ser periódicamente humedecido.

El volumen de la cámara del ánodo, que es la misma para la cámara del cátodo en el caso de las CMB de cátodo cerrado fue de 25ml. En las cuatro CMB, los cultivos bacterianos empleados como biocatalizadores fueron del tipo que se encuentran en los lodos anaerobios, los cuales se alimentaron con 5 mM de acetato.

Para el ánodo y el cátodo, se emplearon electrodos de fibra de carbono con una superficie de 270 cm². En el caso de los cátodos abiertos al aire, se utilizó papel filtro de la misma superficie en el interior de las fibras de carbono para mejorar la retención de humedad. Una carga resistiva de 2.7 kΩ estaba conectada a través de los terminales de las cuatro CMB. También utilizaron membranas de intercambio protónico (MIP).

Las cuatro CMB fueron colocadas bajo un flujo constante de agua sobre los cátodos abiertos al aire y sobre los cátodos cerrados. Se utilizó agua a la misma temperatura para mantener húmedo a uno de los cátodos abiertos al aire, el cual fue denotado como humedecido-periódicamente. Lo anterior se realizó para comparar los efectos de un flujo continuo de agua sobre un cátodo abierto contra una pequeña cantidad de agua estacionaria suficiente para mantener el electrodo húmedo. La Figura 6.22 muestra las configuraciones de las CMB utilizadas.

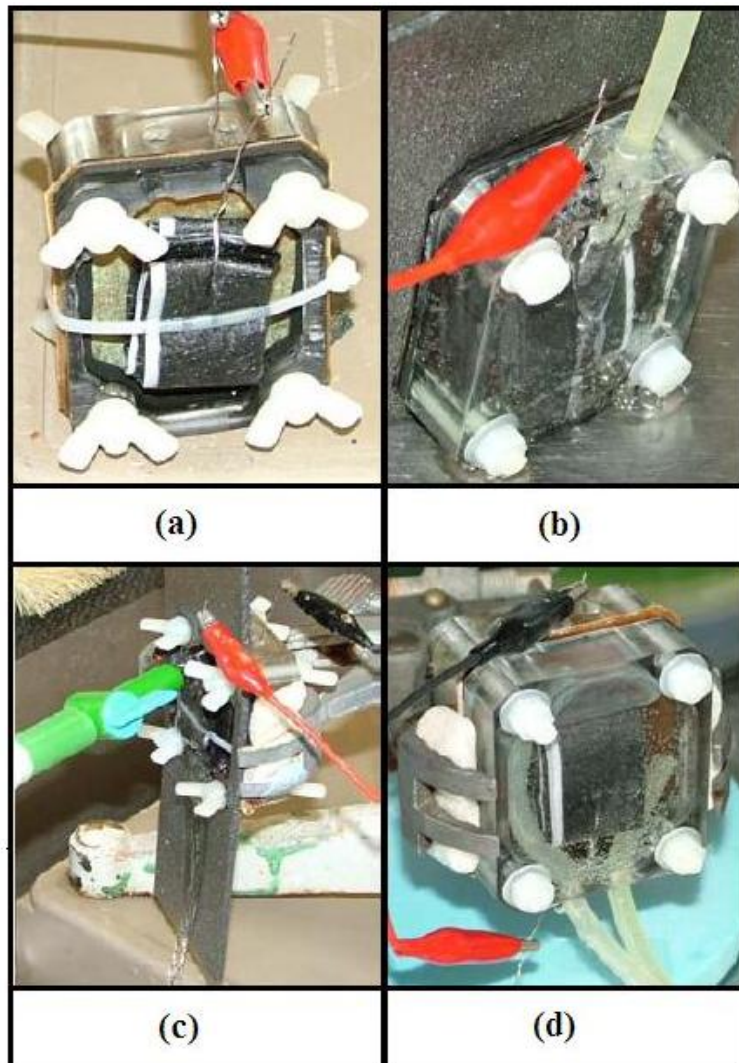
Los cultivos de lodos de la CMB que se adaptaron al medio ambiente por un período de 3 a 4 semanas se denominaron como cultivos maduros y tendieron a producir niveles más altos de energía como resultado de la adaptación y el adecuado enriquecimiento.



(a)

(b)

Figura 6.21. Dos tipos de CMB: a) CMB con cátodo expuesto al aire, b) CMB con cámara catódica cerrada (Melhuish y col., 2006)



(a)

(b)

(c)

(d)

Figura 6.22 Cuatro tipos de CMB: a) Periódicamente humedecido (p-h), b) Flujo continuo en cámara cerrada (entra desde arriba) (f-c-a), c) Flujo continuo en cámara cerrada (f-c), d) Flujo continuo en cámara cerrada (flujo invertido) (f-c-i) (Melhuish y col., 2006)

6.2.4.3 Resultados del experimento

El primer parámetro investigado fue el voltaje de circuito abierto (sin carga) de cada una de las CMB. Ésto establecería la salida máxima de voltaje que se podría lograr con tales unidades operando en un río. El voltaje final de circuito abierto producido por las CMB se logró en un período de aproximadamente 2 horas y media de flujo continuo de agua. Como se puede observar en la Figura 6.23, el voltaje más alto fue registrado por la CMB de cámara cerrada (Figura 6.22b), que fue de aproximadamente 1V.

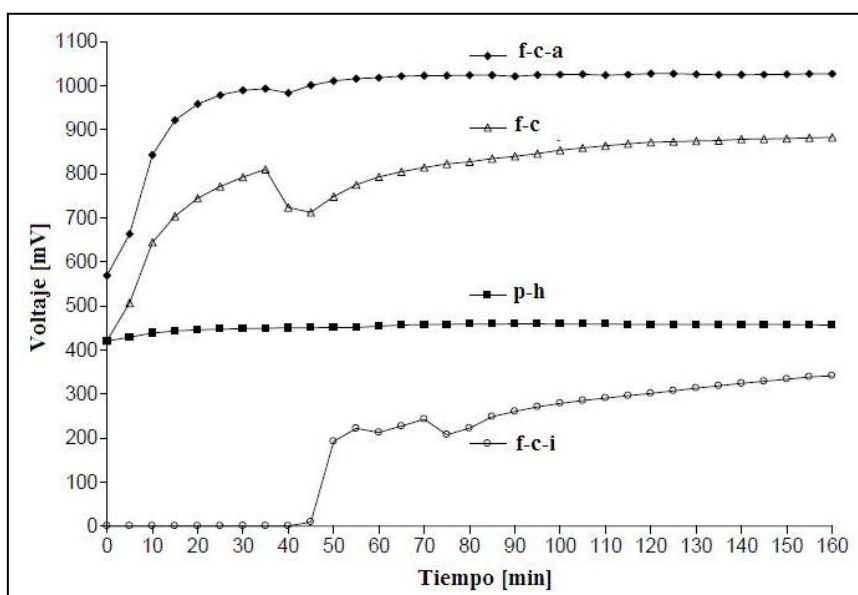


Figura 6.23 Voltaje de circuito abierto (Melhuish y col., 2006)

6.2.4.4 Efectos de la hidratación en los cátodos

Después de conectar una carga resistiva de $2.7\text{k}\Omega$, la potencia de salida se monitoreó bajo condiciones de hidratación (ON) y sin hidratación (OFF). La Figura 6.24 muestra la corriente de salida (I_s) para las cuatro CMB.

La I_s media de las CMB de cátodo cerrado durante los ciclos de hidratación fue de $40\mu\text{A}$. Para la CMB de cátodo abierto periódicamente humedecido fue de $25\mu\text{A}$. Para la CMB de cátodo abierto con hidratación continua fue de $15\mu\text{A}$. Los valores de corriente media (I_{med}), potencia media (P_{med}) junto con los valores de resistencia interna (R_{int}) de cada uno de CMB, se muestran en la Tabla 6.1.

La diferencia máxima entre las salidas de corriente de las 4 CMB fue inferior al 20%, siendo la mínima de 5%. En cuanto a la salida de potencia media, la diferencia entre la máxima ($4.65\mu\text{W}$) y la mínima ($2.54\mu\text{W}$) fue de 45%. La R_{int} mas pequeña ($4.90\text{k}\Omega$) se registró en la f-c-a (Figura 6.22b), la cual tiene una diferencia del 15% con respecto al siguiente valor de R_{int} ($5.74\text{k}\Omega$) utilizada en la f-c y una diferencia del 40% con respecto a la CMB periódicamente-humedecida ($8.26\text{ k}\Omega$).

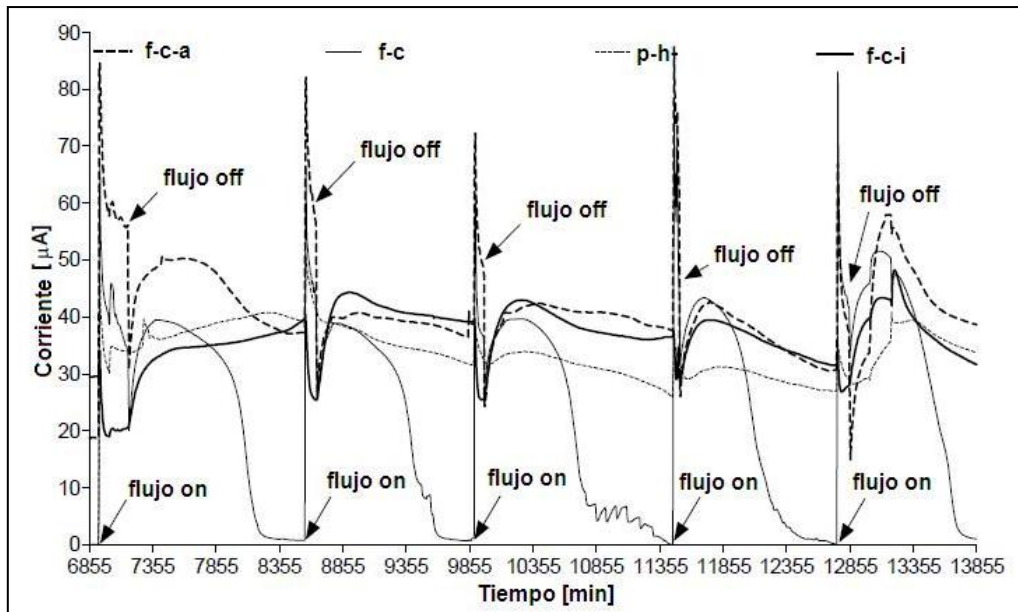


Figura 6.24 Corriente de salida de las cuatro CMB en diferentes condiciones de hidratación (Melhuish y col., 2006)

Tabla 6.1 Valores medios de salida de corriente y potencia de la CMB, junto con la resistencia interna calculada (Melhuish y col., 2006)

Tipo de CMB	I_{inicial} μA	I_{med} μA	P_{med} μW	R_{int} $\text{k}\Omega$
p-h	20.51	30.07	2.54	8.26
f-c-a	71.15	39.02	4.65	4.90
f-c	48.94	38.67	4.44	5.74
f-c-i	9.00	34.89	3.53	6.74

6.2.4.5 Efecto de la temperatura en el cátodo

La temperatura de la corriente de agua la controlaron de forma manual para establecer un perfil de respuesta en las 4 configuraciones. La temperatura del agua para estos experimentos osciló entre los 13°C y los 51°C. La Figura 6.25 muestra el efecto de la temperatura en las diferentes configuraciones de cátodos.

6.2.4.6 Efectos del flujo de agua

Se investigó el efecto del caudal de agua en el cátodo para establecer una relación entre este parámetro y la corriente de salida de las CMB. Ésto se llevó a cabo de manera cualitativa con aproximaciones de aumento o disminución en el caudal ya que un flujo preciso y cuantificable de agua no se puede establecer sin el empleo de una bomba. El flujo de agua fue controlado manualmente desde el grifo de agua con un indicador (jeringa de 20 ml), para indicar los aumentos y

disminuciones en el flujo, en términos del nivel de agua en la jeringa. La Figura 6.26 muestra las respuestas de las 4 CMB cuando el flujo de agua fue “duplicado”.

