



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Proceso bioelectroquímico para la  
producción de  
biocombustibles a partir de aguas  
residuales municipales”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA**

**LEONEL ROJAS ROMERO**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**2016**

---



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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**

<b>PRESIDENTE</b>	<b>Profesor:</b> Francisco Javier Garfias Vásquez
<b>VOCAL</b>	<b>Profesor:</b> Víctor Manuel Luna Pabello
<b>SECRETARIO</b>	<b>Profesor:</b> Ignacio Monje Ramírez
<b>1er SUPLENTE</b>	<b>Profesor:</b> Julio Cesar Aguilar Cordero
<b>2do SUPLENTE</b>	<b>Profesor:</b> Sergio Adrián García González

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

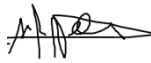
**LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, EDIFICIO 5,  
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dr. Ignacio Monje Ramírez**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**



---

**Dra. Sharon Belinda Velásquez Orta**

**SUSTENTANTE (S):**

---

**Leonel Rojas Romero**

## **Agradecimientos**

A mis padres Javier Rojas Anaya y María Josefina Romero Alvarez que por su constante apoyo he logrado trascender como ser humano y que por ellos he podido llegar a este nivel. A mis hermanos Cristian Ezequiel y Francisco Javier por brindarme su confianza, apoyo y cariño.

A mi hija Regina Cosette Rojas Oropeza por que desde que llego a mi vida se convirtió en mi mayor motivación.

A la Universidad Nacional Autonoma de México por haberme brindado conocimiento y por ser un lugar donde vive la libertad de pensamiento para la recreación como para el crecimiento de las mentes.

Al Dr. Ignacio Monje Ramírez, Dra. Sharon Belinda Velásquez Orta y Dra. María Teresa Orta Ledesma al haber brindado recursos y asesoría para este proyecto, que sin su apoyo no hubiera sido posible realizar.

Al Instituto de Ingeniería de la UNAM por haber brindado las instalaciones y medios para la realización de este proyecto.

Al Sr. Alejandro Maya y al personal del taller de metal mecánica del Instituto de Ingeniería por su importante contribución en la construcción del reactor experimental.

Al Sr. Ponciano Trinidad por el apoyo que me brindo para realizar las conexiones eléctricas.

A la compañía Exxon Mobil y al Institute of International Education por haber brindado el apoyo por medio del programa de beca ExxonMobil 2015 para proyectos de investigación nivel licenciatura. Al Ing. Paul Sosa por haber sido mi mentor durante este programa de beca y al Dr. Enrique Hidalgo por su apoyo y sus consejos.

A Petroleos Mexicanos por permitirme la realización del servicio social y a los ingenieros Luis Villalobos Vazquez, Dulce María Torres Martinez y Lidia Alcantara Noguez por contribuir en mi desarrollo profesional al compartir sus conocimientos y consejos para mi vida profesional.

Al profesor Genovevo Silva Pichardo por su apoyo y guía durante la carrera.

A mis amigos Ivonne Vazquez Espinosa y Jonathan Vizcaya Rivera, que por nuestro trabajo en equipo superamos muchos desafíos de la carrera.

## **ÍNDICE**

ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
RESUMEN.....	11
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos.....	12
INTRODUCCIÓN.....	13
Capítulo 1. ANTECEDENTES.....	15
1.1 La bioenergía en el mundo.....	15
1.2 La bioenergía en México.....	18
1.3 Manejo de aguas residuales municipales en México.....	20
1.4 Procesos bioelectroquímicos y sus aplicaciones.....	22
1.4.1 Celda de combustible microbiana (CCM).....	22
1.4.2 Elementos del diseño de una celda de combustible microbiana (CCM).....	24
1.4.3 Tratamiento de aguas residuales por celda de combustible microbiana....	25
1.4.4 Celda de combustible microbiana fotosintética.....	28
1.4.5. Celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por microalgas	28
1.5 Tratamiento de agua residual con microalgas.....	31
1.6 Las microalgas como fuente de bioenergía.....	32
1.6.1 Sistemas de cultivo de microalgas.....	34
1.6.2 Elaboración de biocombustibles con biomasa microalgal.....	35
Capítulo 2. METODOLOGÍA.....	37
2.1 Diseño y configuración del reactor.....	37
2.1.1 Diseño del reactor.....	37
2.1.2 Electroodos y conexiones eléctricas.....	38
2.2 Operación del sistema experimental.....	39
2.3 Parámetros a seguir y métodos de medición.....	44
2.4 Evaluación de la bioenergía obtenida.....	48

Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
3.1 Etapa de arranque y estabilización de la celda de combustible microbiana.....	51
3.2 Etapa intermedia de operación con pH básico.....	59
3.3 Adaptación de la especie <i>Scenedesmus obliquus</i> en el agua tratada por la cámara anódica de la celda.....	64
3.4 Acoplamiento de la microalga como medio de oxigenación de la celda...	69
3.5 Evaluación de la bioenergía obtenida y calidad del agua tratada por la celda de combustible microbiana fotosintética.....	76
Capítulo 5. CONCLUSIONES.....	83
BIBLIOGRAFÍA.....	84
ANEXOS.....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Expectativa de generación de energía.(SENER, 2014)	19
<b>Tabla 2.</b> Descargas de aguas residuales municipales y no municipales. 2013. (CONAGUA, 2014)	21
<b>Tabla 3.</b> Reacciones de oxidación en una celda de combustible microbiana. Fuentes: (Metcalf & Eddy, 2003, Logan et al, 2006)	23
<b>Tabla 4.</b> Reacciones de reducción en una celda de combustible microbiana. Fuentes: (Metcalf & Eddy, 2003, Logan et al, 2006)	24
<b>Tabla 5.</b> Componentes y materiales para construir una MFC (Du et al, 2007)	25
<b>Tabla 6.</b> Resultados reportados en la literatura ocupando distintas aguas residuales industriales o domesticas en una celda de combustible microbiana	27
<b>Tabla 7.</b> Celdas microbianas fotosintéticas con cátodo asistido por microalgas reportadas en la literatura	30
<b>Tabla 8.</b> Composición de microalgas %masa base seca (Dragone et al, 2010)	33
<b>Tabla 9.</b> Producción de aceite de diferentes fuentes. (Singh et al, 2010)	34
<b>Tabla 10.</b> Sistemas abiertos y cerrados para cultivo de microalgas	34
<b>Tabla 11.</b> Diferencias entre sistemas abiertos y cerrados. (Pandey et al, 2014)	35
<b>Tabla 12.</b> Parámetros eléctricos	45
<b>Tabla 13.</b> Parámetros de calidad del agua	47
<b>Tabla 14.</b> Parámetros de crecimiento microalgal	47
<b>Tabla 15.</b> Esquema de tratamiento del agua residual municipal, efectuado por celda de combustible microbiana y cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i>	68

<b>Tabla 16.</b> Calidad del agua en el cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> en agua residual municipal	81
<b>Tabla 17.</b> Calidad del agua en el cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> en efluente de la cámara anódica.	81
<b>Tabla 18.</b> Calidad del agua en el cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> en la cámara catódica.	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución de las fuentes de energía mundial total en el año 2011. Fuente: UNESCO 2014.	15
<b>Figura 2.</b> Producción mundial de biodiesel y bioetanol Fuente: UNESCO 2014.	16
<b>Figura 3.</b> Extracción y consumo de agua para producción de combustibles. Fuente: UNESCO. Informe del agua y la energía 2014	17
<b>Figura 4.</b> Distribución porcentual de las empresas productoras de combustibles de microalgas en el mundo (Singh and Gu, 2010)	17
<b>Figura 5.</b> Estructura de la producción de energía primaria, 2013. (SENER, 2014)	18
<b>Figura 6.</b> Generación distribuida 2014-2028 en MW. (SENER, 2014)	19
<b>Figura 7.</b> Aguas residuales municipales tratadas en México. Fuente: CONAGUA. Estadísticas del agua en México. Edición 2013	20
<b>Figura 8.</b> Procesos de tratamiento de aguas residuales municipales. Fuente: CONAGUA. Estadísticas del agua en México. Edición 2013	21
<b>Figura 9.</b> Diagrama de celda de combustible microbiana. Revelo et al, 2013	23
<b>Figura 10.</b> Celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas	29
<b>Figura 11.</b> Celdas de combustible microbianas con cátodo asistido por microalgas	31
<b>Figura 12.</b> Procesamiento de la biomasa microalgal (Dragone et al, 2010, Fournier Gonzales, 2015)	35
<b>Figura 13.</b> Proceso de producción de bioetanol y biodiesel a partir de microalgas. (Dragone et al, 2010)	36



<b>Figura 14.</b> Reactor experimental: Celda de combustible microbiana	37
<b>Figura 15.</b> Pared separadora con membrana intercambiadora de cationes CMI-7000.	38
<b>Figura 16.</b> Electrodos de la celda	39
<b>Figura 17.</b> Cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> en aguas residuales municipales	40
<b>Figura 18.</b> Sistema experimental montado con sistema de medición	41
<b>Figura 19.</b> Diagrama operacional de la etapa inicial de la celda de combustible microbiana.	42
<b>Figura 20.</b> Esquema de tratamiento del agua residual en la etapa inicial e intermedia.	43
<b>Figura 21.</b> Esquema operacional experimental de la celda con cátodo oxigenado por microalgas	43
<b>Figura 22.</b> Celda de combustible microbiana operando con <i>Scenedesmus obliquus</i> como medio de oxigenación	44
<b>Figura 23.</b> Funciones de la celda microbiana de combustible fotosintética con cátodo oxigenado por microalgas	45
<b>Figura 24.</b> Curva patrón de carbohidratos totales utilizando glucosa.	48
<b>Figura 25.</b> Arreglo experimental para el estudio de la bioenergía generada en la celda de combustible microbiana	50
<b>Figura 26.</b> Voltaje producido por la celda de combustible microbiana en la etapa de arranque y estabilización.	51
<b>Figura 27.</b> Variación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en la etapa de arranque y estabilización de la celda	53
<b>Figura 28.</b> Porcentajes de remoción alcanzados en la etapa de arranque y estabilización de la celda	53
<b>Figura 29.</b> Eficiencia Coulómbica y remoción en la etapa de arranque y estabilización	54
<b>Figura 30.</b> Oxígeno disuelto durante la etapa inicial.	55
<b>Figura 31.</b> Porcentaje removido por la celda de combustible microbiana en la etapa inicial	56
<b>Figura 32.</b> Demanda química de oxígeno en la celda de combustible microbiana en la etapa inicial	56
<b>Figura 33.</b> Curva de polarización de la celda de combustible microbiana en la etapa de arranque y estabilización de la celda	57

<b>Figura 34.</b> Curva de densidad de potencia de la etapa de arranque y estabilización	59
<b>Figura 35.</b> Voltaje obtenido por la celda con cátodo con solución alcalina.	60
<b>Figura 36.</b> Remoción de la DQO obtenida en la celda con cátodo con solución alcalina.	61
<b>Figura 37.</b> Porcentaje de remoción de DQO obtenido en la celda con cátodo con solución alcalina	61
<b>Figura 38.</b> Eficiencia Coulómbica y remoción obtenida en la celda con cátodo con solución alcalina	62
<b>Figura 39.</b> Curva de polarización de la celda con solución alcalina	63
<b>Figura 40.</b> Curva de potencia de la celda con solución alcalina	63
<b>Figura 41.</b> Absorbancia de los cultivos de microalgas en la etapa de arranque y estabilización de la celda	65
<b>Figura 42.</b> Valores de pH en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> montados durante la etapa de arranque y estabilización	66
<b>Figura 43.</b> Oxígeno disuelto en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> montados durante la etapa de arranque y estabilización	66
<b>Figura 44.</b> Cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> vistos al microscopio	67
<b>Figura 45.</b> Voltaje de la celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por <i>Scenedesmus obliquus</i>	69
<b>Figura 46.</b> Ensuciamiento de la cámara catódica	70
<b>Figura 47.</b> Porcentaje de remoción alcanzado por la celda con cátodo oxigenado por microalgas.	71
<b>Figura 48.</b> Demanda Química de Oxígeno en la celda con cátodo oxigenado por microalgas	71
<b>Figura 49.</b> Porcentaje de eficiencia Coulombica en la celda con cátodo oxigenado por microalgas	72
<b>Figura 50.</b> Oxígeno disuelto durante la etapa de oxigenación con <i>Scenedesmus obliquus</i>	72
<b>Figura 51.</b> Valores de pH en la celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por <i>Scenedesmus obliquus</i>	73
<b>Figura 52.</b> Curva de polarización de la celda con microalgas oxigenando el cátodo	74
<b>Figura 53.</b> Curva de potencia de la celda con microalgas oxigenando el cátodo.	75

<b>Figura 54.</b> Absorbancia a 680 nm obtenida en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> para el estudio de la bioenergía	76
<b>Figura 55.</b> Concentración de SST en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> para el estudio de la bioenergía	77
<b>Figura 56.</b> Oxígeno disuelto en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> para el estudio de la bioenergía	78
<b>Figura 57.</b> pH en los cultivos de <i>Scenedesmus obliquus</i> para el estudio de la bioenergía	79
<b>Figura 58.</b> Carbohidratos obtenidos en las diferentes formas de cultivo	80
<b>Figura 59.</b> Etanol teórico estimado en las diferentes formas de cultivo	80

## RESUMEN

En este trabajo de tesis se valuó un proceso bioelectroquímico para producir biocombustibles a partir de agua residual mediante el acoplamiento de una celda de combustible microbiana (MFC) al cultivo de microalgas.

Se estudió la generación de corriente eléctrica en una celda de combustible microbiana fotosintética con cátodo oxigenado mediante la microalga *Scenedesmus obliquus*. En dicha celda se llevó a cabo el tratamiento de agua residual municipal, la generación de electricidad y la producción de biomasa microalgal para la obtención de biocombustibles. El tratamiento consistió en la oxidación de la materia orgánica mediante el proceso de electrogénesis y la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) por la microalga *Scenedesmus obliquus*.

La celda de combustible microbiana estudiada está compuesta por un sistema de 2 cámaras (ánodo y cátodo) conectada a un circuito con resistencia eléctrica de 100Ω.

Durante la experimentación se evaluaron 3 etapas de operación. La primera etapa consistió en el arranque y estabilización de la cámara anódica en donde se lleva a cabo el tratamiento anaerobio del agua residual. En la segunda etapa, la cámara catódica operó con una solución alcalina a pH 10 para simular las condiciones de crecimiento de la microalga. La tercera etapa consistió en el acoplamiento del cultivo de *Scenedesmus obliquus* como medio de oxigenación en el cátodo de la celda.

Utilizando la microalga *Scenedesmus obliquus* como medio de oxigenación, se obtuvo una remoción de  $73.5 \pm 7.2$  % de la DQO y se alcanzó un 88.9% como remoción máxima de DQO. El voltaje máximo alcanzado fue 86.13 mV, la densidad máxima de potencia eléctrica registrada por la celda fue de 34.2 mW/m<sup>2</sup>. Bajo las condiciones de operación ensayadas se obtuvo una baja eficiencia Coulómbica (4.9%), lo que sugiere que solo una fracción de la materia orgánica oxidada fue ocupada para generar electricidad. La baja eficiencia Coulómbica puede estar relacionada con la interferencia de otros aceptores de electrones como los sulfatos y nitratos así como con un efecto "crossover" del oxígeno en la membrana.

Con respecto al cultivo de *Scenedesmus obliquus* en el efluente de la cámara anódica se alcanzó una concentración de biomasa de 0.5 g/L como SST y remociones máximas de nitrógeno amoniacal y de fósforo total de  $89.3 \pm 3.5$ % y de  $93.4 \pm 3.9$ %, respectivamente. Se obtuvo una biomasa microalgal con un contenido de carbohidratos de 28 % en peso para la generación de bioetanol.

El proceso de generación de bioenergía en una celda de combustible microbiana fotosintética, a partir del tratamiento de un agua residual y su acoplamiento al cultivo de microalgas, es técnicamente factible, no obstante, se deben buscar mejoras en el diseño de la celda que permitan aumentar la eficiencia Coulómbica y reducir las pérdidas de voltaje en la celda.