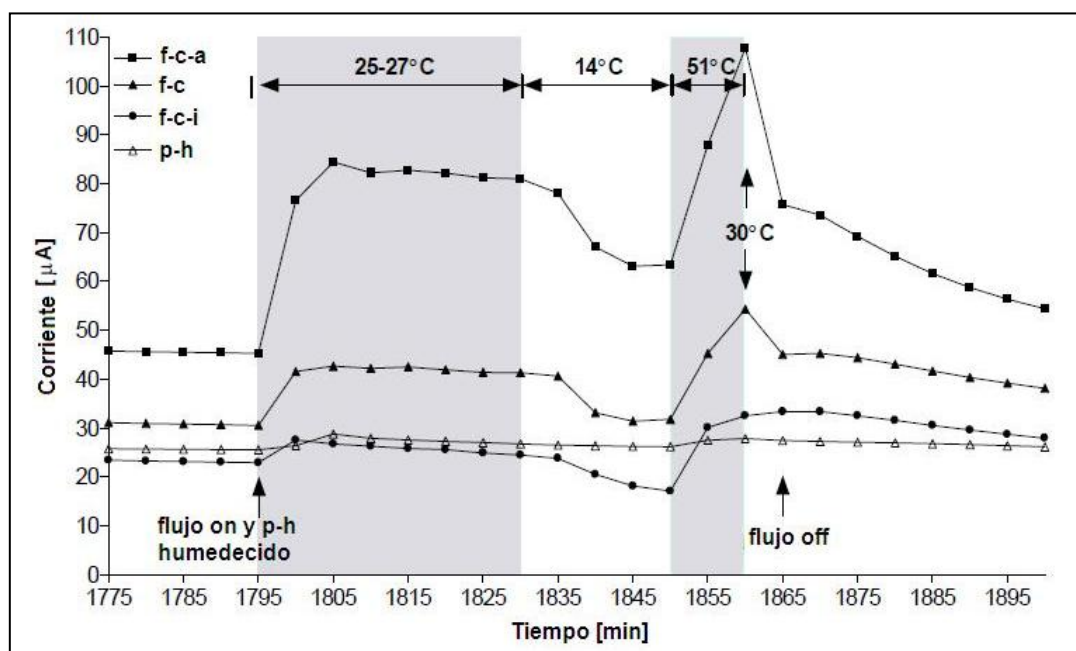


Figura 6.25 Efecto de la temperatura en las diferentes configuraciones de cátodos (Melhuish y col., 2006)

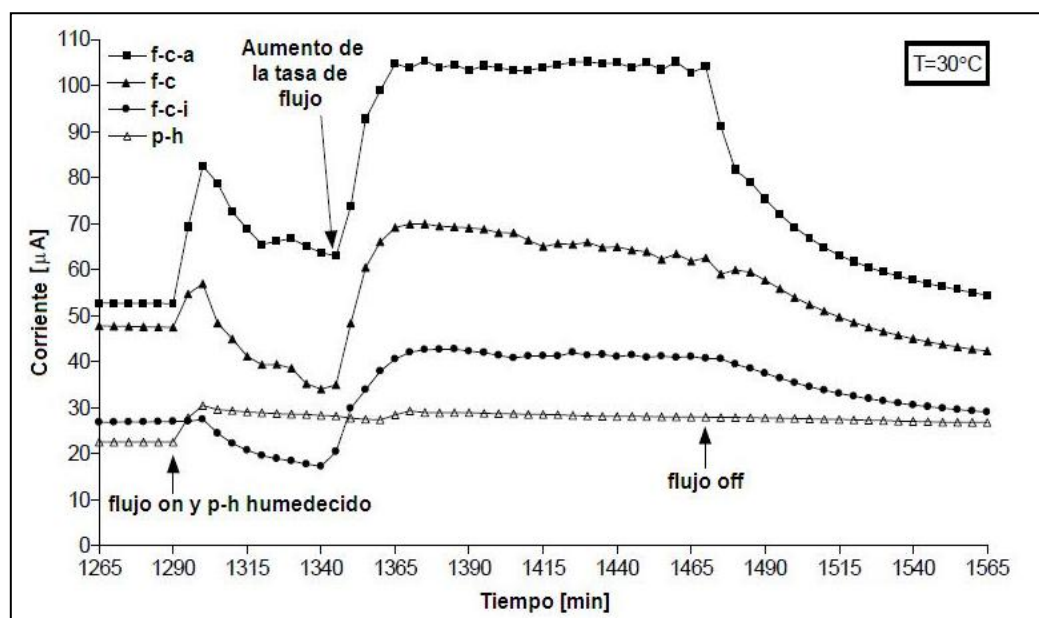


Figura 6.26 Respuesta de I_s como resultado de un aumento en el caudal de agua manteniendo constante una temperatura de 30°C (Melhuish y col., 2006)

El mayor incremento de I_s registrado fue para la f-c-i con 165%, seguido de un aumento del 100% en la f-c y el correspondiente aumento del 84% en la f-c-a. Éstas fueron las respuestas al "duplicar" el caudal de agua. Estos datos muestran una relación directa entre el caudal de agua y la I_s , con un incremento total del 100% registrado entre los caudales mínimos y máximos.

6.2.4.7 Discusión del experimento

El voltaje de circuito abierto de los datos registrados a partir de las 4 CMB muestra un sistema redox de buena reacción, con un valor máximo 1V de salida y 0.3V como mínimo. La variación existente entre los dos sistemas de cámara cerrada puede atribuirse al hecho de que en las etapas iniciales de la investigación, la circulación del agua y su mezcla en la cámara invertida fue insuficiente. Ésto habría dado lugar probablemente a un "volumen muerto" de H_2O , resultando en bajas tasas de difusión de O_2 . Esta explicación se ve reforzada por el hecho de que la hidratación continua de las CMB de cátodo abierto y cerrado obtuvo aumentos en el voltaje.

Las CMB no son la solución perfecta al problema de la energía en los robots autónomos, sobre todo porque la capacidad de estos dispositivos puede ser tan baja como 12 mA/h. Sin embargo, como se muestra con EcoBots I y II, es posible tener éxito con el "comportamiento de impulsos". Por otra parte, incluso con la producción de energía baja, tareas como la detección, procesamiento, comunicación y movimiento se pueden realizar (EcoBot-II).

Para robots autónomos que emplean CMB con cátodos de O_2 , la retención de agua parece ser muy importante. Una de las características de diseño que podrían emplearse en el desarrollo de robots autónomos (similar a lo que poseen los sapos y las salamandras), sería la incorporación de una estructura de micro-canales en la parte inferior del robot y que se extendiera hacia la parte superior del robot y por acción de capilaridad podría extraer agua desde el suelo húmedo para ser utilizado en los cátodos.

De acuerdo con la ley de Henry, la concentración de gas en un líquido es inversamente proporcional a la temperatura del líquido. Ésto significa que se encuentra menos O_2 presente en el agua a temperaturas más altas. Sin embargo, la investigación sobre el efecto de la temperatura del agua en las CMB mostró un aumento en la corriente de salida en respuesta al aumento de la temperatura del agua. Ésto tal vez se deba a tres razones diferentes:

- a) El aumento en la velocidad de reacción de difusión en la superficie del electrodo
- b) El gradiente de temperatura creado entre el ánodo y el cátodo, que sirvió como una termounión para la transferencia de energía y
- c) El aumento de la velocidad de reacción metabólica de las bacterias anódicas como resultado del aumento de la temperatura

Los robots submarinos impulsados por las CMB podrían aprovechar estos efectos buscando aguas más cálidas, las cuales aumentarían la tasa metabólica en el biocatalizador anódico, la diferencia de temperatura entre los dos electrodos y si el robot utilizara plancton como fuente de biomasa, se beneficiaría de tener mejores oportunidades de alimentación.

Durante los experimentos en relación al flujo de agua a temperatura constante se registró una relación directa entre los parámetros del caudal y la corriente de salida. Puesto que un gradiente de temperatura ya no estaba contribuyendo en la mejora de los parámetros en la CMB, el aumento en la potencia fue debida probablemente a la transferencia mayor de masa de moléculas de O₂ difundiéndose a través del electrodo.

6.3 Biosensor de CMB de una sola cámara (cámara anódica) para aguas residuales

Desde que fue seleccionada por la Comisión Real de Eliminación de Aguas Residuales en 1908 como una prueba definitiva, la demanda bioquímica de oxígeno de 5 días (DBO₅) se ha convertido en el parámetro más utilizado para medir el contenido de materia orgánica de las aguas residuales. Esta determinación se basa en la medición del oxígeno disuelto utilizado por los microorganismos en la oxidación bioquímica de la materia orgánica. A pesar de su uso extendido, la prueba DBO tiene una serie de limitaciones, tales como la precisión cuestionable e irreproducibilidad, así como el trabajo y tiempo invertido en la misma. En consecuencia, esta prueba no es adecuada para el control de procesos y monitoreo en tiempo real.

En los últimos años, los biosensores han demostrado tener un gran potencial para ser considerados como una alternativa al método convencional de análisis DBO. Las ventajas principales que ofrecen los biosensores sobre las técnicas analíticas convencionales son: La posibilidad de ser portátiles, la miniaturización y la realización del trabajo en el sitio de operación, además no requieren de pasos adicionales de procesamiento tal como la adición de reactivos (Rodríguez-Mozes y col., 2006). Se han reportado varios biosensores de DBO que se basan en el control de oxígeno disuelto y utilizan microorganismos específicos, tales como *Bacillus subtilis* (Riedel y col., 1988), *Arxula ardeninivorans* (Riedel y col., 1998) y *Serratia marcescens* (Kim y Kwon, 1999), cultivos mixtos (Tan y Wu, 1999) o de lodos activados (Liu y Mattiasson, 2002). También se ha utilizado un biosensor basado en una bacteria luminosa. La intensidad de la luminiscencia es proporcional a la cantidad de compuestos orgánicos que se miden con un fotodiodo (Hyun y col., 1993).

Todos estos biosensores han demostrado una muy buena relación con la concentración de DBO, pero presentan la limitación de tener una estabilidad operacional muy corta y en el caso de los biosensores basados en un solo organismo, tienen poca versatilidad de sustrato. El rango de medición es muy bajo, generalmente del orden de 0 a 110 ppm (Kim y col., 2003a).

Las CMB han sido probadas como sensores de DBO (Chang y col., 2004 y 2005; Gil y col., 2003; Kang y col., 2003; Kim y col., 2003a y b; Kumlanghan y col., 2007; Moon y col., 2004; Pasco y col., 2004) mostrando una estabilidad operativa de más de 5 años con un mantenimiento mínimo (Chang y col., 2004 y 2005; Kim y col., 2003a y b). Todos estos estudios utilizaron CMB de dos cámaras con un cátodo acuoso.

Para el estudio descrito, se utilizó una CMB de una sola cámara (cámara anódica) con un cátodo de aire como un biosensor de DBO. El objetivo fue hacer un sistema más compacto y simple con menores costos de operación. Un cátodo de aire ofrece ventajas potenciales sobre el sistema de dos cámaras, porque no requiere aireación, reciclado, ni regeneración química del catolito (Fan y col., 2007). Además, el rango de concentraciones de DBO detectadas por el biosensor se puede aumentar debido a un mejor suministro de oxígeno al cátodo.

En estudios anteriores, se ha observado una relación lineal entre el caudal de las aguas residuales y la corriente generada sólo para valores por arriba de las 150 ppm (Kim y col., 2003a). Chang y col. (2004) aplicaron un modelo para predecir las concentraciones de DBO superiores a 100 ppm.

6.3.1 Materiales y métodos utilizados en el biosensor

6.3.1.1 CMB de una cámara y su funcionamiento

Las celdas utilizadas en estos experimentos fueron hechas de tubos de poliacrilato de 12.5 cm de diámetro interior y 4 cm de longitud. Cada celda tiene tres puertos de flujo (cada uno de 1 cm de diámetro), uno en la parte inferior y dos en la parte superior (Figura 6.27). El volumen de la cámara del ánodo fue de 50 cm³.

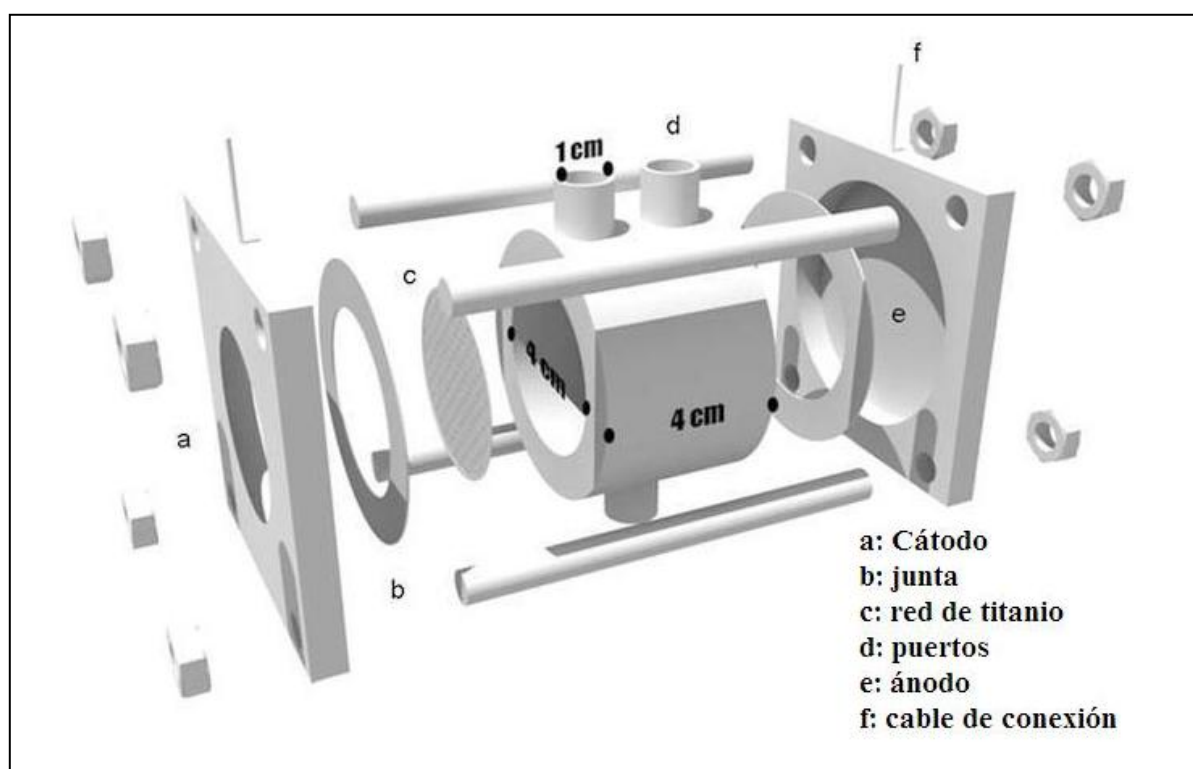


Figura 6.27 Celda microbiana de biocombustible de una sola cámara (Di Lorenzo y col., 2009)

El nuevo biosensor de CMB tenía un diseño similar al biosensor de CMB original. El área del ánodo y cátodo se mantuvo en 12.5 cm², mientras que el volumen fue de aproximadamente 75% menor, obtenido mediante la reducción de la longitud del reactor de 4 a 1 cm, resultando en un volumen de 12.6 cm³. La celda tiene dos soportes en ambos extremos del tubo: Uno para sujetar al ánodo y el otro para sujetar al cátodo. El ánodo es una pieza circular de tela de carbono (BASF) de 12.5 cm² y 0.1 cm de grosor. El cátodo se expone al aire en un lado y por el otro se separa del ánodo por medio de una membrana de intercambio catiónico (Nafion® 117 de DuPont).

El cátodo era de carbono con platino (0.3 mgPt/cm², el 60% en Vulcan, E-tek) depositado sobre una tela húmeda de papel carbón Toray de E-tek (20% en peso de teflón). El área de sección transversal

fue de 12.5 cm². En este estudio, el ánodo y el cátodo se conectaron a través de un voltímetro (Pico ®) y una resistencia externa se aplicó para polarizar a la celda y controlar la variación de corriente en condiciones de circuito cerrado. En la operación de la celda, el agua residual se alimentó a través del puerto de inyección con tasas de flujo en el rango de 0.12 a 1.5 cm³/min mediante una bomba peristáltica (Watson-Marlow, 520S). La Figura 6.28 muestra el diseño del sistema. Las celdas operaron a temperatura ambiente (21 ± 2°C). Cada experimento se realizó por duplicado.

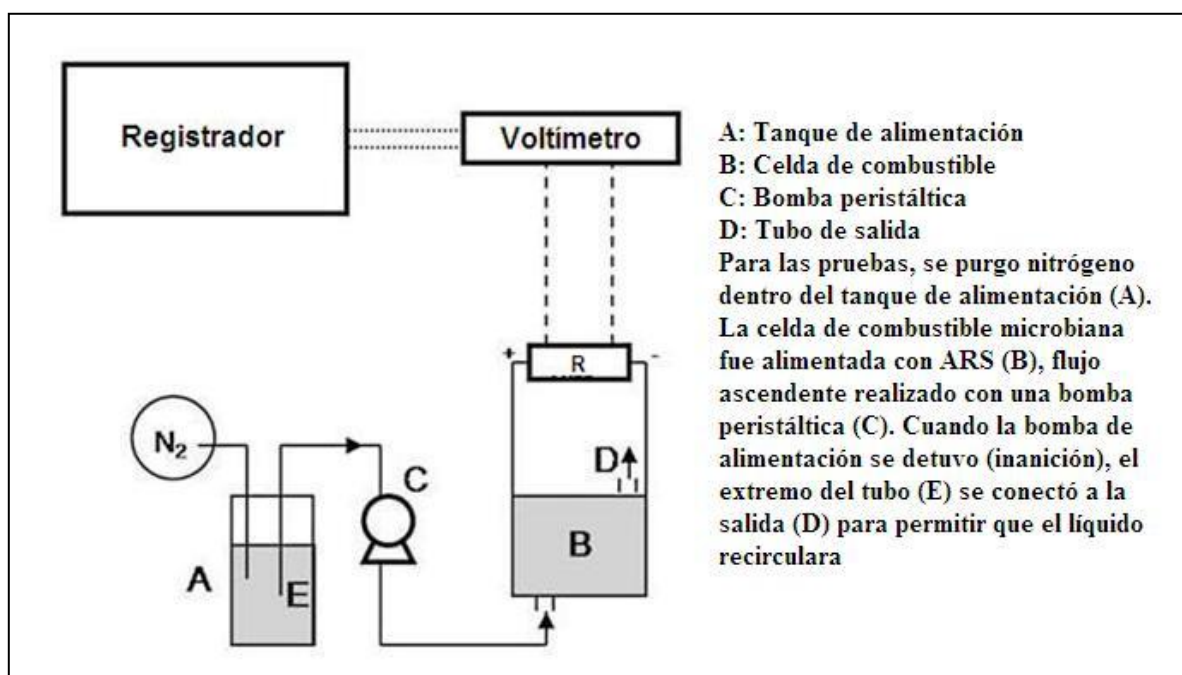


Figura 6.28 Diseño de sistema CMB de una sola cámara (Di Lorenzo y col., 2009)

6.3.1.2 Biocombustible para la CMB

El agua residual artificial (ARS) se preparó con los siguientes compuestos: 40 mg/dm de NH₄Cl, 10 mg/dm de MgCl₂, 0.1 mg/dm de CuSO₄, 5 mg/dm de CaCl₂, 0.1 mg/dm de MnSO₄, 0.1 mg/dm de ZnCl₂, buffer con fosfato (1.0 mol/dm (molar), pH7) y agua destilada. La concentración de DQO en el ARS fue controlada mediante la adición de una cantidad adecuada de glucosa. El ARS se colocó en un autoclave a 121°C durante 10 minutos antes de usarla.

El agua residual tratada (ART) fue recolectada del sistema de tratamiento de aguas residuales en la planta de tratamiento de Cramlington (Northumbrian Water, Reino Unido). Las aguas residuales se recolectaron durante un período de fuertes lluvias y con una DQO de 175 ± 50 mg/dm (Tabla 6.2). Fue muestreada en un solo lote y se almacenó a 4°C hasta su uso; su DQO no cambió notablemente durante el almacenamiento. Para prevenir alguna obstrucción en las celdas, la ART se filtró antes de usarse.

6.3.1.3 Enriquecimiento y adaptación de las bacterias

El enriquecimiento y adaptación de las bacterias electroquímicamente activas se llevó a cabo mediante una resistencia externa fija de 500 Ω durante un período de aproximadamente 4 semanas.

Cuando el agua residual artificial se utilizó como combustible, se seleccionó una DQO de 1,000 ppm para el enriquecimiento, también se agregó lodo anaerobio (planta de tratamiento Northumbrian en Cramlington, Reino Unido) al combustible como un inóculo bacteriano. Una vez que se observó un pico de corriente estable, las celdas fueron alimentadas con ARS con una DQO de 200 ppm sin inóculo.

Cuando el agua residual real se utilizó como combustible, la DQO se incrementó hasta el valor final de 1,000 ppm mediante la adición de una cantidad adecuada de glucosa. El agua residual proveyó por sí misma el inóculo, por lo que no se añadió inóculo en este caso.

6.3.1.4 Monitoreo del sistema

El trabajo descrito se basa en el análisis de la demanda química de oxígeno (DQO), ya que era más conveniente de medir en comparación con la DBO. Para el agua residual artificial, la DQO fue igual a la DBO, mientras que para el agua residual real, la DBO fue de aproximadamente la mitad (Tabla 6.2). La DQO se determinó mediante el método estándar utilizando cromato como oxidante, tal como se describió previamente en Eaton y col. (2005). Todas las muestras fueron filtradas a través de una membrana con poros de 0.22 μm de un diámetro (VWR International) antes de las mediciones de DQO.

Tabla 6.2 Características de las aguas residuales utilizadas en el experimento CMB de una sola cámara (Di Lorenzo y col., 2009)

Parámetro	Valor (20.7 ° C)
pH	7
Alcalinidad (ppm)	46 \pm 3
Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1,570 \pm 10
DQO (ppm)	175 \pm 50
DBO (ppm)	88 \pm 5
COT (ppm)	98 \pm 2
NH ₃ -N (ppm)	21 \pm 0.3
Fosfato (ppm)	4.1 \pm 0.9
Sulfato (ppm)	49.4 \pm 9
Sólidos totales suspendidos (ppm)	187 \pm 18

La tasa de consumo de DQO se calculó con la siguiente fórmula:

$$Q \times (DQO_{\text{entrada}} - DQO_{\text{salida}}) \quad (6-1)$$

donde

Q (dm^3/h) es el flujo de combustible

DQO_{entrada} y DQO_{salida} (mg/dm^3) son la DQO del influente y el efluente respectivamente

La eficiencia coulombica en estado estacionario se calculó con la fórmula:

$$\epsilon_C = \frac{MI}{FzQ\Delta DQO} \times 100\% \quad (6-2)$$

donde

F : es constante de Faraday ($96,485 \text{ C}/\text{mol}$)

$M = 32$: es el peso molecular del oxígeno

I (A): es la corriente en el estado estacionario

$z = 4$: es el número de electrones intercambiados por mol de oxígeno

Q (dm^3/s): es el flujo a través del sistema

ΔDQO (g/dm^3): es la diferencia en la DQO del influente y efluente.

6.3.2 Resultados y discusión del experimento

6.3.2.1 Efecto de la tasa de alimentación

La Figura 6.29 muestra la variación de la corriente de salida de la CMB en el tiempo cuando se alimentó por lotes sucesivos de ARS. Los datos mostrados son el promedio de los resultados de dos reactores. Las flechas indican los puntos de alimentación. Sólo los seis primeros lotes se realizaron con lodo anaerobio como inóculo (0.5% en volumen) y ARS (1,000 ppm DQO). El lote indicado con ** se realizó con ARS conteniendo 1,000 ppm como DQO, mientras que los lotes siguientes contenían ARS con 200 ppm de DQO. Área del ánodo: 12.5 cm^2 , resistencia externa: 500Ω . La salida de corriente se elevó después de cada lote de alimento, alcanzando un pico antes de declinar debido al consumo del combustible. El pico de corriente pasó de un valor de $0.02 \pm 6 \times 10^{-4} \text{ mA}$ con el primer lote de combustible, hasta un valor de $0.12 \pm 4 \times 10^{-3} \text{ mA}$, alcanzado en el cuarto lote. Después de 400 horas (cuatro lotes) no se observó algún aumento de la corriente de salida; lo anterior supone que la biopelícula del ánodo se enriqueció con bacterias electroquímicamente activas y se mantuvo estable. Cuando la concentración de DQO en el ARS se redujo a 200 ppm sin utilizar inóculo, se generó una corriente estable de aproximadamente 0.04 mA . El período de enriquecimiento total fue de aproximadamente 550 h.

Una vez que el enriquecimiento de las celdas se completó, el rendimiento del sistema se experimentó en modo continuo. El agua residual sintética (ARS, 100 ppm DQO) se introdujo dentro de las celdas a diferentes tasas de flujo. Las celdas se alimentaron con un flujo específico hasta que una corriente estable se generó y luego la velocidad del caudal se incrementó.

La Tabla 6.3 muestra el cambio en la respuesta de corriente sobre el aumento de la tasa de flujo de ARS en aumentos de 0.1 a $0.56 \text{ cm}^3/\text{min}$. Se utilizó ARS como combustible. La DQO se fijó en 100 ppm. Área del ánodo: 12.5 cm^2 , resistencia externa: 500Ω . Los datos mostrados son el promedio de dos reactores. La corriente aumentó con cada aumento de la tasa de flujo, variando desde

0.063 ± 0.002 mA para un flujo de 0.12 cm³/min hasta un valor de 0.27 ± 0.003 mA para un flujo de 0.56 cm³/min. El aumento de corriente se observó hasta un flujo de 0.46 cm³/min; cuando las celdas fueron alimentadas con flujos más altos (0.56 cm³/min), sólo se observó un pequeño incremento del 4% en la corriente. No se observó aumento de la corriente para tasas de flujo por encima de 0.56 cm³/min (datos no presentados). El aumento de la corriente con los flujos podría indicar un aumento de la actividad electroquímica de las bacterias debido a un aumento en la tasa de transporte de masa.

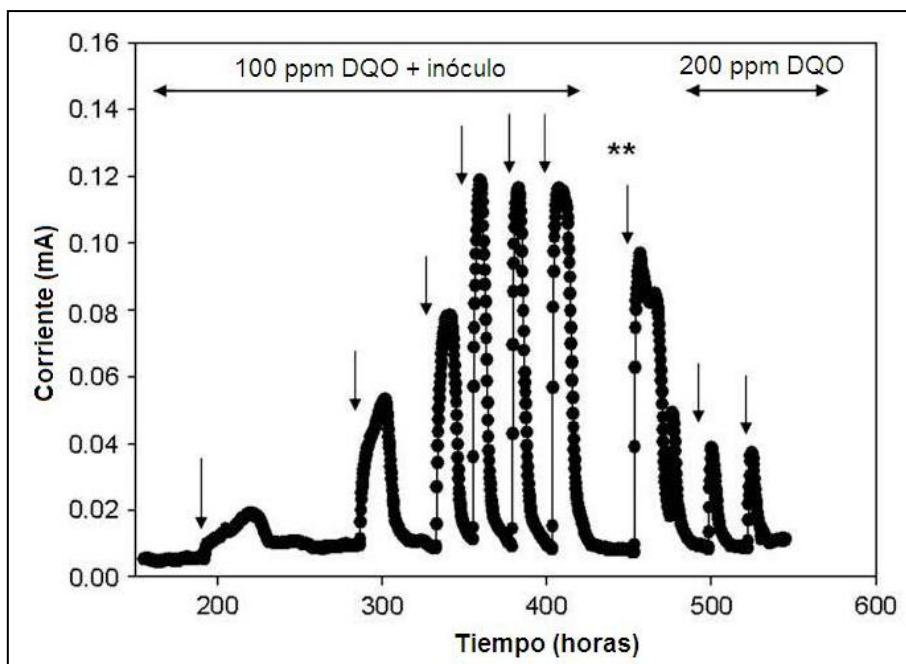


Figura 6.29 Variación de la corriente con el tiempo para el enriquecimiento de bacterias electroquímicamente activas (Di Lorenzo y col., 2009)

Tabla 6.3 Efecto de la tasa de alimentación en la corriente generada y eficiencia coulombica (Di Lorenzo y col., 2009)

Tasa de flujo (cm ³ /min)	Tasa de carga (mg DQO/hcm ²)	Corriente (mA)	HRT (min)	DQO efluente (ppm)	Tasa de remoción de DQO (mg DQO/h)	Eficiencia coulombica (%)
0.12	0.058	0.063	417	34 ± 8.3	0.475 ± 0.06	4 ± 0.7
0.26	0.125	0.151	192.3	40 ± 0.25	0.936 ± 0.02	5 ± 1
0.38	0.182	0.181	131.6	39.9 ± 2.6	1.37 ± 0.1	4 ± 0.8
0.46	0.221	0.26	108.7	50 ± 1.8	1.38 ± 0.2	6 ± 1.2
0.56	0.267	0.27	89.3	52 ± 2.7	1.61 ± 0.8	5 ± 0.9

La Tabla 6.3 también describe la respuesta de la celda para diferentes flujos en términos del cambio en la DQO y las tasas de consumo de la DQO, también se presentan las eficiencias coulombicas observadas para cada tipo de alimentación. Al aumentar el caudal y por lo tanto reducir el tiempo de retención hidráulico (TRH), la tasa de remoción de DQO y la DQO del influente aumentó. El efecto del aumento de la DQO del efluente en los pasos siguientes produjo sucesivos decrementos en la tasa de remoción de DQO. El aumento del primer paso fue de aproximadamente el 97%, mientras que para el último ($0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$ a $0.56 \text{ cm}^3/\text{min}$) fue sólo el 17%.