## **Objetivo General**

Evaluar un proceso bioelectroquímico para producir biocombustibles a partir de agua residual mediante el acoplamiento de una celda de combustible microbiana (MFC) al cultivo de microalgas.

## **Objetivo Específicos**

1. Diseñar una celda de combustible microbiana que se acople a un sistema de cultivo de microalgas empleando aguas residuales.
2. Poner en marcha y estabilizar la operación de la celda de combustible microbiana dando seguimiento a los parámetros eléctricos de la celda y a la calidad del efluente de tratamiento.
3. Llevar a cabo el acoplamiento de la celda microbiana y el cultivo de la especie *Scenedesmus obliquus* en agua residual tratada proveniente de la celda microbiana.
4. Evaluar la generación de bioenergía obtenida a partir de la celda de combustible microbiana y la producción potencial de bioetanol de la biomasa microalgal.

## INTRODUCCIÓN

Las actividades humanas y el crecimiento poblacional generan desafíos en cuestiones energéticas y ambientales que deben afrontarse para un mejor futuro. La mayor parte de la energía generada en el mundo proviene de fuentes fósiles, las cuales no son renovables y ocasionan severos problemas de contaminación del aire, agua y suelo. Al mismo tiempo se generan productos de desecho, uno de ellos son las aguas residuales domésticas e industriales. Ante esta problemática internacional la producción de energía a partir de desechos se vuelve una opción atractiva al ser renovable, remover contaminantes y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero asociadas con el calentamiento global.

Actualmente, en México las aguas residuales domésticas se conocen como aguas residuales municipales y solo se tratan aproximadamente la mitad de las que son recolectadas por el sistema de alcantarillado (CONAGUA, 2015), en el año 2014 se generaron en el país 228.7 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales municipales, se recolectaron 211 m<sup>3</sup>/s en el alcantarillado y se trataron 111.3 m<sup>3</sup>/s. El proceso más empleado en México para el tratamiento de aguas residuales municipales es el sistema de lodos activados, este proceso tiene un elevado consumo energético debido a la aeración, representando entre el 30-55% de los costos operacionales (Anh and Logan, 2010, Sung et al., 2010, Gonzáles del Campo et al., 2013) y requerimientos de 500 Wh/m<sup>3</sup> de agua tratada (Anh and Logan, 2010) o 1kWh para oxidación de 1 kg de compuestos orgánicos removidos durante el tratamiento, además de la alta generación de lodos que requieren de otros tratamientos adicionales. Debido a lo anterior, los procesos anaerobios se vuelven una opción atractiva al tener una recuperación energética por el biogás que se genera durante el tratamiento, menor costo operacional y una menor generación de lodos. Sin embargo para un agua residual domestica con una concentración menor a 300 mg/L de DQO, un tratamiento aerobio genera menos gases de efecto invernadero (Cakir and Stenstrom, 2005), además son necesarias concentraciones de DQO superiores a 1500 mg/L para producir la cantidad de metano requerida para calentar el agua residual sin ocupar una fuente externa de energía (Metcalf and Eddy, 2003), debido a que los procesos anaerobios tienen temperaturas optimas en el intervalo 25-35°C (Metcalf and Eddy, 2003). Los procesos anaerobios como el reactor UASB son una opción atractiva para tratar agua en zonas tropicales como los países latinoamericanos y del Caribe (Noyola et al., 2013).

La celda de combustible microbiana es una tecnología en desarrollo prometedora que presenta ventajas para tratar agua residual doméstica con baja concentración de materia orgánica con beneficios similares a los tratamientos anaerobios como lo son: bajo costo operacional, recuperación energética en forma de electricidad y una baja generación de lodos (Zhang et al., 2013), y ventajas sobre los tratamientos anaerobios convencionales como lo son: una mejor tolerancia a los cambios de temperatura, un menor tiempo de

aclimatación de los microorganismos, una generación directa de electricidad sin requerimientos adicionales, baja concentración de metano disuelto en el efluente, alta remoción de nitrógeno por medio de adaptaciones especiales (Zhang et al., 2013) además de una integración con sistemas fotosintéticos que permiten: la remoción de fósforo y otros nutrientes (Kelly and He, 2014), la captura del CO<sub>2</sub> producido por la oxidación de la materia orgánica (Wang et al., 2010), la sustitución de los sistemas de aeración al ocupar el oxígeno producido fotosintéticamente y la producción de biomasa microalgal que puede ser ocupada para elaborar productos energéticos de interés comercial como los biocombustibles (Hou et al., 2016, Lam and Lee, 2012).

Los biocombustibles de microalga producidos a partir del tratamiento de agua residual municipal no compiten con la generación alimenticia, ocupan agua que no es para suministro humano y es un producto de desecho, los cultivos se pueden montar en terrenos que no son destinados para usos agrícolas o de vivienda, son una fuente de energía renovable, disminuyen las emisiones de CO<sub>2</sub>, ayudan a la conservación del agua al remover contaminantes, dan un uso útil a un desecho, no requieren de procesos como la extracción de lignina y otros compuestos que son tóxicos para los organismos fermentadores y los procesos son más simples que para los biocombustibles de biomasa lignocelulósica. Sin embargo, la tecnología de producción de combustibles con microalgas presenta limitantes en su producción (Pandey et al., 2014) sobretodo en la etapa de cosecha y de secado de la biomasa microalgal, el cosechado de la biomasa puede contribuir entre el 20-30% al costo de la biomasa (Mata et al., 2010). La etapa de secado es una de las mayores limitantes para la producción de biocombustibles y de productos de bajo valor agregado (Pandey et al., 2014), debido al alto contenido de humedad el método de secar al sol no es eficiente y métodos como el de secado por aspersion no son económicamente viables para la producción de biocombustibles (Brennan and Owende, 2010).

En la presente tesis se estudiara una celda de combustible microbiana fotosintética con microalga oxigenando el cátodo por los beneficios que ofrece al generar energía y tratar agua residual doméstica.

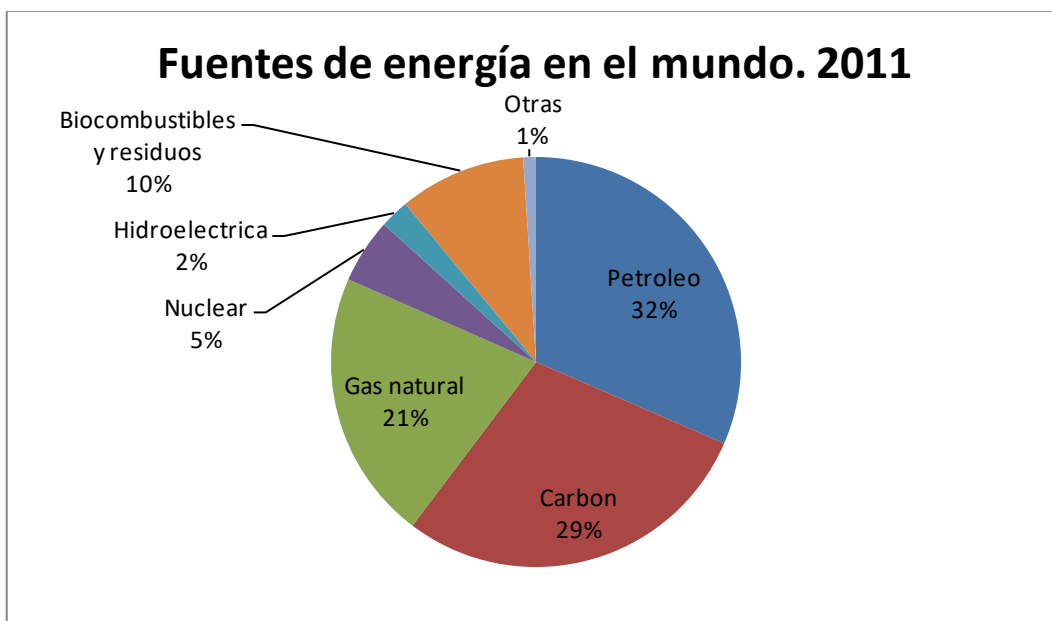
## CAPITULO 1. ANTECEDENTES

### 1.1 La bioenergía en el mundo

La bioenergía corresponde a las fuentes de energía renovable provenientes de biomasa o de fuentes biológicas, tales como leña, biocombustibles, subproductos agrícolas, carbón, turba o estiércol. Dentro de las energías renovables, la bioenergía se encuentra en una posición dominante, al representar el 77 % de las energías renovables y 10 % del total de la energía primaria consumida en el mundo (UNESCO, 2014). El reparto de las fuentes energéticas empleadas globalmente es representado en la **Figura 1**.

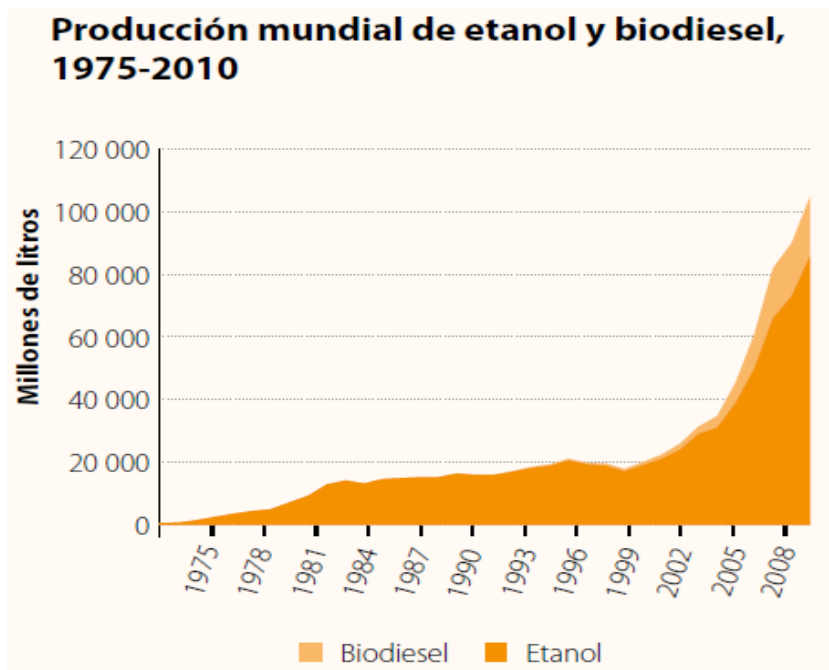
El aprovechamiento de biomasa, biogas y biocombustibles para la generación de electricidad se ha convertido en una alternativa considerablemente relevante en regiones como Europa y Norteamérica, pero también en economías emergentes como China, Chile y Brasil (SENER, 2014). Los biocombustibles parecen una opción atractiva comparado con otras formas de energía renovable, los biocombustibles pueden ser almacenados y ser empleados en máquinas e infraestructuras de transporte (Amaro et al., 2011).

Se espera que la contribución de los biocombustibles al suministro de energía se incremente rápidamente, con efectos positivos que incluyen la reducción de gases de efecto invernadero, la mejora de la seguridad energética y posibles nuevas fuentes de ingresos para los agricultores (UNESCO, 2014). El aumento en producción de biocombustibles se aprecia en la **Figura 2**.



**Figura 1.** Distribución de las fuentes de energía mundial total en el año 2011.  
Fuente: UNESCO 2014.



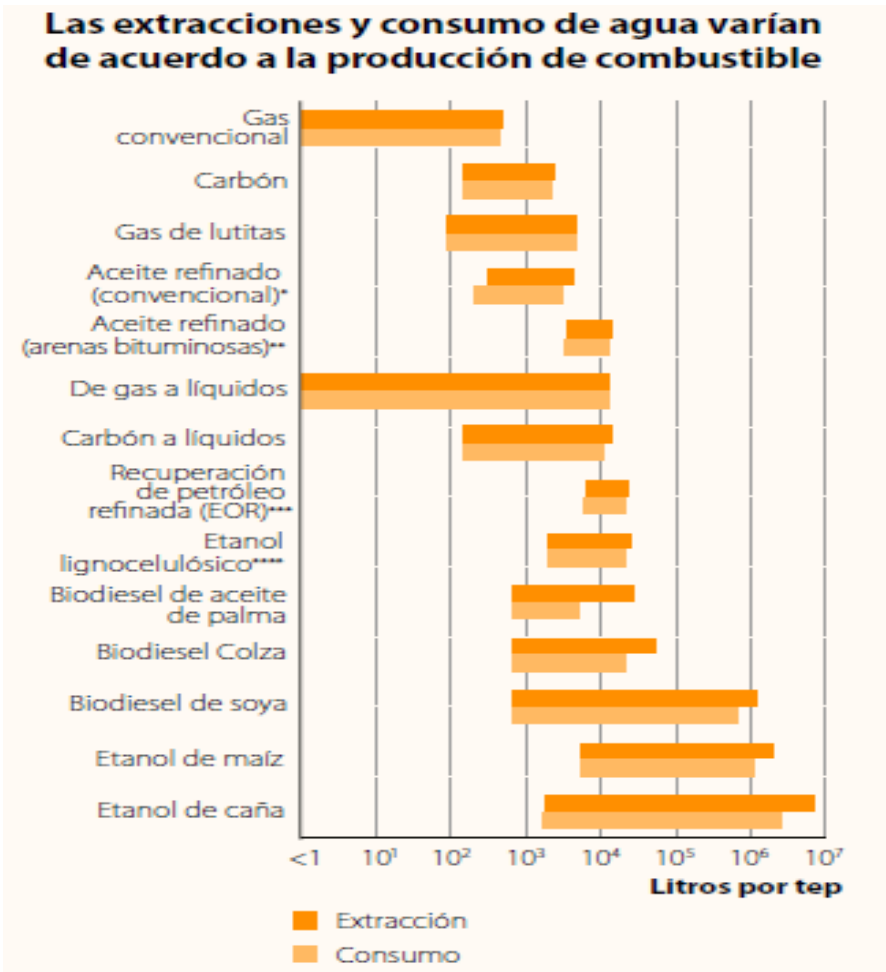


**Figura 2.** Producción mundial de biodiesel y bioetanol Fuente: UNESCO 2014.

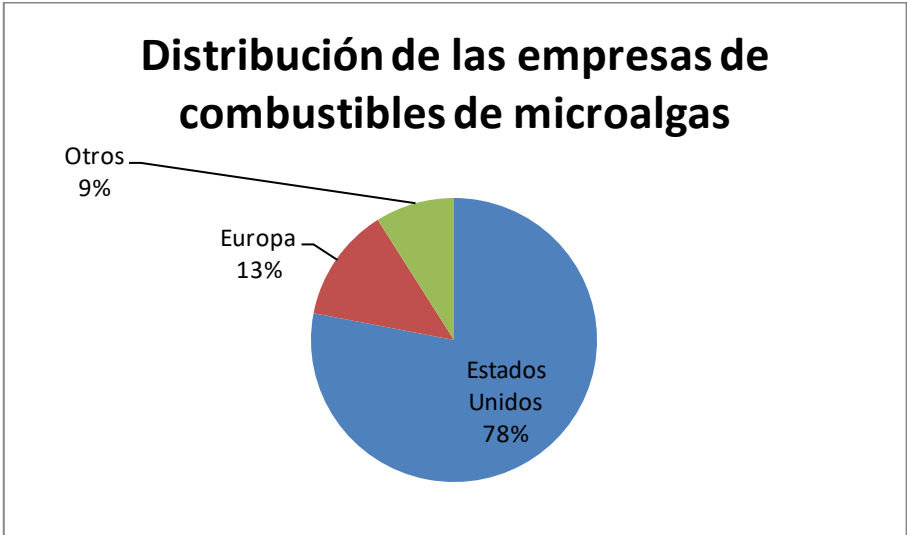
A pesar de las ventajas que ofrecen los biocombustibles, su producción enfrenta desafíos como: la competencia por el cultivo de alimentos, el uso de suelo, alto requerimiento en consumo y extracción de agua para la etapa de cultivo y fluctuación de precios de los alimentos en el mercado (UNESCO, 2014, Singh et al., 2011). El uso de agua para la obtención de fuentes energéticas se aprecia en la **Figura 3**, indicando que la cantidad de agua ocupada para la obtención energética es mayor en los biocombustibles de primera generación, los cuales vienen de cultivos agrícolas como los son: maíz y caña.