Un gran caudal debería ser ideal para aumentar la respuesta dinámica del sistema debido al aumento en el transporte de masa. Por lo tanto, se decidió usar el flujo de $0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$ en todos los experimentos siguientes.

Para todas las tasas flujo, se obtuvieron valores bajos de eficiencia coulombica (4 a 6%), por lo que un alto porcentaje de remoción de DQO no estaba relacionado con la corriente generada.

6.3.2.2 Efecto de la resistencia externa en el funcionamiento de la celda

Se ha demostrado anteriormente que la resistencia externa puede afectar el rendimiento de las CMB y por lo tanto podría ser una limitación en la respuesta del sensor CMB (Kang y col., 2003; Kumlanghan y col., 2007). Se llevó a cabo una serie de pruebas, en las que las resistencias externas (R_{ext}) variaron desde 50 hasta 500Ω a una concentración de entrada de DQO constante de 100 ppm y un flujo de $0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$. El objetivo fue determinar el valor de la resistencia externa que dio la menor respuesta dinámica del sistema. Las celdas fueron alimentadas hasta generarse una corriente constante. Posteriormente se realizó una inhibición celular mediante la interrupción de la alimentación hasta que la salida de corriente alcanzó aproximadamente $0.015 \pm 0.05 \text{ mA}$. Durante la inhibición, la solución dentro del reactor se recirculó a la misma tasa de flujo ($0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$) para garantizar la mezcla dentro de la celda. La Tabla 6.4 muestra los resultados obtenidos. El pico de corriente aumentó y el tiempo de respuesta para alcanzar el estado estacionario disminuyó a medida que la resistencia se redujo. Con la disminución de la resistencia externa a 50Ω , el tiempo de respuesta disminuyó aproximadamente un 67% con respecto a una R_{ext} de 500Ω . El estado de equilibrio de la corriente se alcanzó después de 4.5 horas en comparación con las 13.75 h cuando la R_{ext} fue de 500Ω . Una R_{ext} de 50Ω fue la más baja que se podría utilizar para tener voltajes confiables: Cuando una R_{ext} inferior a 50Ω se utilizó, la corriente de salida fue muy baja y no pudo medirse con precisión.

La Tabla 6.4 también muestra que los cambios en la resistencia externa no tuvieron ningún efecto importante sobre la tasa de remoción de DQO. Esencialmente, la mayoría de remoción de DQO se asoció con procesos no anódicos (eficiencia coulombica baja).

6.3.2.3 Respuesta del sensor a la concentración de la DQO y calibración con carga externa de 50Ω

La calibración del estado de equilibrio de la corriente versus la DQO (50 a 1,000 ppm) condujo a utilizar una R_{ext} de 50Ω , la cual corresponde a la respuesta más rápida del sistema. No fue posible considerar concentraciones de DQO por debajo de las 50 ppm debido a la sensibilidad del registrador de datos utilizado. La Figura 6.30a muestra la respuesta dinámica del sistema para diferentes

concentraciones de entrada de la DQO. Las celdas se alimentaron continuamente a una DQO específica hasta que se generó una corriente constante, seguido de un periodo de inanición hasta que se obtuvo una corriente de aproximadamente 0.015 ± 0.05 mA. Se observó una buena reproducibilidad del sistema.

La Figura 6.30b muestra la variación de la corriente con la concentración de DQO. Se obtuvo una respuesta lineal (Figura 6.30c) con valores de DQO por arriba de 350 ppm ($r^2 = 0.96$). Para las celdas CMB de dos cámaras, se ha reportado una respuesta lineal hasta concentraciones de DQO de 150 ppm. Los datos son el promedio de dos reactores (Chang y col., 2004; Kim y col., 2003b).

Tabla 6.4 Efecto de la resistencia externa en la respuesta dinámica del biosensor CMB (Di Lorenzo y col., 2009)

Resistencia externa (Ω)	Tiempo de Respuesta (h)	Corriente máxima (mA)	Tasa de remoción de DQO (mg DQO/h)	Voltaje (mV)
50	4.5	0.14	2.7 ± 0.9	7
120	5	0.126	3 ± 0.5	15.12
250	5	0.105	2.3 ± 1.2	26.25
500	13.75	0.084	2.37 ± 1	42

Biosensores de las CMB anteriores también se han calibrado considerando la relación entre la concentración de DQO y la carga total generada (Gil y col., 2003; Kim y col., 2003a). En este caso, se obtuvo una relación lineal entre la concentración de DQO por encima de 250 ppm de DQO (Gil y col., 2003; Kim y col., 2003a). La Figura 6.31 muestra una calibración de carga generada versus la DQO. En este caso se obtuvo una respuesta lineal con concentraciones de DQO por encima de 500 ppm. Para cada valor de DQO, la carga generada se calculó mediante la integración de la corriente de salida en el tiempo desde el punto de inicio del lote de alimentación hasta el momento en que la corriente se redujo al 5% de su valor máximo. Tasa de flujo: $0.46 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. $R_{\text{ext}} = 50 \Omega$. Los datos son el promedio de dos reactores.

También se confirmó la reproducibilidad de la CMB bajo una resistencia externa de 50Ω para el caso de alimentación de forma continua, como se muestra en la Figura 6.32. El sistema se alimentó de forma continua con ARS conteniendo las concentraciones de DQO indicadas (en ppm). Los datos son el promedio de los resultados dos reactores. De hecho, la Figura representa la respuesta dinámica de la corriente bajo concentraciones de DQO variables, desde 60 hasta 210 ppm, con un flujo constante de $0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$.

La celda dio valores constantes razonables de respuesta en corriente cuando la entrada de DQO era la misma. Por ejemplo, cuando los reactores fueron alimentados con una solución con 60 ppm de DQO, la corriente de salida fue de 0.07 mA con una desviación estándar relativa de 0.22%. Con 160 ppm de DQO, la corriente de salida fue de 0.147 mA con una desviación estándar de 0.53%.

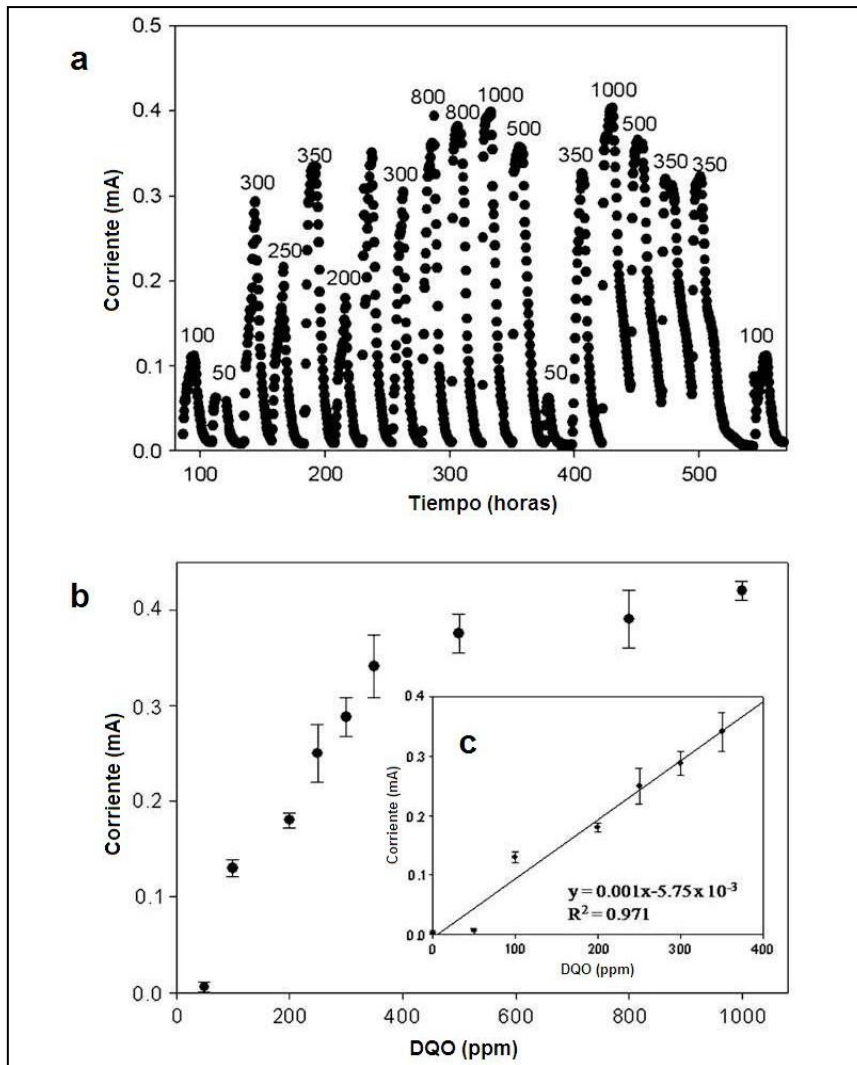


Figura 6.30 Respuesta a la concentración de DQO con una resistencia externa de 50Ω . a: Corriente generada bajo diferentes concentraciones de DQO; b: corriente en estado de equilibrio en relación con la DQO de entrada; c: Curva de calibración (Di Lorenzo y col., 2009).

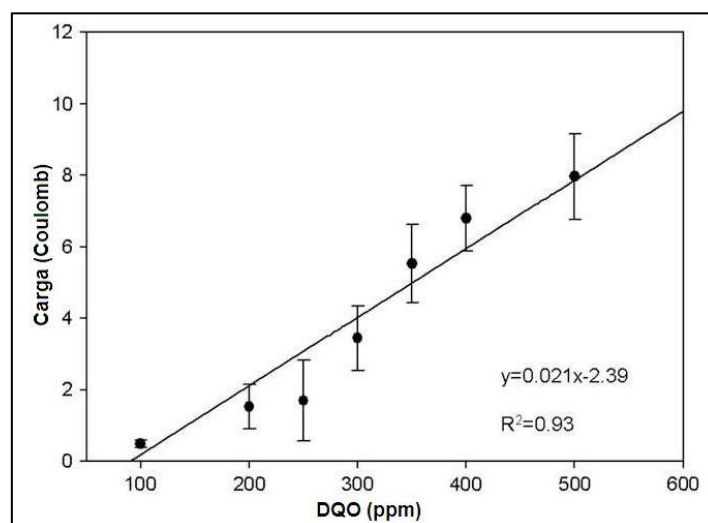


Figura 6.31 Relación entre la carga generada y la concentración de la DQO (Di Lorenzo y col., 2009)

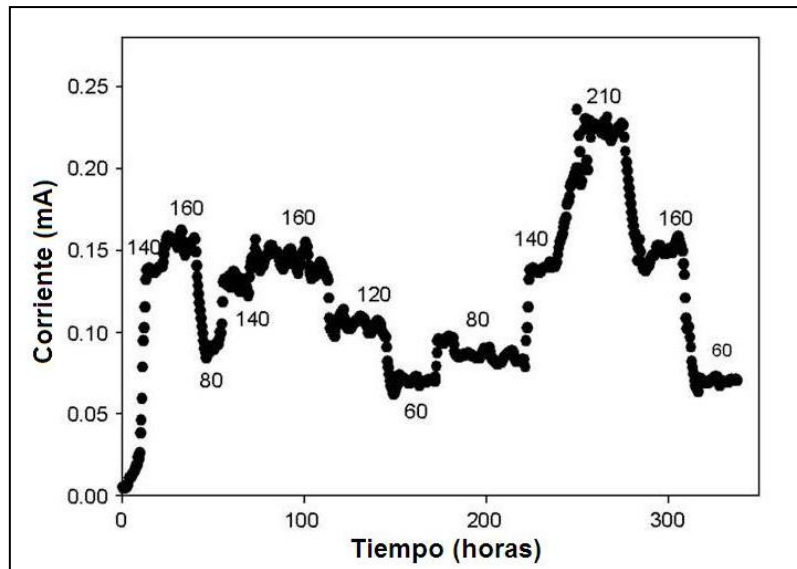


Figura 6.32 Reproducibilidad del biosensor de una CMB (Di Lorenzo y col., 2009)

6.3.2.4 Efecto del volumen del reactor en las celdas

El efecto del volumen del reactor en la respuesta del sistema se investigó debido a que se consideró una configuración de un nuevo reactor con un volumen 75% menor. De esta manera, para una tasa de alimentación de $0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$, el TRH (tiempo de retención hidráulico) se redujo a 27 min. La Figura 6.33 muestra la generación de corriente durante el período de enriquecimiento de la biopelícula del ánodo con bacterias electroquímicamente activas en el biosensor CMB de menor volumen. Las flechas indican los puntos de alimentación del reactor. Los datos son el promedio de dos reactores. Volumen del reactor: 12.6 cm^3 . Ánodo: tela de carbón. $R_{\text{ext}} = 50 \Omega$

El biosensor CMB de menor volumen requirió 400 horas para alcanzar un máximo estable. Los lotes adicionales de combustible durante las primeras 250 horas de enriquecimiento no causaron ningún aumento de corriente y por lo tanto no se muestran en la Figura 6.33. Siguiendo con el periodo de enriquecimiento, cuando los biosensores CMB fueron alimentados con ARS conteniendo DQO con 1,000 ppm sin inóculo, las corrientes pico obtenidas fueron de $0.12 \pm 0.009 \text{ mA}$.

Se investigó y se comparó la respuesta de las dos configuraciones de biosensor CMB a los cambios en la alimentación de DQO bajo una resistencia fija externa de 50Ω (Figura 6.34 a y b). Como se muestra, la respuesta dinámica del biosensor mejoró: El TRH inferior del sensor de menor volumen resultó en una respuesta mucho más rápida del sistema para un cambio hacia arriba, pero también para un cambio hacia abajo en la concentración de DQO. En particular, en el caso de un cambio hacia arriba, el sistema requirió sólo 40 minutos para llegar a una corriente estable, lo que contrasta con las 4 horas requeridas con el biosensor CMB de mayor volumen. Cuando la concentración de DQO se redujo de 250 a 70 ppm, en general, el tiempo de respuesta fue más largo, pero aún el reactor pequeño fue más rápido en responder con 2 horas en comparación con las 8.8 horas requeridas por el reactor de mayor volumen. La tasa de alimentación de combustible fue de $0.46 \text{ cm}^3/\text{min}$ y la resistencia externa fue de 50Ω .

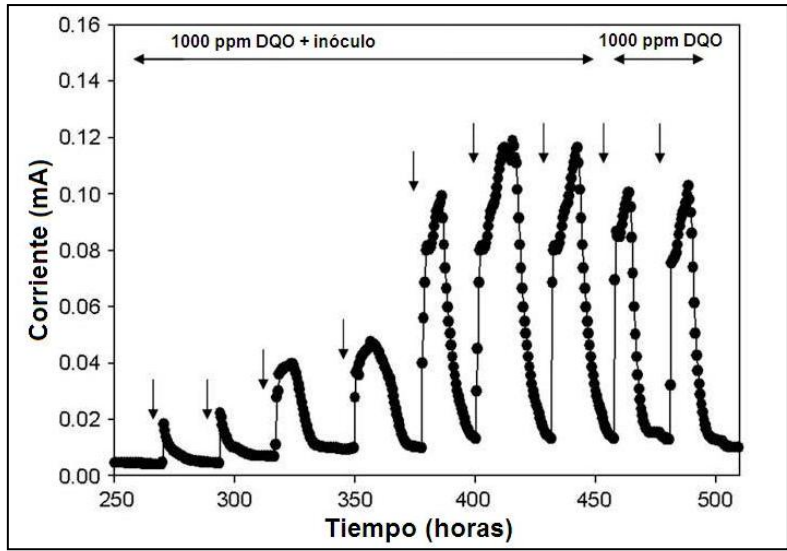


Figura 6.33 Variación de la corriente con el tiempo para el enriquecimiento de bacterias en el biosensor CMB de menor volumen (Di Lorenzo y col., 2009)

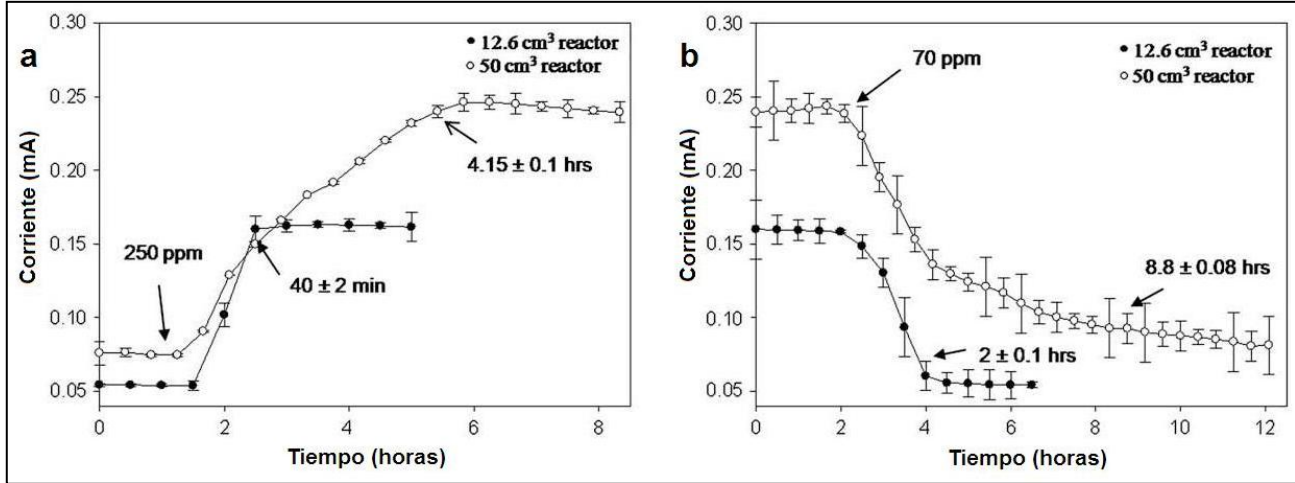


Figura 6.34 Influencia del volumen de los reactores en el tiempo de respuesta de los biosensores a los cambios por etapas en la concentración de DQO (Di Lorenzo y col., 2009)

La Tabla 6.5 reporta el desempeño del biosensor CMB de menor volumen en términos de la remoción de DQO y la eficiencia coulombica y los compara con el biosensor CMB de mayor volumen. Como se muestra, el espacio reducido entre los electrodos en el biosensor CMB de menor volumen resultó en un mejor rendimiento con una eficiencia coulombica del 56% que contrasta con la eficiencia coulombica del 6% obtenida con el reactor de 50 cm³. La DQO del efluente se fijó en 100 ppm.

Los biosensores CMB exhibieron una muy buena estabilidad durante un período de 7 meses. La Figura 6.35 muestra el valor de las corrientes en estado estacionario obtenidas mediante una entrada

fija de DQO de 200 ppm durante el período de 7 meses. Después del sexto mes de funcionamiento se observó un depósito blanco en el cátodo. Sin embargo, como se muestra en la Figura 6.35, esto afectó el rendimiento del sistema de forma marginal. La composición del depósito no se analizó, aunque se piensa que fue un carbonato. Los datos son el promedio de los resultados de los dos reactores.

Tabla 6.5 Comparación de los biosensores CMB en relación con el volumen del reactor (Di Lorenzo y col., 2009)

Volumen del Reactor (cm ³)	Corriente (mA)	TRH (min)	Tasa de remoción de DQO (mg DQO/h)	Eficiencia coulombica (%)
12.6	0.12 ± 0.01	27	0.06 ± 0.007	56 ± 4
50	0.14 ± 0.007	108.7	1.2 ± 0.2	6 ± 0.5

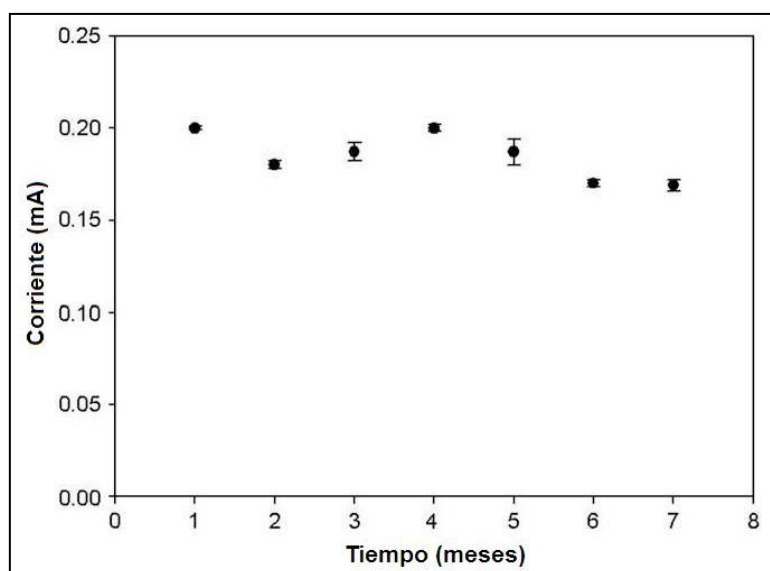


Figura 6.35 Estabilidad a largo plazo del biosensor CMB (Di Lorenzo y col., 2009)

6.3.2.5 Funcionamiento del biosensor CMB con agua residual real

Para investigar la aplicabilidad del biosensor CMB en una planta de tratamiento de aguas residuales, se utilizó agua residual real para probar la relación entre la generación de corriente y la concentración de DQO. Este estudio se realizó con el biosensor CMB de menor volumen debido a que obtuvo el mejor rendimiento en términos de tiempo de respuesta y eficiencia coulombica cuando se utilizó ARS como combustible.

Los biosensores CMB fueron alimentados en modo continuo con varias soluciones de agua residual. La Figura 6.36 reporta la corriente de salida observada para una alimentación continua (caudal de 0.46 cm³/min) de agua residual. El sistema mostró una buena relación entre la concentración de

DQO y la corriente de salida, lo que demuestra la aplicabilidad de este sistema en plantas de tratamiento de agua. La DQO de las aguas residuales no diluidas fue de 175 ± 50 ppm. Las soluciones se realizaron utilizando agua del grifo. Las flechas indican las condiciones de estado estacionario obtenidas a una solución de agua residual particular, mientras que los números se refieren a los valores de entrada ó del influente de DQO expresados en ppm.

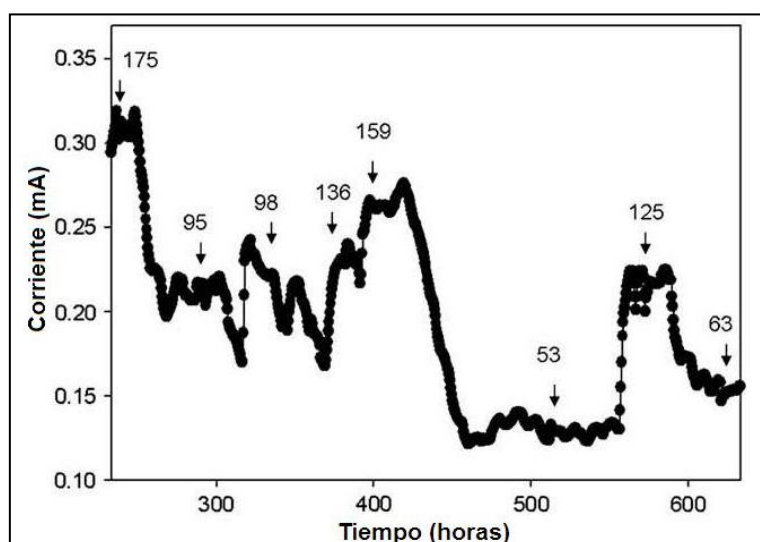


Figura 6.36 Variación de la corriente en el biosensor CMB en respuesta a diferentes soluciones de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales (Di Lorenzo y col., 2009)

Por otra parte, cuando se utilizaron soluciones de aguas residuales de concentración DQO desconocidas, el sistema dió buena correspondencia entre la DQO medida con método químico y el valor dado por el biosensor (Tabla 6.6). La DQO de las muestras se determinó por medio del método estándar descrito por Eaton y col. (2005) y por la alimentación de las muestras en el biosensor CMB para determinar su concentración de DQO.

Tabla 6.6 DQO medida con método químico y biosensor

Biosensor CMB	Método estándar
169 ± 9	175 ± 50
98.5 ± 2.1	100 ± 9
122 ± 1	120 ± 10
61.5 ± 0.9	60 ± 5

6.3.2.6 Efecto de la temperatura

Todos los trabajos realizados anteriormente con biosensores CMB se llevaron a cabo a temperaturas de 30°C o superiores. En este estudio, las pruebas se realizaron a temperatura ambiente, la cual fue de aproximadamente $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Las temperaturas del experimento fueron de 20 y 25°C, debido a que fue la temperatura más baja y la más alta respectivamente registradas en el laboratorio, éstas se compararon con una temperatura de 30° C. La Tabla 6.7 reporta las salidas de corriente promedio observadas para cada temperatura por dos CMB (volumen de 12.6 cm³, ánodo de tela de carbón) alimentados con agua residual real. Los porcentajes de remoción de DQO y eficiencia coulombica también fueron comparados. No es sorprendente que una temperatura de funcionamiento de 30°C haya dado el valor más alto de corriente (0.55 mA) con un aumento de aproximadamente el 72% en comparación con los 25°C (0.32 mA) y de 96% en comparación con los 20°C (0.28 mA). La remoción de DQO mejoró también a temperaturas más altas. Las temperaturas más altas aceleran la hidrólisis de compuestos complejos y explican la disminución de los tiempos de respuesta al aumentar la temperatura. Como se muestra en la Tabla 6.7, al reducir la temperatura de los 25 a 20°C no se observaron variaciones sustanciales en el tiempo de respuesta y eficiencia coulombica.