Los combustibles producidos a partir de microalgas presentan algunas ventajas sobre otros biocombustibles como: mayores productividades de biomasa que las plantas terrestres, mayor velocidad de crecimiento, desarrollo en todas las épocas del año, no requieren de tierra fértil y pueden ocupar un medio acuoso con nutrientes ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  que son contaminantes que son generados por las actividades humanas y están presentes en aguas residuales) sin competir con el suministro de agua para la población y removiendo los contaminantes.

A pesar de las ventajas que ofrecen las microalgas como fuente energética, la tecnología necesita probar su efectividad más allá de la escala piloto (UNESCO, 2014). Sin embargo existen empresas que comercializan combustibles de microalgas alrededor del mundo (Singh and Gu, 2010). En la **Figura 4** se muestra la distribución de las compañías que fabrican combustibles de microalgas donde los Estados Unidos son líderes en número de empresas.



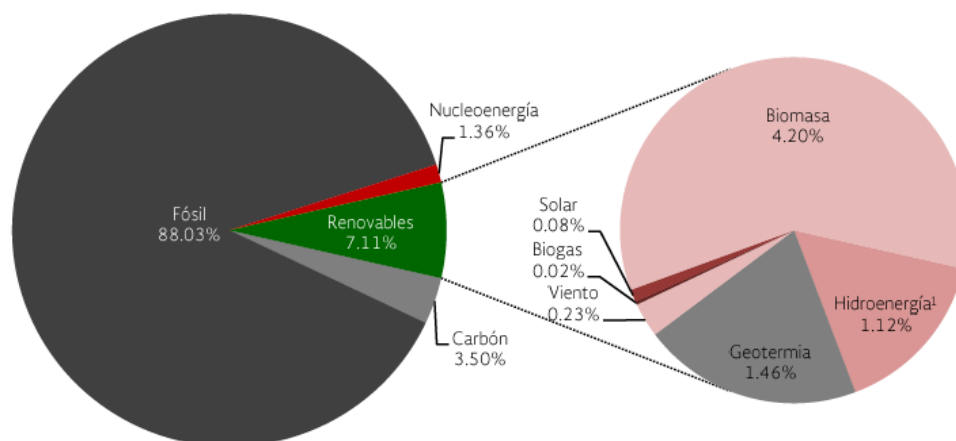
**Figura 3.** Extracción y consumo de agua para producción de combustibles. Fuente: UNESCO. Informe del agua y la energía 2014



**Figura 4.** Distribución porcentual de las empresas productoras de combustibles de microalgas en el mundo (Singh and Gu, 2010)

## 1.2 Bioenergía en México

Dentro de las energías renovables, la biomasa domina a las otras fuentes energéticas renovables en México, representando el 4.2% de las fuentes de energía primaria en el país (SENER, 2014). La distribución de las fuentes de energía se reporta en la **Figura 5**.

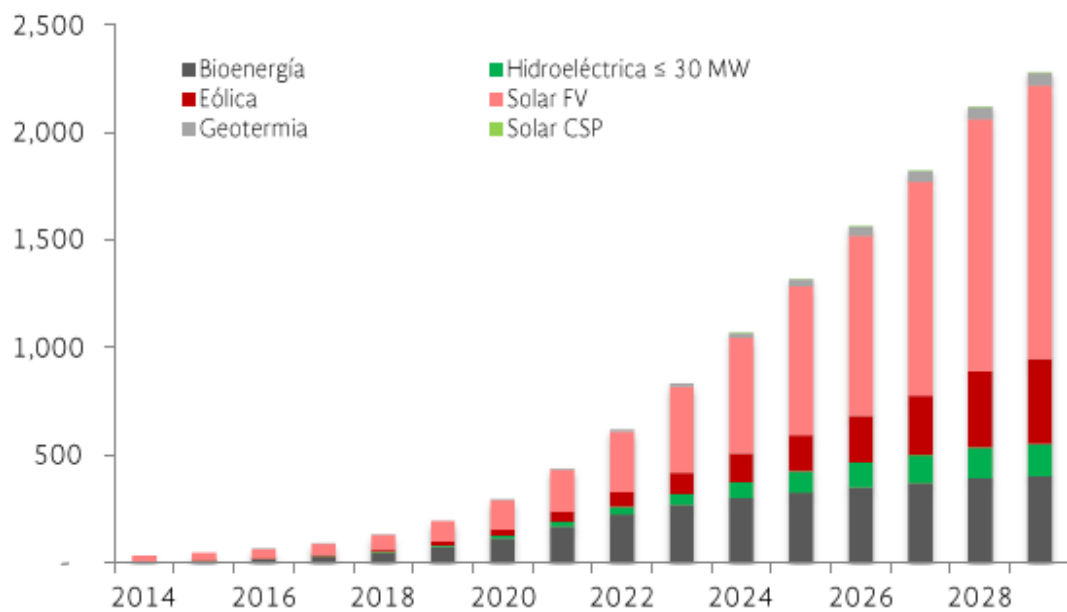


**Nota:** Todos los porcentajes son respecto al total de la producción de energía primaria  
Incluye grandes hidroeléctricas

**FUENTE:** Balance Nacional de Energía 2013, SENER.

**Figura 5.** Estructura de la producción de energía primaria, 2013. (SENER, 2014)

Existen planes a futuro contemplados en la reforma energética elaborada por el gobierno federal en el 2013 para una mayor participación de las energías renovables, en especial de los bioenergéticos. La prospectiva de crecimiento en la generación eléctrica se reporta en la **Figura 6** y las expectativas de generación se muestran en la **Tabla 1**. Sin embargo, el crecimiento en la contribución energética de la biomasa con el paso del tiempo es menor al esperado para la energía solar y eólica. Esto es debido a las políticas del Gobierno Federal que contemplan un crecimiento mayor en el sector eólico a partir de indicadores económicos (SENER, 2014).



FUENTE: SENER. 2014.

**Figura 6.** Generación distribuida 2014-2028 en MW. (SENER, 2014)

**Tabla 1.** Expectativa de generación de energía. (SENER, 2014).

	2018	2024	2028
<b>Generación</b>	<b>338,166</b>	<b>435,267</b>	<b>524,821</b>
<b>Renovables (Escenario de planeación)</b>	<b>74,245</b>	<b>87,830</b>	<b>95,172</b>
Solar	1,306	3,494	5,216
Geotermoeléctrica	6,935	6,560	7,033
Eoloeléctrica	28,363	33,367	36,402
Hidroeléctrica (<= 30 MW)	2,286	2,373	2,663
Hidroeléctrica (> 30 MW)	33,195	37,938	39,193
Bioenergía	2,160	4,099	4,665
<b>Generación limpia</b>	<b>95,379</b>	<b>124,141</b>	<b>217,024</b>
Cogeneración Eficiente	10,372	10,372	10,372
<b>Participación de las renovables en la generación de electricidad (%)</b>			
Renovables	21.96%	20.18%	18.13%
Meta del Programa Especial para el Aprovechamiento de Energías Renovables	25.0%	22.6%	20.1%
Participación de Energías Limpias	28.2%	28.5%	41.4%

FUENTE: SENER con información de CFE. 2014.

### 1.3 Manejo de aguas residuales municipales en México

Los países industrializados generan una gran cantidad de aguas residuales industriales y domésticas. Estas aguas no pueden ser descargadas directamente a ríos, lagos o mares sin antes recibir un tratamiento para reducir los contaminantes a niveles ambientalmente seguros (Martínez et al., 2000).

Las aguas residuales domésticas en México se les maneja con el término de aguas residuales municipales, estas aguas corresponden a las que son manejadas en los sistemas de alcantarillado urbanos y rurales. La normatividad que regula el manejo de aguas residuales para la descarga y reúso está indicada en las normas: NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997.

En México, en el año 2014 se trataron 111.3 m<sup>3</sup>/s en las 2337 plantas de tratamiento que estuvieron en operación. Solo se trataron 52.8% de los 211.0 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales recolectadas por el sistemas de alcantarillado (CONAGUA, Estadísticas del Agua en México, 2015). El seguimiento de los caudales tratados en México se reporta en la **Figura 7**.

**GRÁFICA 4.10** Caudal de aguas residuales municipales tratadas (m<sup>3</sup>/s)



Fuente: CONAGUA (2015e).

**Figura 7.** Aguas residuales municipales tratadas en México. Fuente: CONAGUA. Estadísticas del agua en México. Edición 2015

Ha existido una mejora en el sistema de alcantarillado. Sin embargo solo se tratan aproximadamente la mitad de las aguas residuales municipales que se generan. En el caso de las aguas residuales industriales existe un mayor rezago.

El proceso de tratamiento más empleado en México es el de lodos activados, un tratamiento que requiere de mucha energía por los requerimientos de

aeración (CONAGUA, 2015, Noyola et al., 2013). El segundo sistema utilizado es el de las lagunas de estabilización en el cual hay una simbiosis entre bacterias y algas que permite la degradación de contaminantes (Noyola et al., 2013). Los procesos ocupados para el tratamiento de aguas residuales en México se reportan en la **Figura 8**.

La secuencia, generación de aguas residuales municipales, recolección en alcantarillado y tratamiento/remoción se muestra en la **Tabla 2**.

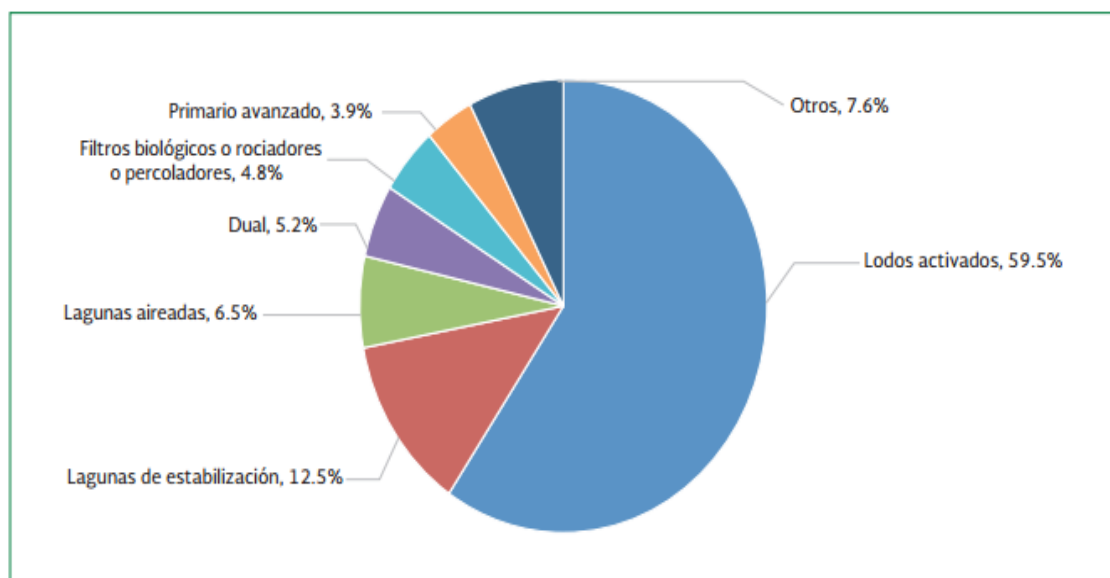
**Tabla 2.** Descargas de aguas residuales municipales y no municipales. (CONAGUA, 2015)

**TABLA 4.12** Descarga de aguas residuales municipales y no municipales, 2014

Centros urbanos (descargas municipales)		
<b>Volumen</b>		
Aguas residuales municipales	7.21	miles de hm <sup>3</sup> /año (228.7 m <sup>3</sup> /s)
Se recolectan en alcantarillado	6.65	miles de hm <sup>3</sup> /año (211.0 m <sup>3</sup> /s)
Se tratan	3.51	miles de hm <sup>3</sup> /año (111.3 m <sup>3</sup> /s)
<b>Carga contaminante</b>		
Se generan	1.95	millones de toneladas de DBO <sub>5</sub> al año
Se recolectan en alcantarillado	1.80	millones de toneladas de DBO <sub>5</sub> al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	0.77	millones de toneladas de DBO <sub>5</sub> al año
Usos no municipales, incluyendo a la industria		
<b>Volumen</b>		
Aguas residuales no municipales	6.67	miles de hm <sup>3</sup> /año (211.4 m <sup>3</sup> /s)
Se tratan	2.07	miles de hm <sup>3</sup> /año (65.6 m <sup>3</sup> /s)
<b>Carga contaminante</b>		
Se generan	9.99	millones de toneladas de DBO <sub>5</sub> al año
Se remueven en los sistemas de tratamiento	1.39	millones de toneladas de DBO <sub>5</sub> al año

Fuente: CONAGUA (2015e), CONAGUA (2015a).

**GRÁFICA 4.11** Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales por caudal tratado, 2014



Fuente: CONAGUA (2015e).

**Figura 8.** Procesos de tratamiento de aguas residuales municipales. Fuente: CONAGUA. Estadísticas del agua en México. Edición 2015

Existe un área de oportunidad para la implementación de sistemas de tratamiento de aguas residuales municipal que pueden generar energía empleando sistemas anaerobios.

#### **1.4 Procesos bioelectroquímicos y sus aplicaciones**

Son sistemas en los que ocurren reacciones de óxido reducción involucrando microorganismos para llevarlas a cabo. Los procesos bioelectroquímicos son una tecnología emergente que permite obtener energía a partir de la degradación de la materia orgánica biodegradable ocupando una biopelícula de microorganismos como un biocatalizador (Kim, 2009).

La intensa investigación que se ha venido realizando por diversos grupos de investigación a nivel mundial, ha logrado grandes avances en el desarrollo de los procesos bioelectroquímicos y se han 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:

- Generación de electricidad
- *Producción de hidrógeno*
- Tratamiento de aguas residuales
- Biosensores
- Biorremediación

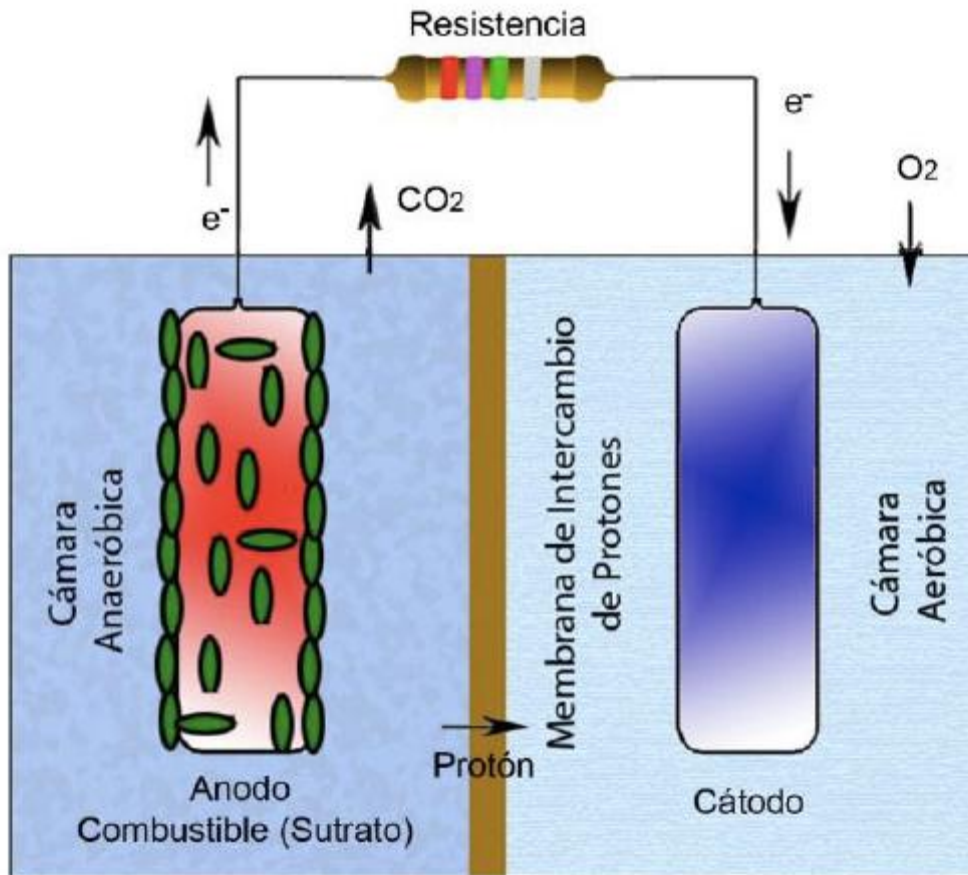
##### **1.4.1 Celda de combustible microbiana (CCM)**

Una celda de combustible microbiana es un biorreactor que convierte la energía química que hay en los enlaces de los compuestos orgánicos en energía eléctrica a través de reacciones catalizadas por microorganismos bajo condiciones anaerobias (Du et al., 2007).