Tabla 6.7 Efecto de la temperatura en un biosensor CMB

Temperatura (°C)	Corriente (mA)	Remoción de DQO (%)	Eficiencia coulombica (%)	Tiempo de respuesta (min)
20	0.28 ± 0.008	24 ± 6	10 ± 1.2	41 ± 2
25	0.32 ± 0.007	28.7 ± 10	11 ± 0.8	40 ± 4
30	0.55 ± 0.008	46 ± 8	28 ± 0.5	31 ± 2

6.3.3 Conclusiones del estudio con CMB

Este estudio demostró que una CMB con un cátodo de aire tiene el potencial para ser utilizado como un biosensor para carbono orgánico. La optimización del biosensor se llevó a cabo considerando al ARS como combustible. Posteriormente, el biosensor optimizado se probó con aguas residuales reales.

- Con una resistencia externa de 50 Ω, el rango de medición de la CMB fue mayor en comparación con biosensores CMB de dos cámaras reportadas previamente.
- La repetición de mediciones realizadas al mismo tiempo fueron altamente reproducibles (0.53% de coeficiente de variación) y las mediciones realizadas durante tiempo prolongado (aproximadamente 7 meses) también fueron estables, con una variación total de sólo el 15%.
- Cuando el volumen del reactor se redujo de 50 cm³ a 12.6 cm³, se observó un tiempo de respuesta ajustado al TRH (40 min). El reactor pequeño también proporcionó eficiencias coulombicas nueve veces más altas que el reactor grande con ánodo de tela de carbón.

- Cuando se utilizaron aguas residuales reales en el biosensor se obtuvo una buena correlación entre la concentración de DQO y la corriente de salida, lo que demuestra la aplicabilidad de este sistema en el tratamiento de aguas residuales.
- Aunque las condiciones de funcionamiento óptimo se observaron a 30°C, este estudio también demostró un buen rendimiento del sistema cuando se operó a temperatura ambiente (~20°C), lo que permitiría una mayor simplicidad del sistema y reducir los costos operativos.

7. Conclusiones

Las CMB son en realidad bioreactores que albergan la oxidación de un combustible orgánico catalizada por microorganismos. Existen distintos diseños que se adaptan a la naturaleza del combustible y a la finalidad del ensayo. Las CMB más sencillas utilizadas a escala de laboratorio, suelen ser de dos compartimentos y tener forma de H, pero también las hay planas y tubulares. No obstante, la búsqueda de reducción de costos y la simplicidad del diseño, aconsejan el uso de una CMB de un compartimento único con exposición directa del cátodo al aire. Todos estos diseños permiten tratamientos tanto en condiciones de estanqueidad como en continuo. Otro elemento importante en el diseño de estos dispositivos es el material de los electrodos. Aunque el platino produce los mejores resultados, su elevado costo hace que el grafito, en cualquiera de sus variantes (barra, papel, fieltro, polvo), se haya convertido en el material de referencia. Comparar la eficiencia entre diversas CMB es complicado, dada la variabilidad de diseños y materiales empleados. No obstante, se ha llegado al consenso de utilizar como magnitud la potencia por unidad de superficie de electrodo (W/m^2) o, en algunos casos, por unidad de volumen de la cámara anódica (W/m^3). Desde el descubrimiento de los microorganismos electrogénicos, la eficiencia de las CMB ha aumentado. El desarrollo de esta tecnología está todavía en su infancia, por lo que el diseño de dispositivos con menor resistencia interna, el ensayo de nuevos materiales conductores, y el empleo de cepas bacterianas electrogénicas óptimas llevará a las CMB a una mayor potencia.

Los combustibles que pueden utilizarse para alimentar estas CMB van desde soluciones de compuestos sencillos como el acetato o la glucosa a mezclas complejas ricas en materia orgánica como los residuos vegetales o las presentes en las aguas residuales. Las CMB sedimentarias, aunque no pueden competir en potencia con las diseñadas para operar como bioreactor, en cambio sí presentan aplicaciones interesantes, ya que son los propios ciclos naturales del carbono los que proporcionan *in situ* una fuente de combustible inagotable. De este modo, es factible alimentar pequeños dispositivos situados en lugares remotos como fondos marinos o lagos.

Es importante resaltar que el desarrollo de todas estas tecnologías está todavía en sus comienzos, y que los diseños deben ser estudiados y optimizados para ofrecer resultados competitivos. Utilizar microorganismos con fines energéticos deberá convertirse en un desafío científico que muestre el compromiso de la ciencia en general por intentar resolver la crisis energética global presente y futura.

Gran parte de esta tesis está dedicada a las aplicaciones más recientes que se encuentran en funcionamiento y aunque el desarrollo de las CMB ha sido exponencial en el último lustro, probablemente esta información sea obsoleta en poco tiempo. En cuanto a los demás temas (definición y caracterización de las CMB) son de gran utilidad para iniciarse en el estudio y desarrollo de las CMB en México.

Referencias bibliográficas

- Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, H., Boon, N. y Verstraete, W. 2006a. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40: 3388–3394.
- Aelterman, P., Rabaey, K., Caluwaert, P. y Verstraete, W. 2006b. Microbial fuel cell for wastewater treatment. *Water Sci. Technol.* 54:9-15.
- Alberty, R. 2003. *Thermodynamics of Biochemical Reactions*; John Wiley & Sons: Nueva York, EEUU.
- Allen, R. y Bennetto, H. 1993. Microbial fuel cells: electricity production from carbohydrates. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 39:27-40.
- Alzate-Gaviria, L., Sebastian, P. y Perez-Hernandez, L. 2007. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. *Int. J. Hydrogen Energy.* 32: 3141-3146.
- Alzate-Gaviria, L., Fuentes-Albarrán C., Álvarez-Gallegos A. y Sebastian P. 2008. Generación de electricidad a partir de una celda microbiana de combustible microbiana tipo pem. *Interciencia.* 33: 503-509.
- Amend, P. y Shock, L. 2001. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25:175-243.
- Angenent, L., Karim, K., AL-Dahhan, M., Wrenn, B. y Domingues-Espinosa, R. 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends Biotechnol.* 22:477-485.
- APHA. 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* 18th ed. APHA, AWWA, WEF. 1170 pp. Washington, DC, EEUU.
- Aston, W. y Turner, A. 1984. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews.* 1:89-120.
- Bard, J., Parsons, R. y Jordan, J. 1985. *Standard Potentials in Aqueous Solution*; Marcel Dekker: Nueva York, EEUU.
- Bard, J. y Faulkner, R. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Nueva York, EEUU.
- Barton C., Gallaway, J. y Atanassov, P., 2004. *Chem. Rev.* 104 (10): 4867-4886.

- Bond, R., Holmes, E., Tender, L. y Lovley, D. 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Scienc.* 295: 483-485.
- Bond, R. y Lovley, D. 2003. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1548–1555.
- Bond, R. y Lovley, D. 2005. Evidence for Involvement of an Electron Shuttle in Electricity Generation by *Geothrix fermentans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:2186–2189.
- Borole, A., O'Neill, H., Tsouris, C. y Cesar, A. 2008. Microbial fuel cell operating at low pH using the acidophile acidiphilium cryptum. *Biotechnol. Lett.* 30:136-1372.
- Buchi. 1999. Portable fuel cells. In: Proceedings of International Conference. [chapter 7]. Luzern, U. Bossel, Switzerland.
- Bullen, A., Arnot, T., Lakeman, J. y Walsh, F. 2006. Biofuel cells and their development. *Biosens. Bioelectron.* 21:2015-2045.
- Calabrese Barton, S., Gallaway, J. y Atanassov, P. 2004. Enzymatic Biofuel Cells for Implantable and Microscale Devices. *Chemical Reviews*, 104(10), 4867-4886.
- Carmona-Martínez, A., Fernández-Ortiz, J. y Poggi-Varaldo, H. 2006. Caracterización de una celda de combustible microbiana para el tratamiento de efluentes contaminados. Grupo de Biotecnología Ambiental y Procesos Anaerobios, Dept. Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. México D.F.
- Chang, I., Jang, J., Gil, G., Kim, M., Kim, H., Cho, B. y Kim, B. 2004. Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosensors & Bioelectronics* 19:607-613.
- Chang, I., Moon, H., Jang, J. y Kim, B. 2005. Improvement of a microbial fuel cell performance as BOD sensor using respiratory inhibitors. *Biosensors&Bioelectronics.* 20:1856-1859.
- Chaudhuri, S. y Lovley, D. 2003. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nat. Biotechnol.* 21:122-1232.
- Cheng, S., Liu, H. y Logan, B. 2006a. Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40:364-369.

- Cheng, S., Liu, H. y Logan, B. 2006b. Increased power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. *Environ. Sci. Technol.* 40:2426-2432.
- Cohen, B. 1931. The bacterial culture as an electrical half-cell. *J. Bacteriol.* 21:18-19.
- Cooney, M., Roschi, E., Marison, I., Comninellis, C. y vonStockar, U. 1996. Physiologic studies with the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans*: evaluation for use in a biofuel cell. *Enzyme Microb. Technol.* 18(5):358–365.
- Davis, F. y Higson, S. 2006. Biofuel cells. Recent advances and applications. *Biosensors and Bioelectronics*.22:1224-1235
- Di Lorenzo, M., Curtis, T., Head, I. y Scott, K. 2009. A single-chamber microbial fuel cell as a biosensor for wastewaters. *Water Research.* 43:3145-3154.
- Du, Z., Li, H. y Gu, T. 2007. A estate of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Adv.* 25:464-482.
- Eaton, A., Greenberg, A. y Clesceri, S. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington DC, EEUU.
- Fan, Y., Hu, H. y Liu, H. 2007. Enhanced coulombic efficiency and powerdensityof air-cathode microbialfuel cellswithan improved cell configuration. *Journal of Power Sources.* 171:348-354.
- Feng, Y., Wang, X., Logan, B. y Lee, H. 2008. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *App. Microbiol. Biotechnol.* 78:873-880.
- Franks, A., Nevin, K., Jia, H., Izallalen, M., Woodard, T.L. y Lovley, D. 2009. Novel strategy for three-dimensional real-time imaging of microbial fuel cell communities: monitoring the inhibitory effects of proton accumulation within the anode biofilm. *Energ. Environ. Sci.* 2:113–119.
- Franks, A., Nevin, K., Glaven, R. y Lovley, D. 2010. Microtoming Coupled to Microarray Analysis to Evaluate the Spatial Metabolic Status of *Geobacter sulfurreducens* Biofilms. *ISME J.*
- Freguia, S., Rabaey, K., Yuan, Z. y Keller, J. 2008. Syntrophic processes drive the conversion of glucose in microbial fuel cell anodes. *Environ. Sci. Technol.* 42:7937-7943.
- Freguia, S., Teh, E., Boon, N., Leung, K., Keller, J. y Rabaey, K. 2009. Microbial fuel cells operating on mixed fatty acids. *Bioresour. Technol.* 101:1233-1238.

- Froelich, P., Klinkhammer, G., Bender, L., Luedtke, N., Heath, G., Cullen, D., Dauphin, P., Hammond, D., Hartman, B. y Maynard, V. 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic; suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 43:1075-1090
- Galvani, L., 1791. De bononiensi scientiarum et artium instituto atque academia Comentarrii 7:363-418.
- Gálvez, A., Greenman, J. y Ieropoulos, I. 2009. Treatment with microbial fuel cells; scale-up through plurality. *Bioresour. Technol.* 100:5085-5091.
- Gil, G., Chang, I., Kim, B., Kim, M., Jang, J., Park, H. y Kim, H., 2003. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics* 18:327-334.
- Glen, D. 1994. Ecology of slugs in cereals in relation to crop damage and control. In: Leather SR, Walters KFA, Mills NJ, y col., editors. Populations, and patterns in ecology, intercept.
- Glover, C. 1998. Reinvasion of cleared areas by the slug *Deroceras reticulatum*. Project report for MSc in crop protection. University of Bristol. Reino Unido
- Gorby, Y., Yanina, S., McLean, J., Rosso, K., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T., Chang, I., Kim, B., Kim K., Culley, D., Reed, S., Romine, M., Saffarini, D., Hill, E., Shi, L., Elias, D., Kennedy, D., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishii, S., Logan, B., Nealson, K, y Fredrickson, J. 2006 Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103:11358-11363.
- Greenman, J., Holland, Kelly, Kendall, McFarland y Melhuish., C. 2003. Towards robot autonomy in the natural world: a robot in predator's clothing. *Mechatronics.* 13:195-228.
- Gregory, K., Bond, D. y Lovley, D. 2004. Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. *Environ Microbiol.* 6:596-604.
- Gregory, K. y Lovley, D. 2005. Remediation and recovery of uranium from contaminated subsurfaces environments with electrodes. *Environ. Sci. Technol.* 39:8943-8947.
- Grove, W. 1839. On Voltaic Series and the Combination of Gases by Platinum. *The London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of Science.* Ser. 3, Vol. 14, pp 127-130, 1839.
- Habermann, W. y Pommer, E. 1991. Biological fuel cells with sulphide storage capacity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 35:128-133.

Hau, H. y Gralnick, J. 2007. Ecology and biotechnology of the genus *Shewanella*. *Annu. Rev. Microbiol.* 61:237-258.

He, Z., Minteer, S. y Angenent, L. 2005. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39:5262-5267.

He, Z., Huang, Y., Manohar, A. y Mansfeld, F. 2008. Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an aircathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry.* 74:78-82.

Heilmann, J. y Logan, B. 2006. Production of electricity from proteins using a single chamber microbial fuel cell. *Water Env. Res.* 78:531-537.

Higgins, I. y Hill, H. 1985. *Essays in Biochemistry*. Eds. P.N. Campbell and R.D. Marshall, Academic Press, 21:119-145.