Los microorganismos obtienen la energía transfiriendo electrones desde un donador de electrones, como el acetato, glucosa o la materia orgánica presente en un agua residual, hacia un aceptor de electrones, como el oxígeno. También se pueden ocupar otros aceptores de electrones por ejemplo: el permanganato ( $\text{MnO}_4^-$ ), el dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^-$ ), el ferrocianuro ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$ ),  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$  o cualquier agente oxidante que favorezca la reacción termodinámicamente.

En una celda de combustible microbiana las bacterias no transfieren directamente los electrones a un aceptor final característico, sino que lo hacen a un electrodo, es decir hacia un ánodo. Posteriormente, los electrones pasan a través de una resistencia, u otra carga hacia el cátodo, por lo que los electrones generados en la reacción son colectados y convertidos en energía eléctrica. El carbono orgánico es transformado a  $\text{CO}_2$ . El ciclo se cierra cuando los protones migran hacia el cátodo a través de una membrana de intercambio de protones y en presencia de oxígeno reaccionan para formar agua (Du et al.,

2007). En la **Figura 9** se describe una celda de combustible microbiana y su funcionamiento.



**Figura 9.** Diagrama de celda de combustible microbiana. Revelo et al., 2013

En la **Tabla 3** se muestran algunas de las reacciones de oxidación que se llevan a cabo en una celda de combustible microbiana. En la **Tabla 4** se muestran las reacciones de reducción.

**Tabla 3.** Reacciones de oxidación en una celda de combustible microbiana.  
Fuentes: (Metcalf & Eddy, 2003, Logan et al., 2006)

<b>Reacciones anódicas (oxidación)</b>	
Acetato:	
$CH_3COO^- + 3H_2O$	$\xrightarrow{\text{microorganismos}} CO_2 + 8H^+ + HCO_3^- + 8e^-$
Glucosa:	
$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O$	$\xrightarrow{\text{microorganismos}} 6CO_2 + 24H^+ + 24e^-$
Agua residual domestica:	
$C_{10}H_{19}O_3N + 18H_2O$	$\xrightarrow{\text{microorganismos}} 9CO_2 + 50H^+ + NH_4^+ + HCO_3^- + 50e^-$



**Tabla 4.** Reacciones de reducción en una celda de combustible microbiana.  
Fuentes: (Metcalf & Eddy, 2003, Logan et al., 2006)

<b>Reacciones catódicas (reducción)</b>
Oxígeno: $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$
Ferrocianuro $Fe(CN_6)^{-3} + e^- \rightarrow Fe(CN_6)^{-4}$
Nitrato: $2NO_3^- + 12H^+ + 10e^- \xrightarrow{\text{microorganismos}} N_2 + 6H_2O$

#### **1.4.2 Elementos del diseño de una celda de combustible microbiana (CCM)**

Las celdas de combustible microbianas (CCM) son construidas usando toda una variedad de materiales, distintas configuraciones y diferentes tipos de microorganismos. Estos sistemas son operados bajo un rango de condiciones que incluyen diferencias en: temperatura, pH, aceptores de electrones, área superficial de los electrodos, tamaño y tiempo de operación (Logan et al., 2006). Una CCM típica consiste en una cámara anódica y una cámara catódica separadas por una membrana de intercambio de protones (PEM), se puede eliminar la cámara catódica exponiendo el cátodo directamente al aire (Du et al., 2007). Algunos diseños de celdas han quitado la membrana de intercambio de protones (PEM). Los materiales para el diseño de una celda de combustible microbiana se muestran en la **Tabla 5**.

Las celdas de combustible microbianas se clasifican por su configuración y el tipo de operación en que trabajan.

**Tabla 5.** Componentes y materiales para construir una MFC (Du et al., 2007)

<b>Componente</b>	<b>Materiales</b>	<b>Relevancia</b>
Ánodo	Grafito, fieltro de grafito, fibra de grafito, papel de carbón, platino, negro de platino, carbón vítreo reticulado (RVC)	Necesaria
Cátodo	Grafito, fieltro de grafito, fibra de grafito, papel de carbón, platino, negro de platino, carbón vítreo reticulado (RVC)	Necesaria
Cámara anódica	Vidrio, policarbonato, plexiglás	Necesaria
Cámara catódica	Vidrio, policarbonato, plexiglás	Opcional
Sistema de intercambio de protones	Membrana de intercambio: Nafion, Ultrex, polietileno; puente salino, membrana de ultrafiltración, membrana de osmosis, arenas (celdas de sedimento)	Opcional
Catalizadores de electrodo	Platino, negro de platino, $MnO_2$ , poli anilinas, $Fe^{3+}$ , mediador de electrones inmovilizado en el ánodo	Opcional

### 1.4.3 Tratamiento de aguas residuales por celda de combustible microbiana

Las celdas de combustible microbianas son un nuevo concepto de tecnología de tratamientos biológicos de aguas residuales. Además se ha reportado que la

producción de lodos en una CCM es del orden de 10-50% de lo producido en tratamiento convencionales, la baja producción de lodos en este sistema representa un menor impacto ambiental y una reducción en los costos de disposición de los lodos (Kim, 2009). El tratamiento de aguas residuales simultáneo y la generación de energía mediante sistemas de celdas combustibles microbianas pueden compensar los costos de operación de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Jiang et al., 2012). Varios tipos de aguas residuales domésticas e industriales han sido tratadas y convertidas en electricidad mediante celdas de combustible microbianas para la generación de electricidad (Jiang et al., 2012, Velásquez-Orta et al., 2011, Anh and Logan, 2010). En la **Tabla 6** se muestran resultados obtenidos en el tratamiento de aguas residuales reales con celdas de combustible microbianas.

Los aspectos observados en celdas microbianas de combustible son:

- Remoción de materia orgánica de hasta el 88% de la DQO en aguas residuales domésticas (Ahn and Logan, 2010), y un 98% de la DQO en aguas residuales de la industria del almidón (Lu et al., 2009)
- Efectos de la variación de la conductividad eléctrica del agua residual en el perfil de la celda (Velásquez Orta et al., 2011)
- Diferentes tipos de electrodos para el ánodo
- Formación de biopelículas en el ánodo con distintas aguas residuales (Velásquez Orta et al., 2011)
- Producción de electricidad con diferentes aguas residuales domésticas y de distintas industrias (Velásquez Orta et al., 2011, Lu et al., 2009, Min and Kim, 2005, Wen and Wu, 2010, Liu et al., 2004, Jiang et al., 2012, Ahn and Logan, 2010 )
- Operación bajo diferentes valores de temperatura. Temperaturas mesofílicas y ambiente (Ahn and Logan, 2010)
- Operación con distintos inóculos (Liu et al., 2004)
- Integración a sistemas de foto reactores para una mayor remoción de los nutrientes (Jiang et al., 2012)
- Operación con diferentes catalizadores, buscando diseños económicos (Jiang et al, 2011)
- Operación con inóculo selectivo (Liu et al., 2004)
- Tratamiento con ajustes de pH (Wen and Wu, 2010)
- Diseño con diferentes membranas
- Operación continua, semicontinua e intermitente
- Operación con distintas configuraciones: 2 cámaras y una sola cámara (Min and Kim, 2005)
- Estudios a escala piloto para producción de electricidad (Jiang et al., 2011)

**Tabla 6.** Resultados reportados en la literatura ocupando distintas aguas residuales industriales o domesticas en una celda de combustible microbiana

Agua residual utilizada	Concentración inicial	Inoculo (ánodo)	Potencia máxima alcanzada	Remoción de contaminantes	Referencia
Granja porcina	8320±190 mg/L (DQO)	Agua residual de cerdo	45mW/m <sup>2</sup>	-	Min et al 2005
Granja porcina	8320±190 mg/L (DQO)	Agua residual de cerdo	261mW/m <sup>2</sup>	-	Min et al 2005
Agua residual domestica	220 mg/L (DQO)	<i>Geobacter metallireducens</i>	26mW/m <sup>2</sup>	80% de la DQO	Liu et al 2004
Industria papelera	600 mg/L (DQO)	Lodo de digestor anaerobio	60mW/m <sup>2</sup>	78±1% de la DQO	Velásquez-Orta et al 2011
Agua residual domestica (Efluente sedimentador primario)	0.8-0.9g/L·día (DQO)	Lodo anaerobio	422mW/m <sup>2</sup>	88% de la DQO	Anh and Logan 2010
Industria del almidón	4852 mg/L (DQO)	Agua residual de la industria del almidón	239.4mW/m <sup>2</sup>	98% de la DQO	Lu et al 2008
Agua residual domestica	321±6 mg/L de DQO, 53.2±1.3 mg/L de nitrógeno amoniacal Y 4.3±0.1 mg/L de fosforo total	Agua residual del clarificador primario	20000mW/m <sup>3</sup>	85% de la DQO, 58% fosforo total y 91% nitrógeno amoniacal.  Después de ocupar el foto reactor con microalgas:  92% fosforo total, 99% nitrógeno	Jiang et al 2012
Industria cervecera	1501 mg/L de DQO	Consortio anaeróbica de industria cervecera	669mW/m <sup>2</sup>	48% de la DQO	Wen et al 2010

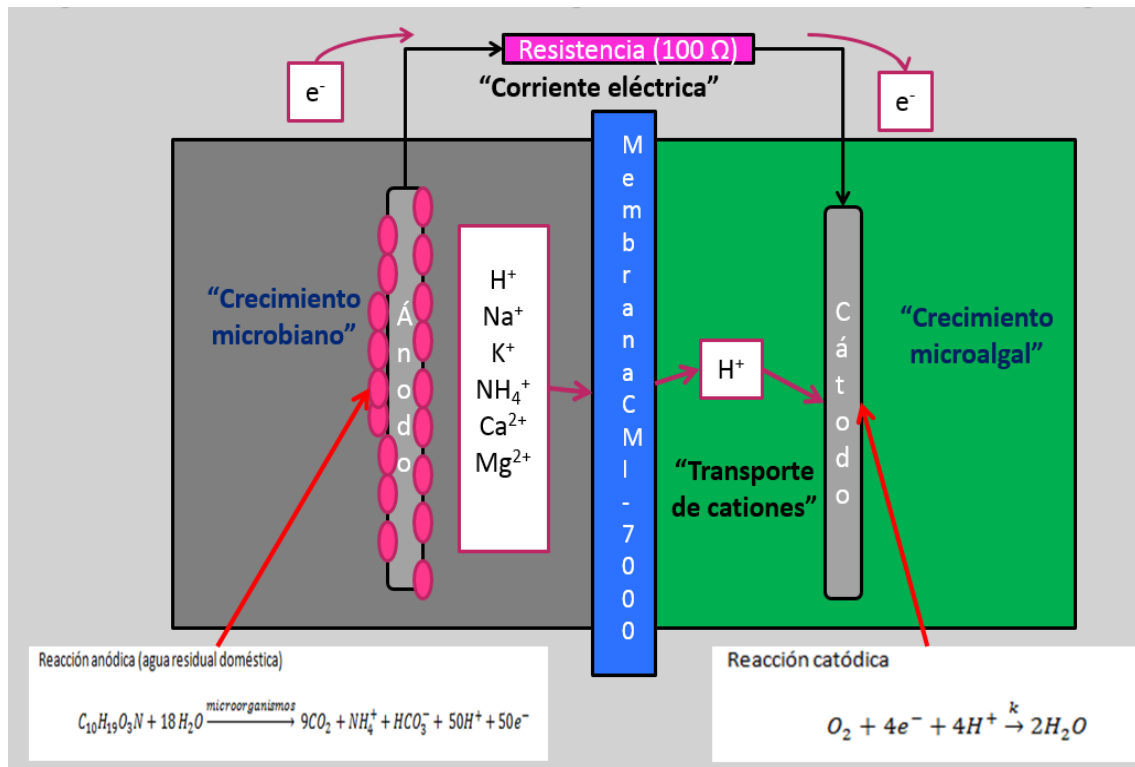
#### 1.4.4 Celda de combustible microbiana fotosintética

Una celda de combustible microbiana fotosintética (PMFC, por sus siglas en inglés) es un sistema en el que la fotosíntesis interviene apoyando a alguna de las reacciones de la celda de combustible microbiana (Rosenbaum et al, 2010). La fotosíntesis puede apoyar a la celda de combustible microbiana de las siguientes formas:

- Por la acción de mediadores artificiales que ayudan a una bacteria fotosintética a transportar electrones hacia el ánodo (Rosenbaum et al., 2010)
- Oxidación de hidrogeno producido in situ fotosintéticamente por microalgas (Rosenbaum et al., 2010)
- Oxidación de la materia orgánica excretada por organismos fotosintéticos (Strik et al., 2008, Timmers et al., 2010, Rosenbaum et al., 2010)
- Oxidación de la biomasa microalgal ocupándola como sustrato para la celda (Velásquez-Orta et al., 2009, Rashid et al., 2013, Rosenbaum et al., 2010)
- Oxigenación de la cámara catódica por medio de organismos fotosintéticos (Kakarla and Min, 2014, Powell et al., 2011, Elmewaky et al., 2014, Rosenbaum et al., 2010)

#### 1.4.5 Celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por microalgas

Una celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas es un biorreactor que aprovecha el oxígeno producido fotosintéticamente por las microalgas para la generación de electricidad por medio de la reacción de reducción del oxígeno en una celda de combustible (Elmewaky et al., 2014, Lobato et al., 2013, Liu et al., 2014, Gonzales del Campo et al., 2013). Esta celda al mismo tiempo puede remover contaminantes como la materia orgánica (oxidación en la cámara anódica) y los nutrientes (por acción de microalgas) (Elmewaky et al., 2014, Lobato et al., 2013, Gonzales del Campo et al., 2013). En la **Figura 10** se ilustra una celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas.



**Figura 10.** Celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas

La celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas es un sistema que pertenece a la familia de celdas microbianas de combustible fotosintéticas (Rosenbaum et al., 2010, Elmewaky et al., 2014, Powell et al., 2011).