Holmes, D., Nicoll, J., Bond, D. y Lovley, D. 2004a. Potential role of a novel psychrotolerant *Geobacteraceae*, *Geopsychrobacter electrodiphilus* gen. nov., sp. nov., in electricity production by the marine sediment fuel cell. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6023-6030.

Holmes, D., Bond, D, O'Neill, Reimers, Tender, L. y Lovley, D. 2004b. Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Microb. Ecol.* 48:178-190.

Hoogers, G. 2003. Ed. *Fuel Cell Technology Handbook*; CRC Press: Boca Raton, Florida, EEUU.

Hyun, C., Tamiya, E., Takeuchi, T., Karube, I. y Inoue, N., 1993. Novel BOD sensor based on bacterial luminescence. *Biotechnology and Bioengineering.* 41:1107-1111.

Ieropoulos, I., Greenman, J. y Melhuish C. 2003a. Imitating Metabolism: Energy Autonomy in Biologically Inspired Robots. In *2003 2nd International Symposium on Imitation in Animals and Artifacts (AISB '03)*, pages 191-194. SSAISB. Brighton, Reino Unido.

Ieropoulos, I., Melhuish, C. y Greenman, J. 2003b. Artificial Metabolism: Towards True Energetic Autonomy in Artificial Life. In *Advances in Artificial Life, 7th European Conference in Artificial Life (ECAL 2003)*, pages 792-799. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Alemania.

Ieropolous, I., Melhuish, C. y Greenman, J. 2004. Energetically autonomous robots, Proceedings of the Eighth Intelligent Autonomous Systems Conference (IAS-8), pp. 128-135. Amsterdam, Paises Bajos.

Ieropoulos, I., Melhuish, C., Greenman, J. y Horsfield, I. 2005a. Artificial symbiosis: Towards a robot-microbe partnership. In *Proceedings of Towards Autonomous Robotic Systems (TAROS '05) Conference*, pages 89-93.

Ieropoulos, I., Melhuish, C., Greenman, J. y Horsfield, I. 2005b. Artificial symbiosis: Towards a robot-microbepartnership. In Proceedings of Towards Autonomous Robotic Systems (TAROS '05) Conference, pages 89-93.

Ieropoulos, I., Greenman, J., Melhuish, C. y Hart, J. 2005c. Comparison of three different types of microbial fuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*. 37(2):238-245.

Jang, J., Barford, J., Lindawati, F. y Renneberg, R., 2004a. Application of biochemical oxygen demand (BOD) biosensor for optimization of biological carbon and nitrogen removal from synthetic wastewater in a sequencing batch reactor system. *Biosensors & Bioelectronics*. 19:805-812.

Jang, J., Pham, T., Chang, I., Khan, K., Moon, Cho y Kim, B. 2004b. Construction and operation of a novel mediator- and membrane –less microbial fuel cell. *Proc. Biochem*. 39:1007-1012.

Kang, K., Jang, J., Pham, T., Moon, H., Chang, I., Kim, B., 2003. A microbial fuel cell with improved cathode reaction as a low biochemical oxygen demand. *Biotechnology Letters*. 25: 1357-1361.

Kendall, K. y Prica, M. 1994.1st European Fuel Cell Forum. p.163-70. U. Bossel, Luzern, Switzerland

Kim, H., Hyun, M., Chang, I. y Kim, B. 1999. A microbial fuel Cell type lactate biosensor using metal reducing bacterium, *Shewanella putrifaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol*. 9:365-367.

Kim y Kwon. 1999. Biochemical oxygen demand sensor using *Serratia marcescens* LSY 4. *Biosensors & Bioelectronics*. 14:1-7.

Kim, N., Choi, Y., Jung, S. y Kim, S. 2000. Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing. *Proteus vulgaris*. *Biotechnol. Bioeng*. 70:109-114.

Kim, H., Park, H., Hyun, M., Chang, I., Kim, M. y Kim, B. 2002a. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*. 30,2:145-152.

Kim, J., Cho, J., Lee, J., Hahm, K., Park, D. y Kim, S., 2002b. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 98:753-764.

Kim, B., Chang, I., Gil, G., Park, H. y Kim, H., 2003a. Novel BOD sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnology Letters*. 25:541-545.

- Kim, M., Youn, S., Shin, S., Jang, J., Han, S., Hyun, M., Gadd, G. y Kim, H., 2003b. Practical field application of a novel BOD monitoring system. *Journal of Environmental Monitoring*. 5:640-643.
- Kim, B., Park, H., Kim, H., Kim, G., Chang, I., Lee, J. y Phung, N. 2004. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell. *App. Microbiol. and Biotechnol.* 63:672-681
- Kim, J., Min, B. y Logan, B. 2005. Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68:23-30.
- Kumlanghan, A., Liu, J., Thavarungkul, P., Kanatharana, P. y Mattiasson, B., 2007. Microbial fuel cell-based biosensor for fast analysis of biodegradable organic matter. *Biosensors & Bioelectronics*. 22:2939-2944.
- Lanthier, M., Gregory, K. y Lovley, D. 2008. Growth with high planktonic biomass in *Shewanella oneidensis* fuel cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 278:29-35.
- Larminie, J. y Dicks, A. 2000. Fuel Cell Systems Explained; John Wiley & Sons. Chichester Reino Unido.
- Lee, J., Phung, I., Chang, B. Kim, H. y Sung, H. 2003. Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. *FEMS Microbiol. Lett.* 223: 185-191.
- Lee, H., Parameswaran, P., Kato-Marcus, A., Torres, C. y Rittmann, B. 2008. Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Water Res.* 42:1501-1510.
- Lee, H., Torres, C. y Rittmann, B. 2009. Effects of Substrate Diffusion and Anode Potential on Kinetic Parameters for Anode-Respiring Bacteria. *Environ. Scienc. Technol.* 43:7571-7577.
- Liu, J. y Mattiasson, B. 2002. Microbial BOD sensors for wastewater analysis. *Water Research*. 36: 3786-3802.
- Liu, H. y Logan, B. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*. 38, 4040–4046.
- Liu, H., Ramnarayanan, R. y Logan, B. 2004. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 38:2281-2285.
- Liu, H., Cheng, S. y Logan, B. 2005a. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39:658-662

- Liu, H., Cheng, S. y Logan, B. 2005b. Power generation in fed-batch microbial fuel cell as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environ. Sci. Technol.* 39:5488-5493.
- Logan, B. 2004. Extracting hydrogen and electricity from renewable resources. *Env. Sci. Technol.* 38: 160A-167^a
- Logan, B., Murano, C., Scott, K., Gray, N. y Head, I. 2005a. Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell.. *Water Research.* 39: 942-952
- Logan, B., Cassandro, M., Scott, K., Gray, N. y Head, I., 2005b. Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell. *Water Research*, 39:942-952.
- Logan, B. y Regan, J. 2006a. Microbial fuel cells: Challenges and applications. *Environ. Sci. Technol.* 40: 5172-5180.
- Logan, B. y Regan, J. 2006b. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *Trends Microbiol.* 14:512-518.
- Logan, B. Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W. y Rabaey, K. 2006c. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ Sci Technol.* 40:5181-92.
- Logan, B., Cheng, S., Watson, V. y Estadt, G. 2007. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air- cathode microbial fuel cells. *Env. Sci. Technol.* 41:3341-3346.
- Logan, B. 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 7: 375-381.
- Lovley, D. y Phillips, E. 1998. Novel of microbial energy metabolism: Organism carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron and manganese. *Appl. Env. Microbiol.* 54:1472-1480.
- Lovley, D. 2006. Microbial energizers: Fuel cells that keep on going. *Microbe*, 1:323-329.
- Lovley, D. 2008. Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more. *Geobiol.* 6: 225-231.
- Lovley, D. y Nevin, K. 2008. "Chapter 23: Electricity production with electricigens", *In J. Wall et al. (ed.), Bioenergy. ASM Press, Washington, DC.:* 295-306..
- Lowy, D., Tender, L., Zeikus, J., Park, D. y Lovley, D. 2006. "Harvesting energy from the marine sediment-water interface II - Kinetic activity of anode materials", *Biosensors and Bioelectronics*, 2111: 2058-2063.

- Lu, N., Zhou, S., Zhuang, L., Zhang, J. y Ni, J. 2009. Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell technology. *Biochem. Eng. J.* 43: 246-251.
- Luo, H., Liu, G., Zhang, R., Jin, S. 2009. Phenol degradation in microbial fuel cells. *Chem. Eng. J.* 147: 259-264.
- Marsili, E., Baron, D., Shikhare, I., Coursolle, D., Gralnick, J. y Bond, D. 2008. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proc Natl Acad Sci EEUU.* 105:3968-3973.
- McFarland, D. y Boesser, T. 1993. In: Intelligent behavior in animals and robots. Cambridge, MA: MIT Press; p. 305.
- McFarland, D. 1995. Autonomy and self-sufficiency in robots. In: Steels L, Brooks R, editors. The artificial life route to artificial intelligence Building situated embodied agents. New Haven: Lawrence Erlbaum Associates; p. 187-213.
- McFarland, D. y Spier, E. 1997. Basic cycles, utility and opportunism in self-sufficient robots. *J. Rob Auton Sys.* 20: 179-190.
- McFarland, D. 1999. Animal behaviour. 3rd ed. Reading, MA: Addison-Wesley; p. 580.
- Melhuish, C., Ieropoulos, I. y Greenman, J. 2006. Artificial gills for robots: underwater energy autonomy with MFCs. In Proceedings of the TAROS'06 conference, 4th-6th September, University of Surrey, Guildford, Reino Unido, pp. 118-125, ISBN: 0-9553879-0-6.
- Metcalf y Eddy. 2003. *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. 4a ed. Mc Graw-Hill. Madrid, Espana. 1485 pp.
- Méthé, B., Nelson, K., Eisen, J., Paulsen, I., Nelson, W., Heidelberg, J., Wu, D., Wu, M., Ward, N., Beanan, M., Dodson, R., Madupu, R., Brinkac, L., Daugherty, S., DeBoy, R., Durkin, A., Gwinn, M., Kolonay, J., Sullivan, S., Zafar, N., White, O., Tran, B., Romero, C., Forberger, H., Weidman, J., Khouri, H., Feldblyum, T., Utterback, T., Van Aken, S., Lovley, D. y Fraser, C. 2002. Genome of *Geobacter sulfurreducens*: metal reduction in subsurface environments. *Science.* 302:1967-1969.
- Meyer, R., Larsen, L. y Revsbech, N. 2002. Microscale biosensor for measurement of volatile fatty acids in anoxic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1204-1210.
- Min, B. y Logan, B. 2004. Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology.* 38(21):5809-5814.

- Min, B., Cheng, S. y Logan, B. 2005. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Res.* 39:1675-1686.
- Minteer, S., Liaw, B. y Cooney, M. 2007. Enzyme-based biofuel cells. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 228-234
- Mitsos, A., Palou-Rivera, I. y Barton, P. 2004. Alternatives for micropower generation processes. *Ind. Eng. Chem. Res.* 43(1):74-84
- Moon, H., Chang, I., Kang, K., Jang, J. y Kim, B. 2004. Improving the dynamic response of a mediator-less microbial fuel cell as a biochemical oxygen demand (BOD) sensor. *Biotechnology Letters.* 26: 1717-1721.
- Morris, J. y Jin, S. 2008. Feasibility of using microbial fuel cell technology for bioremediation of hydrocarbons in groundwater. *J. Environm. Sci. Health A: Tox./Hazard. Subst. Environm. Eng.* 43: 18-23.
- Nevin, K. y Lovley, D. 2002. Mechanisms for Fe(III) oxide reduction in sedimentary environments *Geomicrobiol. J.* 19:141-159.
- Nevin, K., Richter, H., Covalla, S., Johnson, J., Woodard, T., Orloff, A., Jia, H., Zhang, M. y Lovley, D. 2008. Power output and coulombic efficiencies from biofilms of *Geobacter sulfurreducens* comparable to mixed community microbial fuel cells. *Environ. Microbiol.* 10:2505-2514.
- Nevin, K., Kim, B., Glaven, R.H., Johnson, J., Woodard, T., Methe, B., DiDonato, R., Covalla, S., Franks, A., Liu, A. y Lovley, D. 2009. Anode biofilm transcriptomics reveals outer surface components essential for high density current production in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. 20; 4(5)
- Newman, J. 1973. *Electrochemical Systems*. Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ, EEUU.
- Niessen, J., Schroder, U. y Scholz, F. 2004. Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation - a bacterial fuel cell operating on starch. *Electrochem. Commun.* 6:955-958.
- Oh, S., Min, B. y Logan, B. 2004. Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 38:4900-4904.
- Oh, S. y Logan, B. E. 2006. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70:162-169.
- Oh, S. y Logan, B. 2007. Voltage reversal during microbial fuel cell stack operation. *Power Sources.* 167:11-17.

- Palmore, G., Whitesides, G., 1994. Microbial and enzymatic biofuel cells. In: Himmel, E. (Ed.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, vol. 566. *American Chemical Society*. 271-290.
- Park, D., y Zeikus, J. 1999. Utilization of electrically reduced neutral red by *Actinobacillus succinogenes*: physiological function of neutral red in membrane-driven fumarate reduction and energy conservation. *J. Bacteriol.* 181: 2403-2410.
- Park, D., Laivenieks, M., Guettler, M., Jain, M. y Zeikus, J. 1999. Microbial utilization of electrically reduced neutral red as the sole electron donor for growth and metabolite production. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2912-2917.
- Park, D. y Zeikus, J., 2000. Electricity Generation in Microbial Fuel Cells Using Neutral Red as an Electronophore. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(4):1292-1297
- Park, D., Kim, S., Shin, I. y Jeong, Y. 2000. Electricity production in biofuel cell using modified graphite electrode with Neutral Red. *Biotechnol. Lett.* 22(16),1301-1304
- Park, H., Kim, B., Kim, H., Kim, H., Kim, G., Kim, M., Chang, I., Park, Y. y Chang, H. 2001. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe.* 7:297-306.
- Park, D. y Zeikus, J. 2003. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnol. Bioeng.* 81: 348-355.
- Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L. y Vanbroekhoven, K. 2009. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresour. Technol.* 101:1533-1543.
- Pasco, N., Baronian, K., Jeffries, C., Webber, J. y Hay, J. 2004. MICREDOX(R) – development of a ferricyanide-mediated rapid biochemical oxygen demand method using an immobilized *Proteus vulgaris* biocomponent. *Biosensors & Bioelectronics.* 20(3):524-532.
- Patil, S., Surakasi, V., Koul, S., Ijmulwar, S., Vivek, A., Shouche, Y. y Kapadnis, B. 2009. Electricity generation using chocolate industry wastewater and its treatment in activated sludge based microbial fuel cell and analysis of developed microbial community in the anode chamber. *Bioresour. Technol.* 100:5132-5139.
- Pham, T., Rabaey, K., Aelterman, P., Clauwaert, P., Schampelaire, L., Boon, N. y Verstraete, W. 2006. Microbial fuel cells in relation to conventional anaerobic digestion technology. *Eng. Life Sci.* 6:285-292.
- Pham, T., Boon, N., Aelterman, P., Clauwaert, P., De Schampelaire, L., Vanhaecke, L., De Maeyer, K., Hofte, M., Verstraete, W. y Rabaey, K. 2008. Metabolites produced by *Pseudomonas sp.* enable a

Gram-positive bacterium to achieve extracellular electron transfer. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77: 1119-1129.

Phung, N., Lee, J., Kang, K., Chang, I., Gadd, G. y Kim, B. 2004. Analysis of microbial diversity in oligotrophic microbial fuel cells using 16S rDNA sequences. *FEMS Microb. Lett.* 233:77-82.

Poggi-Varaldo, Alzate-Gaviria, Nevarez- Morillon y Rinderknecht-Seijas. 2005. A side by side comparison of two systems of sequencing coupled reactors for anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. *Waste Manag. Res.* 23: 270-280.

Potter, M. 1910. On the difference of potential due to the vital activity of microorganisms. *Proc. Univ. Durham Phil. Soc.* 3: 245-249.

Potter, M. 1911. Electrical Effects Accompanying the Decomposition of Organic Compounds. *Proc. R. Soc. Lond.*, B84: 260-276.

Prasad, D., Sivaram, T., Berchmans, S. y Yegnaraman, V. 2006. Microbial fuel cell constructed with a microorganism isolated from sugar industry effluent. *J. Power sources.* 160:991-996

Prasad, D., Arun, S., Murugesan, M., Padmanaban, S., Satyanarayanan, R., Berchmans, S. y Yegnaraman, V. 2007. Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. *Biosen. Bioelectron.* 22:2604-2610.

Rabaey, K., Lissens, G., Siciliano, S. y Verstraete, W. 2003. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnol. Lett.* 25:1531-1535.

Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S., Verhaege, M. y Verstraete, W. 2004. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:5373-5382.

Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelterman, P. y Verstraete, W. 2005a. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ. Sci. Technol.* 39:8077-8082.

Rabaey, K., Boon, N., Hofte, M. y Verstraete, W. 2005b. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 39:3401-3408.

Rabaey, K., Ossieur, W., Verhaege, M. y Verstraete, W. 2005c. Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Sci. Technol.* 52:515-523.

Rabaey, K. y Verstraete, W. 2005d. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends Biotechnol.* 23:291-298.

Reguera, G., McCarthy, K., Mehta, T. y Nicoll, J. 2005. *Biotechnol.* 26:450-459.

- Reimers, C., Tender, L., Fertig, S. y Wang, W. 2001. Harvesting energy from the marine sediment-water interface. *Environ. Sci. Technol.* 35:192-195.
- Reimers, C., Girguis, P., Stecher III, H., Tender, L., Ryckelynck, N. y Whaling, P. 2006. Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep. *Geobiology.* 4:123-136.
- Ren, Z., Steinberg, L. y Regan, J. 2008. Electricity production and microbial biofilm characterization in cellulose-fed microbial fuel cells. *Water Sci. Technol.* 58:617-622.
- Riedel, K., Renneberg, R., Kuhn, M. y Scheller, F. 1988. A fast estimation of biochemical oxygen demand using microbial sensors. *Applied and Environmental Microbiology* 28:316-318.
- Riedel, K., Lehmann, K., Tag, K., Renneberg, R. y Kunze, G. 1998. *Arxula Adeninivorans* based sensor for the estimation of BOD. *Analytical Letters.* 31(1):1-12.
- Ringeisen, B., Henderson, E., Wu, P., Pietron, J., Ray, R., Little, B., Biffinger, J. y Jones-Meehan, J. 2006. High Power Density from a Miniature Microbial Fuel Cell Using *Shewanella oneidensis* DSP10, *Environmental Science & Technology.* 40,8:2629-2634
- Risso, C., Sun, J., Zhuang, K. y Mahadevan, R, *Microbiol. Technol.* 77: 689-697.
- Rittmann. 2006. Microbial ecology to manage processes in environmental biotechnology. *Trends Biotechnol.* 24:261-268.
- Rittmann, B., Torres, C. y Marcus, A. 2008a. Understanding the distinguishing features of a microbial fuel cell as a biomass-based renewable energy technology. In *Emerging Environmental Technologies*; Springer: Berlin, Alemania; pp.1-28.
- Rittmann, Krajmalnik-Brown, Halden. 2008b. Pre-genomic, genomic and post.genomic study of microbial communities involved in bioenergy. *Nature.* 6:604-612.
- Rodriguez-Mozes, S., Lopez de Alda, M. y Barcelo, D. 2006. Biosensors as useful tools for environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 386:1025-1041.
- Rosenbaum, M., Schroder, U. y Scholz, F. 2005. In situ electrooxidation of photobiological hydrogen in a photobioelectrochemical fuel cell based on *Rhodobacter sphaeroides*. *Environ. Sci. Technol.* 39:6328-6333.
- Rozendal, R., Hamelers, H. y Buisman. 2006. Effects of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell performance. *Env. Sci. Technol.* 40: 5206-5211.
- Rozendal, R., Hamelers, H., Rabaey, K., Keller, J. y Buisman, C. 2008. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trend. Biotechnol.* 26:450-459

- Schroder, U., Niessen, J. y Scholz, F. 2003. A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 42:2880-2883.
- Sell, D., Krâmer, P. y Kreysa, G. 1989. Use of an oxygen gas diffusion cathode and a threedimensional packed bed anode in a bioelectrochemical fuel cell. *Appl. Microbiol. Technol.* 31: 211-213.
- Seon, Y., Lee, C., Park, D., Hwang, K. y Joe, Y. 1993. *Biotechnol. Lett.* 15(12):1275-1280.
- South A. 1992. Terrestrial slugs: biology, ecology, and control. Chapman & Hall. Londres, Inglaterra.
- Staniforth, J. y Kendall, K. 1998. Biogas powering a small tubular solid oxide fuel cell. *J Power Sources.* 71:275-7.
- Tan, T. y Wu, C. 1999. BOD sensors using multi-species living or thermally killed cells of a BIOSEED microbial culture. *Sensors and Actuators.* B54,252-260.
- Tanisho, S., Kamiya, N. y Wakao, N. 1989. Microbial fuel cell using. *Enterobacter aerogenes.* *Bioelectrochem. Bioenerg.* 21:25-32.
- Tender, L., Reimers, C., Stecher, H., Holmes, D., Bond, D., Lowy, D., Pilobello, K., Fertig, S. y Lovley, D. 2002. Harnessing microbially generated power on the seafloor. *Nature Biotechnology.* 20:821-825.
- Tender, L., Graya, S., Groveman, E., Lowy, D., Kauffman, P., Melhado, J., Tyce, R., Flynn, D., Petrecca, R. y Dobarro, J. 2008. The first demonstration of a microbial fuel cell as a viable power supply: Powering a meteorological buoy. *Journal of Power Sources.* 179: 571-575
- Thauer, R., Jungermann, K. y Decker, K. 1977. Energy conservation in *chemotrophic* anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41:100-180.
- Torres, C., Kato-Marcus, A. y Rittmann, B. 2007. Kinetics of consumption of fermentation products by anode-respiring bacteria. *App. Microbiol. Biotechnol.* 77:689-697.
- Torres, C., Kato-Marcus, A. y Rittmann, B. 2008a. Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* 100:872-881.
- Torres, C., Lee, H. y Rittmann, B. 2008b. Carbonate species as OH⁻ carriers for decreasing the pH gradient between cathode and anode in biological fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 42:8773-8777
- Tsujimura, S., Wadano, A., Kano, K. y Ikeda, T. 2001. *Enzyme Microb. Technol.* 29(4-5),225-231.

- Valdez-Vazquez, I., Ríos-Leal, E., Esparza-García, F., Cecchi, F. y Poggi-Varaldo, H. 2005. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime. *Int. J. Hydrogen Energy*. 30:1383-1391.
- Vielstich, W., Lamm, A. y Gasteiger, H. 2003. Handbook of Fuel Cells—Fundamentals Technology and Applications, Fundamentals and Survey of Systems, vol. 1. Wiley, Chichester, Reino Unido.
- Von Canstein, H., Ogawa, J., Shimizu, S. y Lloyd, J. 2007. Secretion of Flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 615-623.
- Walker, A. y Walker, J. 2006. Biological fuel cell and an application as a reserve power source. *J. Power Sourc.* 160:123-129.
- Webb B. 1999. The first mobile robot. In: Nehmzow U, Melhuish C, editors. Towards Intelligent Mobile Robots. Proceedings of a conference held in Bristol; 1999 Mar 26; Bristol. Manchester: University of Manchester. Manchester, Reino Unido.
- Wilcock, W. y Kauffman, P. 1996. Development of a seawater battery for deep-water applications. *Power Sources*. 66:71-75
- Wilkinson S. 1999. A crude but novel carrot powered gastrobot for middle or high school demonstrations. In: Proceedings of the 7th International Conference on Robotics and Applications; Paper # 304-024.
- Wilkinson S. 2000a. Gastronome—a pioneering food powered mobile robot. In: M.H. Hamza (Ed.), IASTED International Conference on Robotics and Applications, Acta Pr., Honolulu, Hawaii. EEUU
- Wilkinson S. 2000b. Gastrobots – benefits and challenges of microbial fuel cells in food powered robot applications. *J Autonomous Robots*. 9(2):99-111.
- Wilkinson Stuart. 2001. “Gastronome” – A Pioneering Food Powered Mobile Robot. Proceedings of the 8th IASTED International Conference on Robotics and Applications, Paper No. 318-037
- Wingard, L., Shaw, C. y Castner, J. 1982. Bioelectrochemical fuel cells. *Enzyme Microb. Technol.* 4(3),137-142.
- Yagishita, T., Sawayama, S., Tsukahara, K. y Ogi, T., 1999. Effects of glucose addition and light on current output in photosynthetic electrochemical cells using *Synechocystis* sp. PCC6714. *J. Biosci. Bioeng.* 88(2),210-214.
- Yan. 1977. Chemical aspects of marine sediments, in: T.F. Yan (Ed.), Chemistry of Marine Sediments, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor,MI.

- You, S., Zhao, Q. y Jiang, J.Q. 2006. Biological wastewater treatment and simultaneous generating electricity from organic wastewater by microbial fuel cell. *Huan Jing Ke Xue*. 27:1786-1790.
- Zhang, K., Martiny, A., Reppas, N., Barry, K., Malek, J., Chisholm, S. y Church, G. 2006. Sequencing genomes from single cells by polymerase cloning. *Nat. Biotechnol.* 24:680-686.
- Zhang, T., Cui, C., Chen, S., Yang, H. y Shen, P. 2008. The direct electrocatalysis of Escherichia coli through electroactivated excretion in microbial fuel cell. *Electrochem. Comm.* 10:293-297.
- Zhang, Y., Min, B., Huang, L. y Angelidaki, I. 2009a. Generation of electricity and analysis of microbial communities in wheat straw biomass-powered microbial fuel cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:3389-3395.
- Zhang, C., Li, M., Liu, G., Luo, H. y Zhang, R. 2009b. Pyridine degradation in the microbial fuel cells. *J. Hazard. Mat.* 172:465-471.
- Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. y Herrmann, I. 2005. Application of pyrolysed iron(II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochem. Commun.* 7:1405-1410.
- Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. y Herrmann, I. 2006. Challenges and constraints of using oxygen cathodes in microbial fuel cells. *Env. Sci. Technol.* 40:5193-5199.
- Zhao, F., Rahunen, N., Varcoe, J., Chandra, A., Avignone-Rossa, C., Thumser, A. y Slade, R. 2008. Activated carbon cloth as anode for sulfate removal in a microbial fuel cell. *Environ. Sci Technol.* 42:4971-4976.
- Zhu, X. y Ni, J. 2009. Simultaneous processes of electricity generation and p-nitrophenol degradation in a microbial fuel cell. *Electrochem. Comm.* 11:274-277.
- Zuo, Y., Maness P. y Logan B. 2006. Electricity production from steam-exploded corn stover biomass. *Energy & Fuels*. 20:1716-1721.
- Zuo, Y., Cheng, S., Call, D. y Logan, B. 2007. Tubular membrane cathodes for scalable power generation in microbial fuel cells. *Env. Sci. Tech.* 41:3347-3353.