Una celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas presenta las siguientes ventajas:

- El oxígeno generado por las microalgas sustituye a los sistemas de aeración, permitiendo un ahorro de energía (Venkata Mohan et al., 2014, Gonzales del Campo et al., 2013, Liu et al., 2014, Elmewaky et al., 2014)
- Las microalgas ayudan a reducir las emisiones de  $CO_2$  por medio de la fotosíntesis (Elmewaky et al., 2014)
- Las microalgas pueden aprovechar el  $CO_2$  emitido por la celda, lo que resulta en una tecnología de producción de electricidad libre de emisiones de carbono. A este sistema se le suele llamar celda microbiana de captura de carbono (Wang et al., 2010, Zhou et al., 2012)
- Tratamiento de aguas residuales: remoción de nutrientes y materia orgánica de un agua residual (Elmewaky et al., 2014, Lobato et al., 2013)
- La biomasa producida a partir de algas se puede ocupar para la producción de: combustibles, pigmentos, fertilizantes, etc. (Gouveia et al., 2014)

- La biomasa de las microalgas se puede utilizar para producir electricidad en una celda de combustible microbiana (Cui et al., 2014, Velásquez-Orta et al., 2009)

La celda de combustible microbiana fotosintética con microalgas son una tecnología atractiva que permite la generación de electricidad, la fijación del CO<sub>2</sub>, la remoción de contaminantes y la producción de biomasa de microalga. Sin embargo es una tecnología que requiere más estudio para su escalamiento (Elmewaky et al., 2014). Se presentan casos de estudio de este tipo de celdas en la **Tabla 7**. En la **Figura 11** se ilustran celdas de combustible microbianas con cátodo oxigenado por microalgas

**Tabla 7. Celdas microbianas fotosintéticas con cátodo asistido por microalgas reportadas en la literatura**

Sustrato alimentado	Inoculo (ánodo)	Microalga utilizado	Potencia alcanzada	Referencia
Glucosa (1g/L)	Lodo anaerobio	<i>Chlorella vulgaris</i>	2485.35 mW/m <sup>3</sup>	Zhou et al. (2012)
Glucosa (1g/L)	Bacteria preacimatada de agua residual por alimentación con glucosa	<i>Chlorella vulgaris</i>	5.6 W/m <sup>3</sup>	Wang et al. (2010)
Acetato (2g/L)	Agua residual doméstica	<i>Scenedesmus obliquus</i>	153 mW/m <sup>2</sup>	Kakarla and Min (2014)
Biomasa de <i>Scenedesmus Obliquus</i>	Lodo anaerobio activado	<i>Chlorella vulgaris</i>	1926 mW/m <sup>2</sup>	Cui et al (2014)
Agua residual sintética (glucosa 161mg/L, fructosa 161mg/L)	Lodo activado de planta de tratamiento	<i>Chlorella vulgaris</i>	13.5 mW/m <sup>2</sup>	Gonzales del Campo et al (2013)
Acetato (1g/L)	Lodo anaerobio activado	<i>Chlorella vulgaris</i>	187mW/m <sup>2</sup>	Liu et al (2014)
Acetato (20mM)	Agua residual municipal	<i>Chlorella vulgaris</i>	62.7 mW/m <sup>2</sup>	Gouveia et al (2014)



(a) Celda microbiana de captura de carbono ( Wang et al., 2010)



(b) Celda microbiana de captura de carbono ( Liu et al., 2014)



(c) Celda de combustible microbiana con cátodo asistido por microalgas (Gouveia et al., 2014)

**Figura 11.** Celdas de combustible microbianas con cátodo asistido por microalgas

### 1.5 Tratamiento de agua residual con microalgas

Las microalgas tienen un papel importante en el tratamiento de aguas residuales en sistemas de lagunas de estabilización. Mediante la fotosíntesis producen oxígeno y capturan el  $\text{CO}_2$  producido por la oxidación de la materia orgánica, las bacterias aerobias presentes en la laguna de estabilización ocupan el oxígeno producido fotosintéticamente para oxidar la materia orgánica del agua y aportan  $\text{CO}_2$  para el crecimiento de la biomasa microalgal (Quiroz Arita et al., 2015). Adicionalmente remueven los nutrientes presentes en el agua residual los cuales causan eutrofización de los cuerpos de agua como: lagos, ríos y mares (Martínez et al., 2000). La eutrofización ocasiona la muerte de los organismos que habitan en estos ecosistemas.



Las microalgas asimilan el nitrógeno en su forma amoniacal o como nitratos (Quiroz Arita et al., 2015), también remueven el fósforo durante su crecimiento.

Durante su actividad fotosintética incrementan el pH del agua favoreciendo la desinfección de patógenos y la remoción de nutrientes mediante la volatilización del amonio y la precipitación de los orto fosfatos (Muñoz and Guieysse, 2006).

## **1.6 Las microalgas como fuente de bioenergía**

El cultivo de microalgas es una alternativa para la producción de biodiesel que ha recibido mucha atención en años recientes (Singh and Gu, 2010, Lam and Lee, 2012). La biomasa de microalgas también puede ser ocupada para la producción de productos farmacéuticos y alimenticios (Singh and Gu, 2010, Pandey et al., 2014).

En adición las microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles ofrece beneficios ambientales como:

- Utilización efectiva de la tierra, evitando una mayor deforestación (Pandey et al., 2014). Se puede realizar cultivos en terrenos que no son fértiles (Demirbas and Demirbas, 2011, Singh and Gu, 2010)
- Tienen rápida velocidad de crecimiento. Poseen una velocidad de crecimiento exponencial en la que pueden duplicar su biomasa en periodos cortos como 3.5 h
- Acumulan altas cantidades de lípidos y carbohidratos dentro de sus células. Por lo que son una opción atractiva para producir: biodiesel, bioetanol y biometano respectivamente
- Captura del CO<sub>2</sub> (Lam and Lee, 2012)
- Tratamiento y remoción de nutrientes de aguas residuales (Christenson and Sims, 2011, Larsdotter, 2006, Abdel-Raouf et al., 2012)
- No hay competencia con la generación alimenticia (Lam and Lee, 2012, Pandey et al., 2014, Demirbas and Demirbas, 2011)
- No compromete el suministro de agua dulce (Pandey et al., 2014)
- Se pueden producir en cualquier época del año (Singh et al., 2010)
- Posee una alta productividad de aceite comparado con otros cultivos aceitosos.
- Hay un considerable número de especies que poseen un porcentaje base seca de aceite en el intervalo 20-50%
- Consumen menos agua que los cultivos de primera generación

Los combustibles de algas representan una oportunidad estratégica que debe ser desarrollada persistentemente en una fuente de combustibles líquidos de alta densidad de energía renovable y sostenible con el medio ambiente (Pandey et al., 2014). Los factores que están impulsando la búsqueda renovada de combustibles de algas son: La preocupación por el agotamiento del petróleo; el deseo de independencia energética; la necesidad de

combustibles renovables que pueden ser producidos sin comprometer el suministro de alimentos y de agua dulce; y la necesidad de evitar una mayor deforestación (Pandey et al., 2014).

La composición de las microalgas se muestra en la **Tabla 8** y el rendimiento de los cultivos a manera de comparación se muestra en la **Tabla 9**.

**Tabla 8.** Composición de microalgas %masa base seca (Dragone et al., 2010)

Especie de microalga	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Botryococcus braunii</i>	40	2	33
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Chorella vulgaris</i>	41-58	12-17	10-22
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	29	14	11
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-39
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Spirulina platensis</i>	42-63	8-14	4-11
<i>Synechoccus sp.</i>	63	15	11
<i>Tetraselinis maculata</i>	52	15	3

**Tabla 9.** Producción de aceite de diferentes fuentes. (Singh et al., 2010)

Cultivo	Productividad de aceite (L/ha)
Maíz	172
Frijol de soya	446
Cacahuete	1059
Canela	1190
Colza	1190
Jatropha	1892
Piñon	2590
Coco	2689
Aceite de palma	5950
Microalgas (70% en peso de aceite)	136900
Microalgas (30% en peso de aceite)	58700

### 1.6.1 Sistemas de cultivo de microalgas

Las microalgas se cultivan en sistemas cerrados o abiertos. La elección de un reactor para cultivo es uno de los muchos factores que influyen en la productividad de biomasa de microalgas (Pandey et al., 2014). Los tipos de sistemas abiertos y cerrados se ilustran en la **Tabla 10**.

**Tabla 10.** Sistemas abiertos y cerrados para cultivo de microalgas

Sistemas abiertos	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sistemas de estanque abierto</li><li>• Lagunas de crecimiento de alta tasa</li><li>• Lagunas de estabilización</li></ul>
Sistemas cerrados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fotobiorreactores tubulares</li><li>• Fotobiorreactores de panel</li><li>• Fotobiorreactores de columna vertical</li></ul>

Las diferencias entre sistemas abiertos y cerrados se ilustran en la **Tabla 11**. La elección de un sistema de cultivo depende del tipo de microalga que se

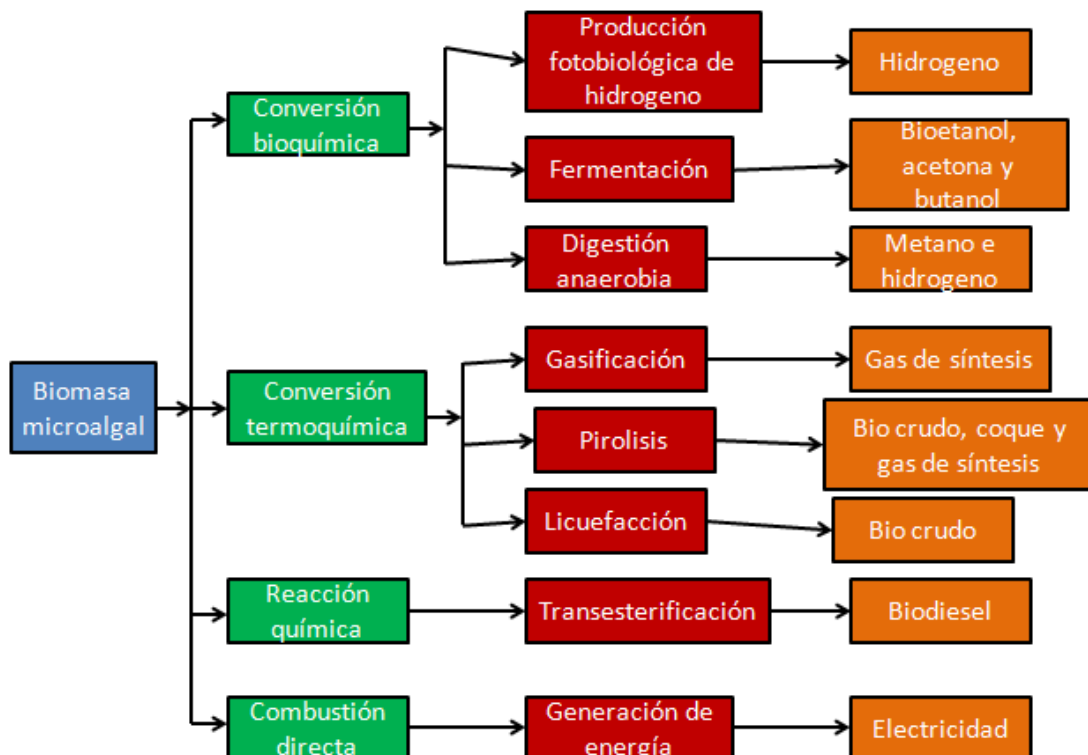
desea cultivar, las condiciones climáticas y el costo de la tierra y agua (Brennan and Owende, 2010)

**Tabla 11.** Diferencias entre sistemas abiertos y cerrados. (Pandey et al., 2014)

Característica	Sistemas abiertos	Sistemas cerrados
Evaporación	Elevada	No hay evaporación
Perdida de CO <sub>2</sub>	Elevada	Baja
Dependencia del clima	Elevada	Baja
Limpieza	Ninguna	Requerida
Capital de inversión	Bajo	Alto

### 1.6.2 Elaboración de biocombustibles con biomasa microalgal

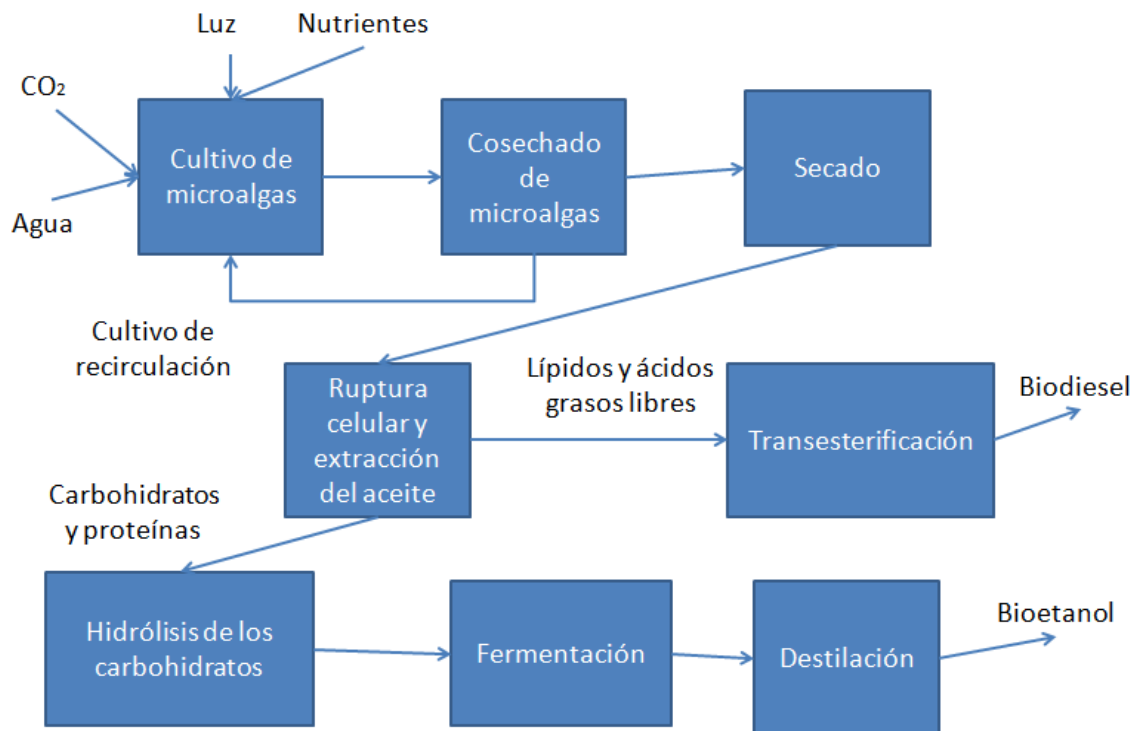
Se siguen una serie de pasos para la elaboración de biocombustibles con biomasa microalgal. El proceso se empieza con el cultivo y se sigue del cosechado y secado de la biomasa. Después del secado existen varios procesos que varían dependiendo del combustible que se quiera producir. Las rutas empleadas para la elaboración de combustibles de microalgas se representan en la **Figura 12**.



**Figura 12.** Procesamiento de la biomasa microalgal (Dragone et al., 2010,

Fournier Gonzales, 2015)

En el caso del biodiesel, se requiere realizar: la extracción del aceite y la reacción de transesterificación. Otras rutas de elaboración de biocombustibles son la fermentación de los carbohidratos para la obtención de bioetanol o la digestión anaerobia para la obtención de biogás e hidrógeno (Dragone et al., 2010). El proceso a seguir para la producción de bioetanol y biodiesel a partir de microalgas se ilustra en la **Figura 13**.



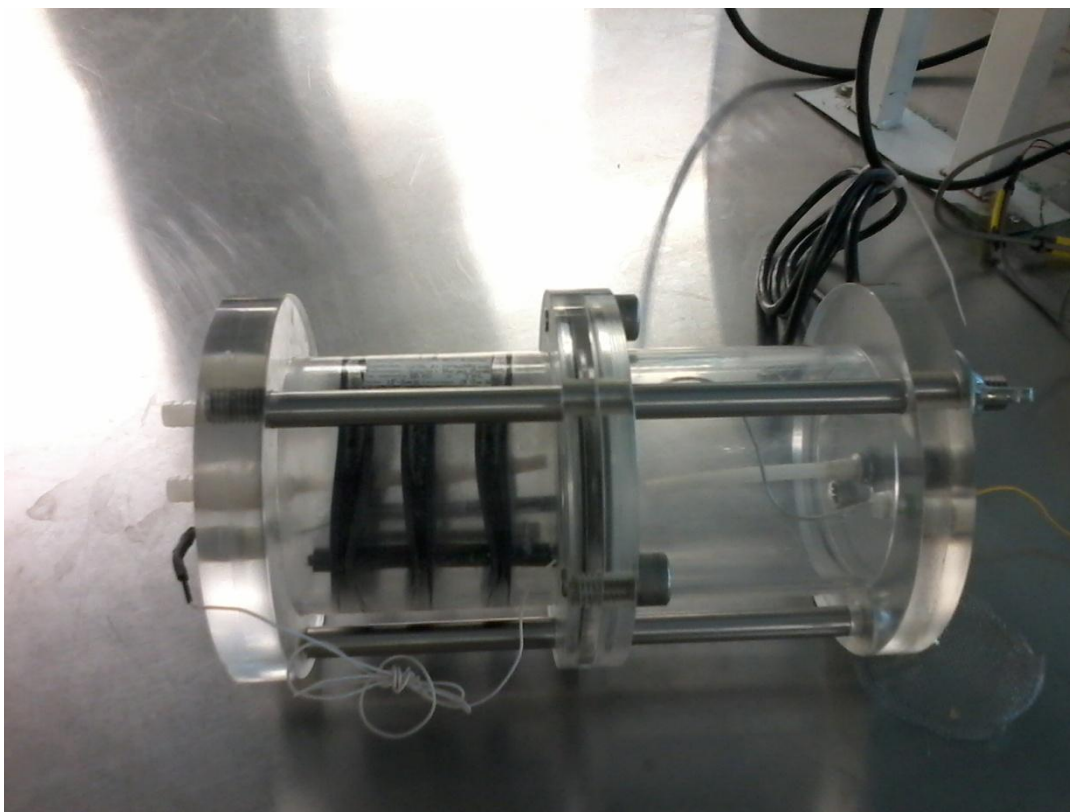
**Figura 13.** Proceso de producción de bioetanol y biodiesel a partir de microalgas. (Dragone et al., 2010)

## **Capítulo 2. METODOLOGÍA**

### **2.1 Diseño y configuración del reactor:**

#### **2.1.1 Diseño del reactor:**

El reactor experimental utilizado en el presente estudio se conforma por 2 cámaras cilíndricas de acrílico de 4 pulgadas de diámetro nominal, 11 cm de longitud y 6 mm de espesor, las cámaras se unieron con tapas de acrílico de 6 pulgadas de diámetro y espesor de 2.4 cm, varillas y tornillos de ½ pulgada de acero inoxidable. Se ocuparon aros sellos de hule para hacer un sello hermético y poder trabajar la condición de anaerobiosis en la cámara anódica, el reactor experimental se aprecia en la **Figura 14**.



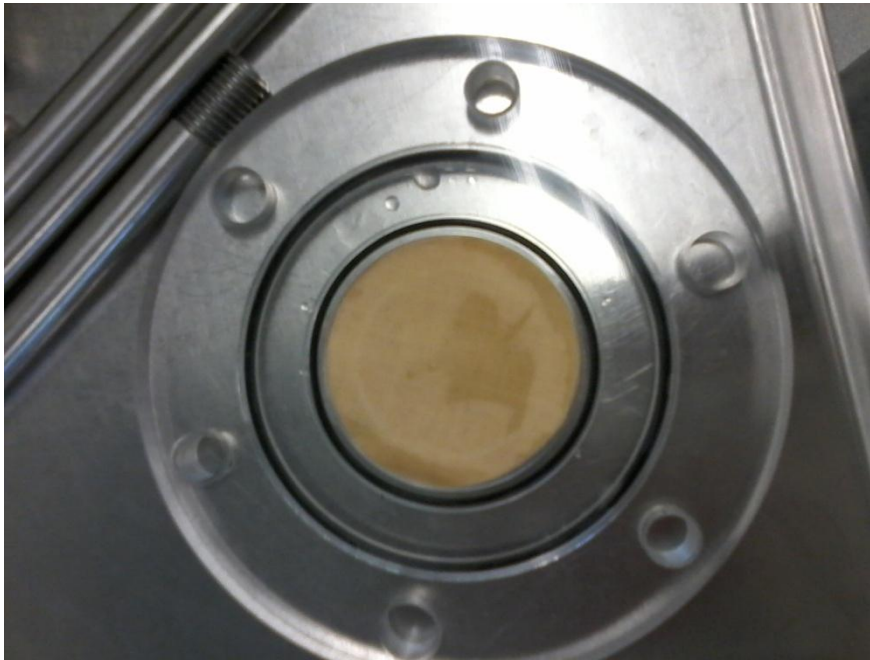
**Figura 14.** Reactor experimental: Celda de combustible microbiana

Las cámaras de la celda son alimentadas por medio de tubos de plástico con perforaciones para mejorar la agitación. La cámara catódica ocupó un tubo sin perforaciones en las primeras etapas de operación, con la introducción de la microalga *Scenedesmus obliquus* como medio de oxigenación se cambió el tubo por uno con perforaciones que promueve un mejor mezclado, disminuye la sedimentación y el ensuciamiento de la pared de la cámara catódica permitiendo el paso de la luz.

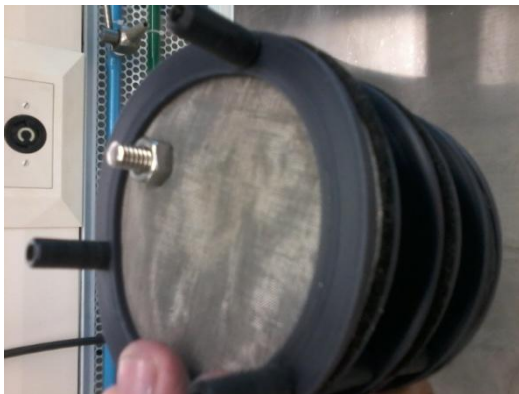
### 2.1.2 Electrodo y conexiones eléctricas:

Los electrodos son fieltros de grafito de forma circular cubiertos con malla de acero inoxidable, ambos electrodos son del mismo material. La malla de acero inoxidable sirve para mejorar la colección de los electrones en la celda y disminuye la resistencia eléctrica del sistema. Los fieltros de grafito recibieron un tratamiento de limpieza con una solución de ácido sulfúrico 1%, los fieltros se sumergieron en la solución de ácido durante 24 horas y después se enjuagaron con agua destilada. El ánodo está compuesto de 3 piezas circulares de fieltro de grafito circular de 8.5 cm de diámetro y 5 mm de espesor cubiertas por malla de acero inoxidable en ambos lados, hay una separación de 2 cm para cada pieza de fieltro, la distancia entre el cátodo y el ánodo es de 2 cm. Los fieltros están soportados por tornillos y anillos de nylon. El ánodo es conectado eléctricamente por un esparrago de acero inoxidable de ¼ de pulgada y tuercas de acero inoxidable que presionan a la malla. El cátodo es una pieza circular de fieltro de grafito de 2 pulgadas de diámetro y 5 mm de espesor cubierta por malla de acero inoxidable y conectada por un tornillo de acero inoxidable unido por tuercas a un cable de nicromel con sellador. El cátodo no contiene un metal precioso como catalizador al igual que las celdas de combustible microbianas con oxigenación por microalgas reportadas por: González del Campo et al., 2013 y Lobato et al., 2013. Las cámaras están separadas por una membrana de intercambio catiónico CMI-7000 (Zhou and He, 2012) proporcionada por la empresa Membranes International Inc, la forma de la membrana es circular con diámetro de 2 pulgadas, la membrana se encuentra colocada en una caja circular dentro de la pared separadora, la pared separadora se muestra en la **Figura 15**. La membrana CMI-7000 recibió el tratamiento de expansión e hidratación indicado en su hoja de especificaciones. La membrana se sumergió durante 12 horas en una solución de cloruro de sodio con concentración de 5%. Los electrodos se aprecian en la **Figura 16**.





**Figura 15.** Pared separadora con membrana intercambiadora de cationes CMI-7000.



(a) Ánodo de la celda



(b) Cátodo de la celda

**Figura 16.** Electrodo de la celda

Los electrodos se conectan por tornillos y tuercas de acero inoxidable unidas a un cable de nicromel aislado con silicón como sellador, la conexión externa está formada por colectores de cobre de calibre 28 conectadas a una resistencia de  $100 \Omega$  para su continua operación (Kakarla and Min, 2014). Para obtener la curva de descarga se conecta a un circuito de resistencias variables ( $10-100000\Omega$ ) y se mide la intensidad de corriente y el voltaje en las resistencias del circuito.



## 2.2 Operación del sistema experimental

Para la cámara anódica se ocupó agua residual municipal como inóculo al igual que los siguientes autores: Gouveia et al., 2014, Kakarla and Min, 2014 y Jiang et al., 2012. El agua residual doméstica utilizada se obtuvo de la planta de tratamiento de la UNAM ubicada en Cerro del agua. La fuente del inóculo de microalgas es un cultivo de *Scenedesmus obliquus* previamente cultivado en agua residual doméstica filtrada. La filtración del agua se realizó ocupando embudos cónicos con fibra de vidrio como primera filtración (Alvarez-Diaz et al., 2015), después se ocupó papel filtro para remover partículas más pequeñas y algunos protozoarios, estas partículas se removieron para tener un mejor paso de la luz y evitar taponamientos en el sistema de alimentación, los protozoarios son removidos debido a que son depredadores de las microalgas. Para mantener el inóculo de micro algas se montaron cultivos ocupando una relación 50:50 (Rodríguez Muñoz, 2015) de agua residual y de microalgas. Los cultivos se muestran en la **Figura 17**.



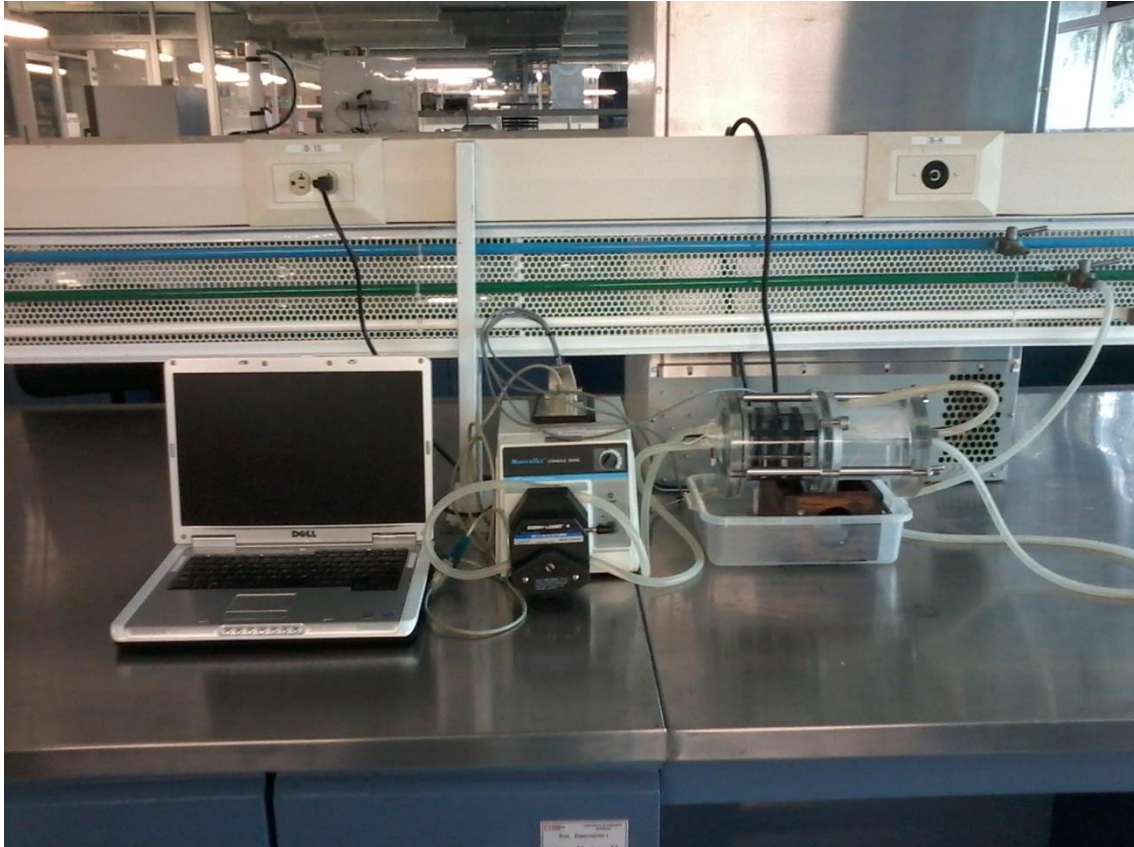
**Figura 17.** Cultivos de *Scenedesmus obliquus* en aguas residuales municipales

El sistema es alimentado con agua residual de la planta de tratamiento de Cerro del Agua. El agua residual es filtrada y burbujeada con nitrógeno por aproximadamente 15 minutos para desorber el oxígeno disuelto y generar un ambiente anaerobio (Kakarla and Min, 2014) después se almacena en recipientes cerrados que se meten a refrigeración a 4 °C. Para alimentar la celda los recipientes con agua residual son calentados a baño maría hasta 25 °C, después de este calentamiento el agua residual es alimentada a la cámara anódica de la celda. La alimentación al sistema es por lote con tiempo de retención hidráulico de 1 día en la cámara anódica.

Ambas cámaras llevan un sistema de recirculación por medio de bombas, con el objetivo de promover el intercambio de gases y la distribución de los

nutrientes por medio de una mejora en el mezclado (Pandey et al., 2014). La cámara anódica es envuelta por papel aluminio para evitar el paso de la luz e inhibir el crecimiento de organismos fotosintéticos que podrían desarrollarse y así como proteger a la bacteria anaeróbica de la luz (Kakarla and Min 2014).

El voltaje es registrado por medio de un datalogger Picotech ACD-16 conectado a una computadora portátil. El sistema experimental con el sistema de medición se muestra en la **Figura 18**.



**Figura 18.** Sistema experimental montado con sistema de medición

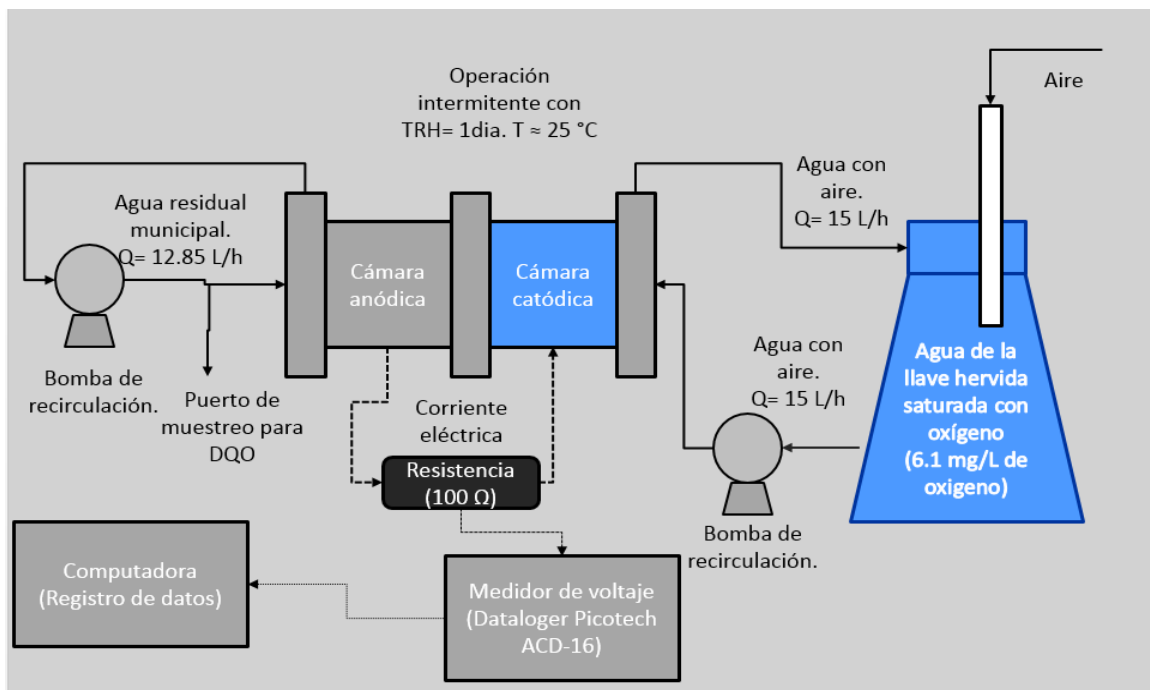
Para la cámara catódica existen 3 etapas distintas de operación: Inicial, Intermedia y Final.

**Etapas 1:** Es una etapa de arranque en el que la celda tuvo un periodo de aclimatación para la formación de biopelícula en el ánodo y estabilización del voltaje producido por la celda, el tiempo de aclimatamiento se estima en un intervalo de 20 a 30 días (Gonzales del Campo et al., 2013).

La cámara catódica es alimentada con agua de la llave con una conductividad eléctrica de 0.5 mS/cm. Antes de su uso el agua fue hervida para remover el cloro residual que puede afectar a los microorganismos al ser un desinfectante, después es enfriada a 25°C y para su uso en la cámara catódica. Durante esta etapa de arranque de la celda la cámara catódica es airada constantemente por medio de una manguera conectada a la línea de aeración del laboratorio, el proceso de aeración se detiene hasta que se estabiliza el voltaje (Liu and Rao 2014).

Durante esta etapa, la especie *Scenedesmus obliquus* fue cultivada en matraces de 1L ocupando una relación 50:50 entre el inoculo y el agua tratada por la celda (Rodríguez Muñiz, 2015), el volumen de cultivo fue de 700 mL. Los cultivos se mantuvieron cerca de la ventana del laboratorio para ofrecer la mayor cantidad de luz natural posible y permitir el paso suficiente de radiación solar (Fournier González, 2015). Además, se ocupó una lámpara fluorescente de 60 W con periodos de iluminación: oscuridad de 12: 12 horas (Fournier González, 2015).

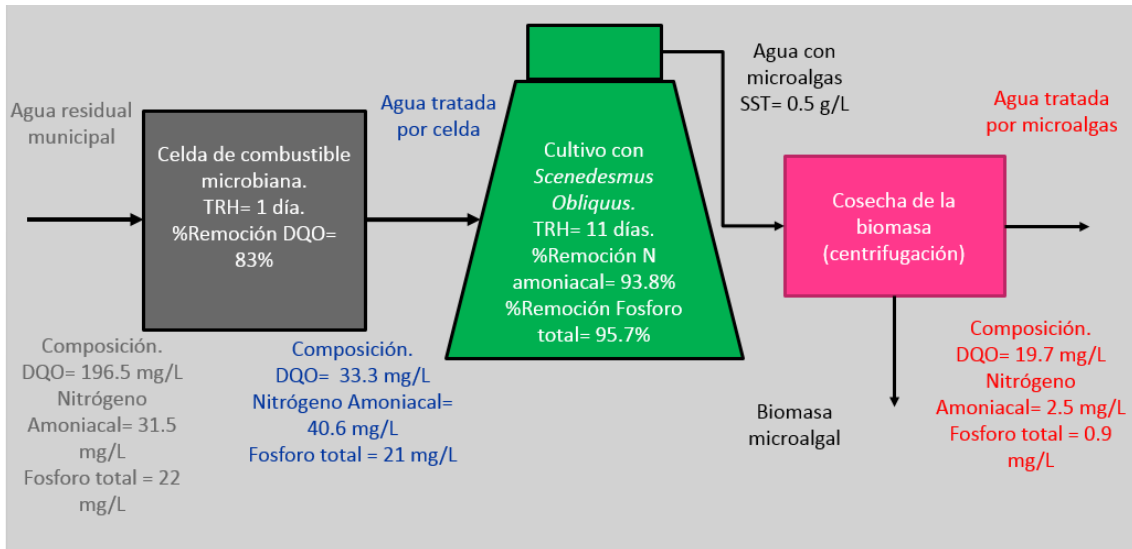
El diagrama operacional de la celda en la etapa inicial se muestra en la **Figura 19**.



**Figura 19.** Diagrama operacional de la etapa inicial de la celda de combustible microbiana.

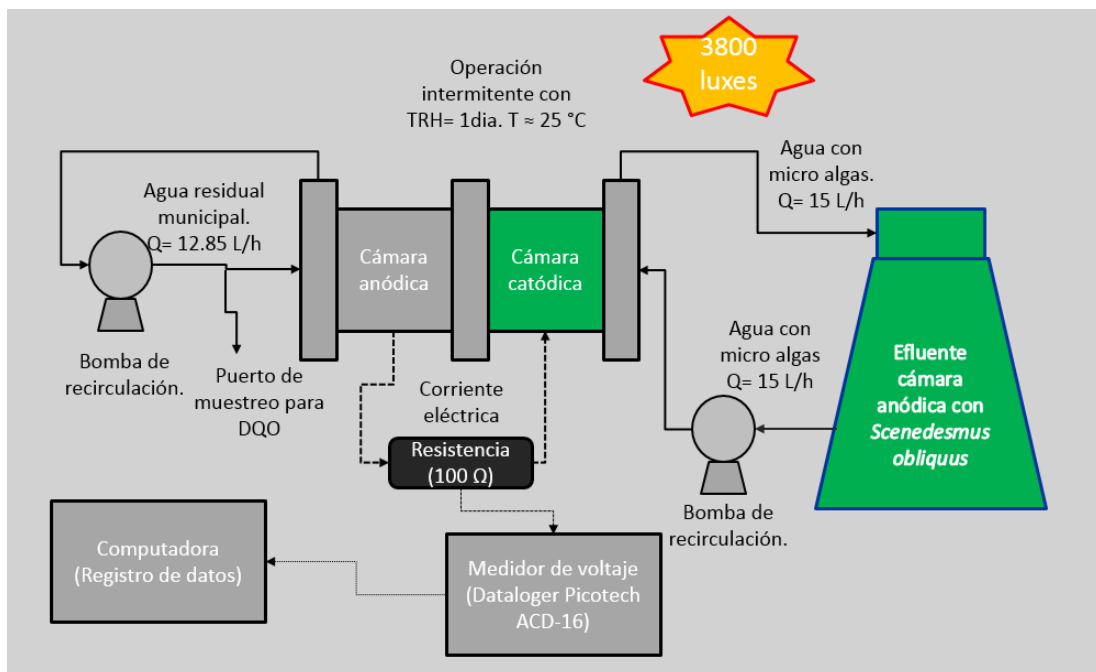
**Etapa 2:** La cámara catódica fue alimentada con agua de la llave hervida con un pH alcalino (pH=10). El pH es ajustado agregando hidróxido de sodio. El ajuste del pH es para simular el valor de pH en el que crece la microalga *Scenedesmus obliquus* y observar si este aumento de pH por la actividad fotosintética de la microalga causa variación en el comportamiento de la celda.

La microalga *Scenedesmus obliquus* continua siendo cultivada en el efluente de la cámara anódica de la misma forma que en la etapa inicial. El esquema de tratamiento del agua efectuado en la etapa inicial e intermedia se muestra en la **Figura 20**.



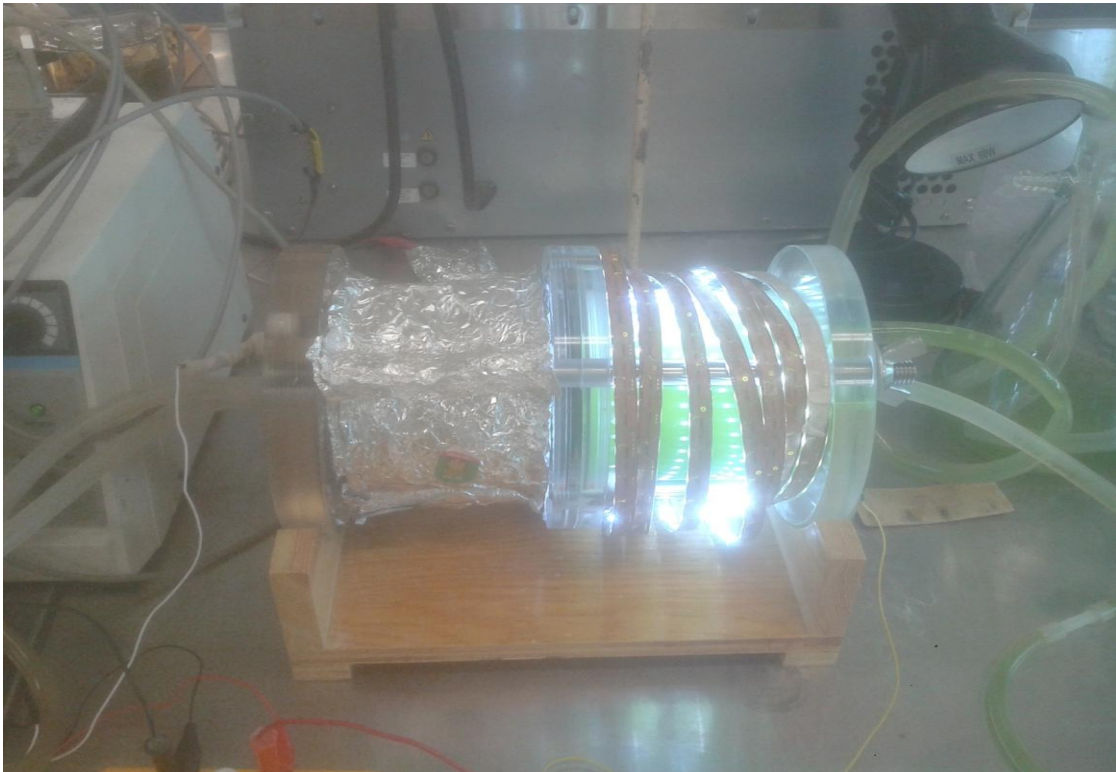
**Figura 20.** Esquema de tratamiento del agua residual en la etapa inicial e intermedia.

**Etapa 3:** Se utilizó *Scenedesmus obliquus* en la cámara catódica como medio de oxigenación, la solución de la cámara catódica está compuesta por el efluente tratado por la cámara anódica e inóculo de microalga, se ocupó una relación de cultivo de 400ml de agua tratada y 500ml de inóculo de microalga. La microalga es iluminada constantemente por una tira de leds con una intensidad luminosa de 3500 luxes. El diagrama de operación de la etapa final está representado en la **Figura 21**. El reactor operando con estas condiciones se ilustra en la **Figura 22**.



**Figura 21.** Esquema operacional experimental de la celda con cátodo oxigenado por microalgas





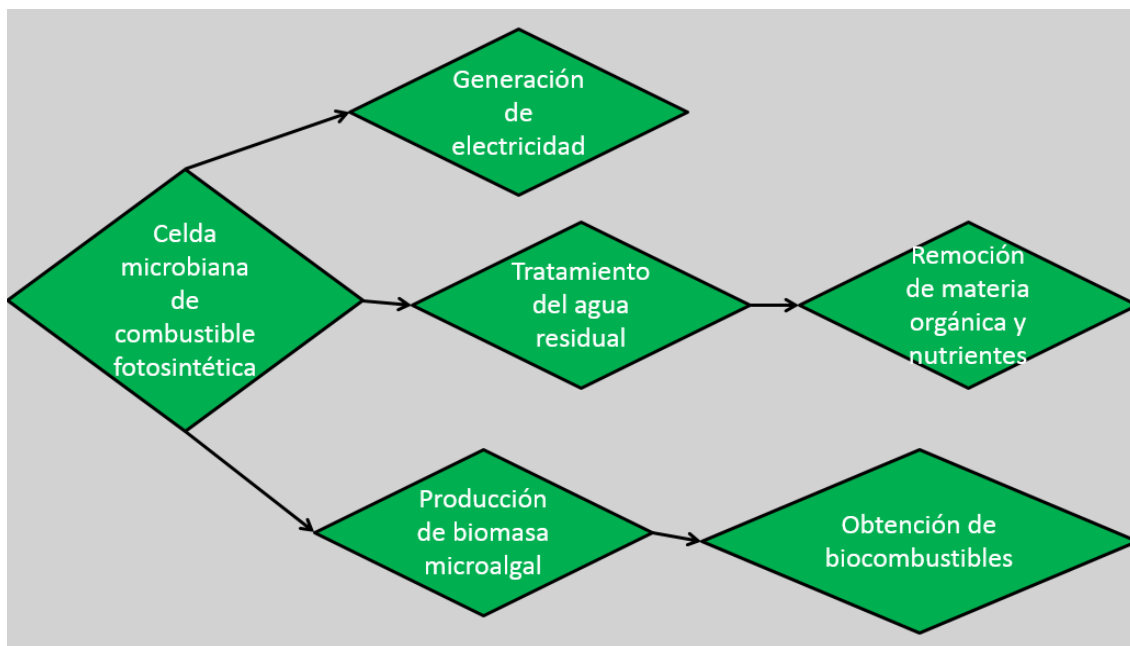
**Figura 22.** Celda de combustible microbiana operando con *Scenedesmus obliquus* como medio de oxigenación

El esquema de tratamiento es el siguiente: el agua residual primero pasa por el compartimento anódico para la remoción de la materia orgánica y después por la cámara catódica para remover nutrientes por medio de las microalgas. La biomasa de *Scenedesmus obliquus* es cosechada por centrifugación y se determina la cantidad de materia orgánica y nutrientes en el agua tratada por el esquema de tratamiento. Se midieron los carbohidratos de la biomasa como indicador energético para producción de biocombustibles (bioetanol y biogás).

### **2.3 Parámetros a seguir y métodos de medición:**

El reactor experimental efectúa 3 funciones principales las cuales se ilustran en la **Figura 23**. Las funciones son evaluadas mediante el seguimiento de parámetros eléctricos, calidad del agua, crecimiento microalgal y contenido de carbohidratos de la microalga producida.

**Parámetros eléctricos:** Son aquellos que miden la generación de energía eléctrica por el sistema. Los parámetros eléctricos y los métodos ocupados se ilustran en la **Tabla 12**.



**Figura 23.** Funciones de la celda microbiana de combustible fotosintética con cátodo oxigenado por microalgas

**Tabla 12.** Parámetros eléctricos

Parámetro a seguir	Método de medición
Conductividad eléctrica	Instrumental ( Conductímetro Hach One Conductivity/TDS Meter Model 4400)
Voltaje	Instrumental. Dataloger Picotech ACD-16
Intensidad de corriente	Calculado por ecuación
Potencia eléctrica	Calculado por ecuación
Eficiencia Coulómbica	Calculado por ecuación
Densidad de corriente eléctrica	Calculado por ecuación
Densidad de potencia eléctrica	Calculado por ecuación

La intensidad de corriente se calcula ocupando la Ley de Ohm que relaciona el voltaje de la celda con la resistencia del circuito. Donde  $I$  es la intensidad de corriente,  $V$  es el voltaje de la celda y  $R$  es la resistencia del circuito

$$I = V/R$$

La potencia eléctrica se calcula como el producto de la intensidad de corriente por el voltaje de la celda.

$$P = I * V = V^2 / R$$

La densidad de corriente se calculó como la intensidad de corriente entre el área de la membrana. Donde  $i$  es la densidad de corriente y  $A$  es el área de la membrana.

$$i = I/A$$

La densidad de corriente se ocupa para construir la curva de polarización de la celda y la curva de potencia. Para la construcción de estas curvas se ocupó el método de un solo ciclo (Velásquez-Orta et al., 2009), que consiste en alimentar una vez la celda y medir variando la resistencia del circuito en un intervalo de tiempo en el que la concentración del sustrato en la celda no se vea afectada por el cambio de voltaje (Velásquez-Orta et al., 2009), se eligió un tiempo de 10 minutos para cambiar cada resistencia. Se ocuparon 13 resistencias en el intervalo 100000-10  $\Omega$  para la construcción de las curvas de polarización y de potencia. La curva de polarización se obtiene graficando el voltaje vs densidad de corriente. La curva de polarización también es conocida como curva de operación. La curva de potencia se obtiene graficando la densidad de potencia vs densidad de corriente.

La densidad de potencia se calcula como la potencia eléctrica entre el área de la membrana.

$$p = P/A$$

La eficiencia Coulómbica representa la cantidad del sustrato que se consumió en el proceso bioelectroquímico y generó electricidad (Logan et al., 2006). La eficiencia Coulómbica para una celda de combustible microbiana en operación intermitente se calcula como la carga generada en el tiempo de operación de la celda entre la carga que se esperaría obtener si todo el sustrato consumido se transformara en carga. Se calcula mediante la siguiente ecuación (Logan et al., 2006, Velásquez-Orta et al., 2009):

$$E_c = \frac{M * \int_0^t I dt}{F * z * v_a * \Delta DQO} * 100$$

Donde  $M$  es el peso molecular del oxígeno  $M= 32\text{g/g-mol}$ ,  $I$  es la intensidad de corriente,  $F$  es la constante de Faraday  $F= 96485.4 \text{ C/mol}$ ,  $z$  es la cantidad de electrones transferidos por mol de oxígeno  $z= 4$ ,  $v_a$  es el volumen de solución en la cámara anódica y  $\Delta DQO$  es la DQO removida por la celda.

**Parámetros de calidad del agua:** Para determinar la cantidad de contaminantes presentes en el agua y sus propiedades fisicoquímicas se dio seguimiento a los parámetros enlistados en la **Tabla 13**.

**Tabla 13.** Parámetros de calidad del agua

<b>Parámetro a seguir</b>	<b>Método de medición</b>
Conductividad eléctrica	Instrumental ( Conductímetro Hach One Conductivity/TDS Meter Model 4400)
pH	Potenciométrico
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Colorimétrico. Método 8000. Hach
Nitrógeno amoniacal	Titulométrico. NMX-AA-026-SCFI-2010
Sólidos suspendidos totales	Gravimétrico. Hach
Fosforo total	Colorimétrico. Método 8190. Hach.
Oxígeno disuelto	Instrumental. Oxímetro
Nitratos	Colorimétrico. Método 8039. Hach

**Parámetros de crecimiento microalgal:** En cada cultivo se dio seguimiento a la producción de microalgas con potencial aplicación para biocombustibles por medio de los parámetros enlistados en la **Tabla 14**.

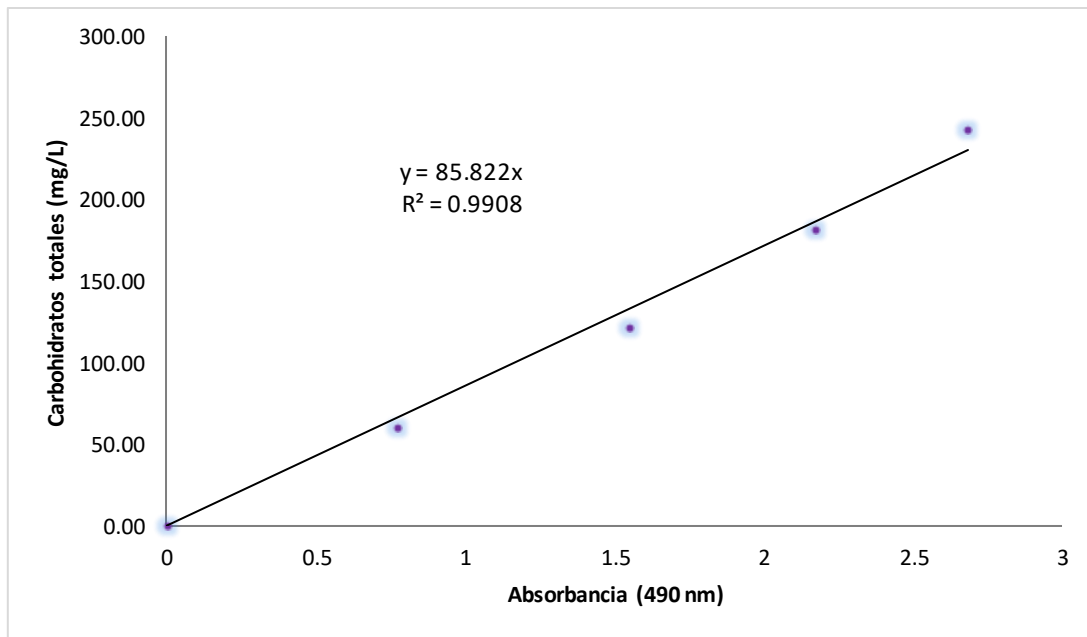
**Tabla 14.** Parámetros de crecimiento microalgal

<b>Parámetro a seguir</b>	<b>Método de medición</b>
Absorbancia a 680 nm	Espectrofotometría. Hach
pH	Potenciométrico
Oxígeno disuelto	Instrumental. Oxímetro
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Gravimétrico
Carbohidratos totales	Colorimétrico. Método Fenol-sulfúrico

**Cuantificación de carbohidratos:** se realizó mediante el método fenol-sulfúrico ocupando la metodología reportada por Fournier González, 2015. Este método se fundamenta en que los monosacáridos en medios fuertemente ácidos y con altas temperaturas sufren deshidrataciones simples y producen derivados del furano que se condensan con el fenol dando origen a compuestos coloridos que pueden ser medidos por un método colorimétrico.



Se tomó 1 mL de muestra (cultivo de microalgas o agua residual) y se le adiciono 1 mL de solución de fenol al 5%. Después se agregan 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y se agito constantemente para someter a la biomasa a una hidrolisis ácida. Se dejó reposar hasta temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 490 nm (Fournier González, 2015). Para determinar los carbohidratos se construyó una curva patrón ocupando diferentes concentraciones de glucosa. Para la determinación de carbohidratos totales se ocupó la curva patrón mostrada en la **Figura 24**.



**Figura 24.** Curva patrón de carbohidratos totales utilizando glucosa.

Para obtener la composición de los carbohidratos de la microalga. Se toma como muestra 1 mL de cultivo y se le aplica el método de fenol-sulfúrico.

Una vez obtenidos los carbohidratos de la microalga se calcula la proporción de estos en la microalga de la siguiente manera:

$$\%Carbohidratos_{cultivo} = \frac{Carbohidratos_{cultivo}}{SST} * 100$$

## 2.4 Evaluación de la bioenergía obtenida

Durante la etapa final, se operó la celda ocupando *Scenedesmus obliquus* en la cámara catódica como medio de oxigenación durante 60 días. Durante este periodo se dio seguimiento a los parámetros eléctricos de la celda, de calidad del agua y de crecimiento microalgal sin tomar en cuenta la composición de la microalga, durante las últimas semanas se midió la composición de carbohidratos en la microalga.

Se montaron experimentos en las últimas semanas para comparar el crecimiento de la microalga y su contenido de carbohidratos bajo 3 condiciones diferentes. Se realizó un triplicado de cada experimento. Las condiciones de los reactores experimentales se describen a continuación:

- **ARM.** Se montó un cultivo de *Scenedesmus obliquus* ocupando 500 mL de inoculo y 400 mL de agua residual doméstica.
- **EC.** Se montó un cultivo de *Scenedesmus obliquus* ocupando 500 mL de inoculo y 400 mL de agua residual tratada por la cámara anódica.
- **Cat.** Se montó un cultivo de *Scenedesmus obliquus* ocupando 500 mL de inoculo y 400 mL de agua residual doméstica. El cultivo fue alimentado a la cámara catódica como medio de oxigenación.

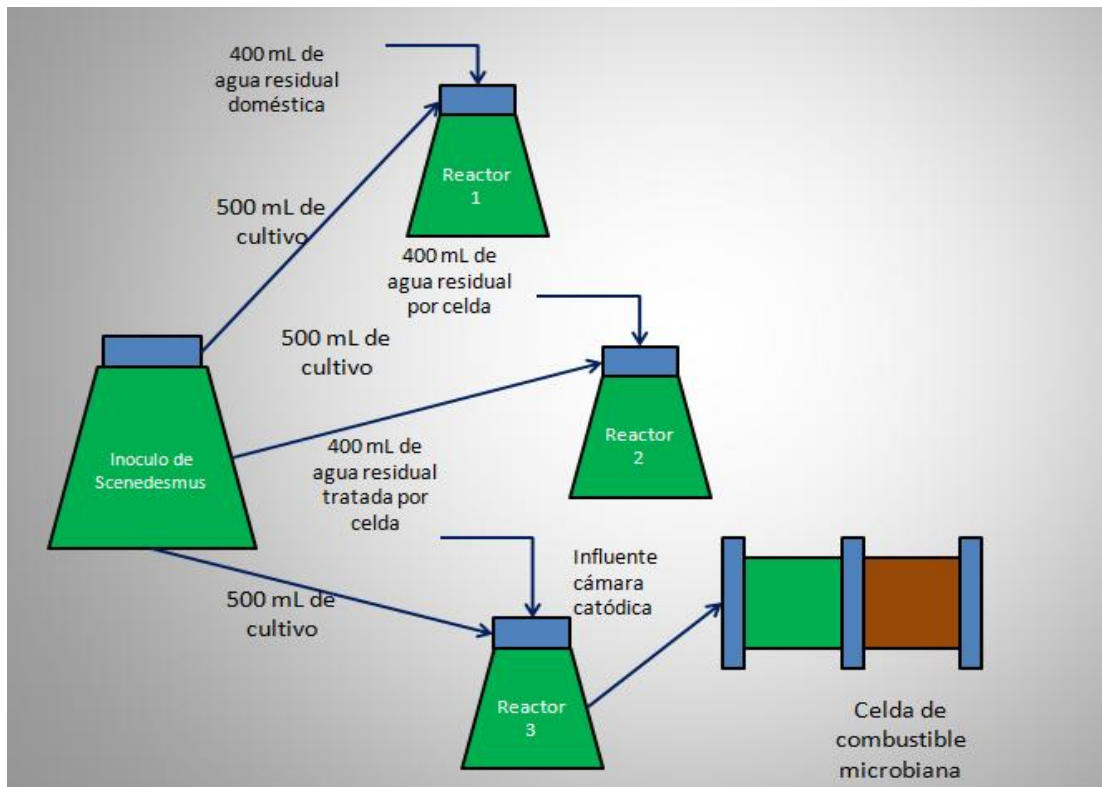
Para todos los reactores se ocupó el mismo inoculo de microalga.

Entre los reactores **ARM** y **EC** se comparó la cantidad de bioenergía potencial variando el tipo de agua residual y conservando la misma condición de iluminación. La cual fue mantener el cultivo cerca de la ventana y con una lámpara fluorescente de 60 W con periodos de iluminación: oscuridad de 12: 12 horas (Fournier González, 2015). La condición de iluminación para la microalga dentro de la cámara catódica fue por medio de leds con una intensidad luminosa de 3500 luxes y manteniéndose prendidos durante toda la operación.

Entre los reactores **EC** y **Cat** se comparó la cantidad de bioenergía potencial ocupando la misma fuente de nutrientes y viendo el efecto del crecimiento de la microalga dentro y fuera de la celda.

La bioenergía potencial se midió como la cantidad de carbohidratos presentes en la microalga cultivada en cada una de estas 3 condiciones.

El arreglo experimental se muestra en la **Figura 25**.



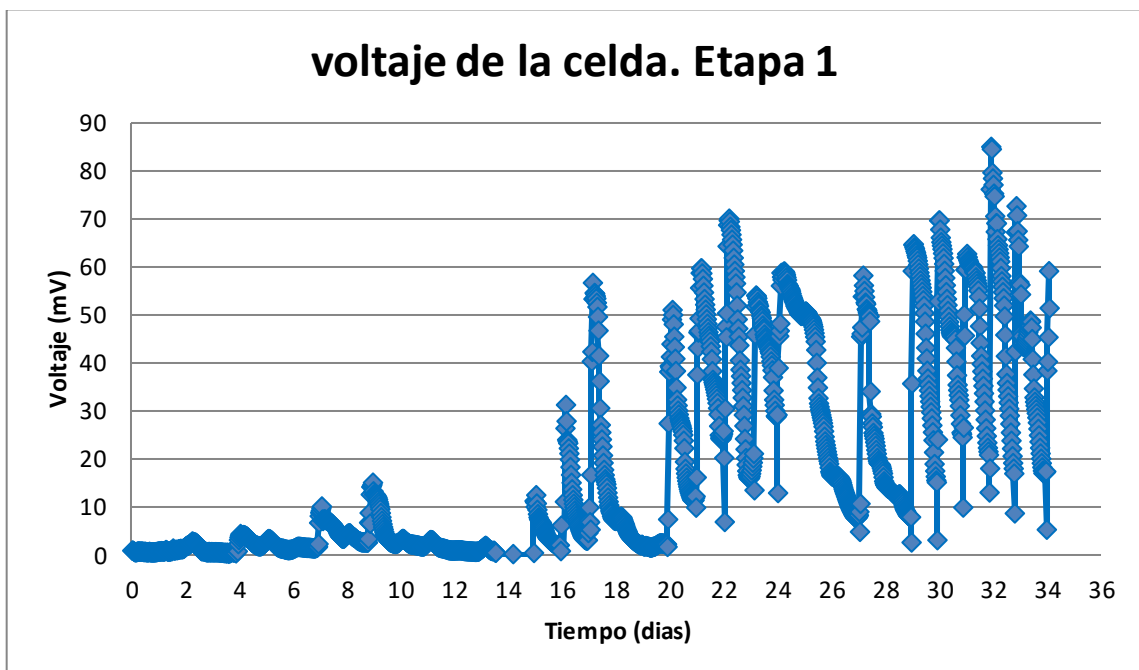
**Figura 25.** Arreglo experimental para el estudio de la bioenergía generada en la celda de combustible microbiana

Después de realizar las pruebas se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ , ocupando el programa Minitab 17.

## Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Etapa de arranque y estabilización de la celda de combustible microbiana

Durante la etapa inicial de arranque de la celda, el voltaje fue creciendo poco a poco con cada ciclo, la corriente eléctrica se generó por la actividad de los microorganismos electrogénicos contenidos en el agua residual municipal, el crecimiento del voltaje con cada ciclo fue indicador de la formación de una biopelícula en el ánodo, esta biopelícula de microorganismos es la que permite la generación de electricidad a partir de la degradación de la materia orgánica presente en el agua residual municipal. El voltaje generado por la celda de combustible microbiana en la etapa de aclimatamiento y arranque se registra en la **Figura 26**.



**Figura 26.** Voltaje producido por la celda de combustible microbiana en la etapa de arranque y estabilización.

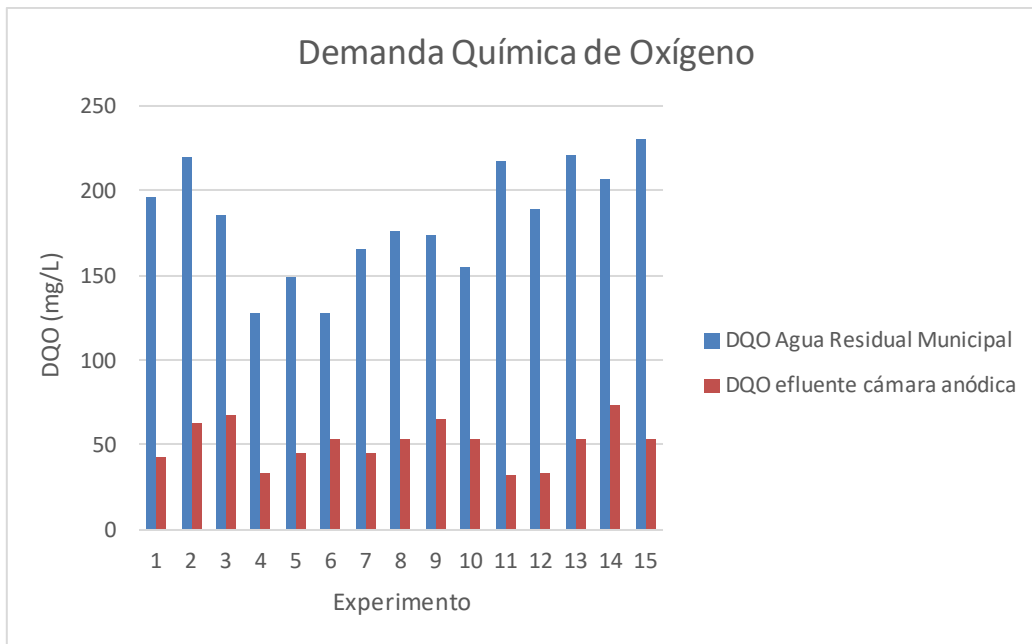
Después de 20 días el voltaje máximo alcanzado por la pila comenzó a tomar valores cercanos con cada ciclo, siendo esto un indicador de que la biopelícula en el ánodo se había formado y el periodo de estabilización de la celda se había completado, el tiempo que tardó en estabilizarse fue mayor al reportado por Rodrigo et al., 2007 que fue de 10 días y muy similar al reportado por Buitrón and Cervantes-Astorga, 2013. Gonzáles del Campo et al., 2013 reporta que el periodo de estabilización de una celda de combustible microbiana es aproximadamente de 20-30 días.

El voltaje máximo en esta etapa fue de 84.25 mV. Con cada ciclo el voltaje tiende a disminuir con el tiempo esto es porque la materia orgánica es consumida por los microorganismos. El voltaje de la celda es dependiente de la cantidad de sustrato presente en el agua residual alimentada y de las pérdidas

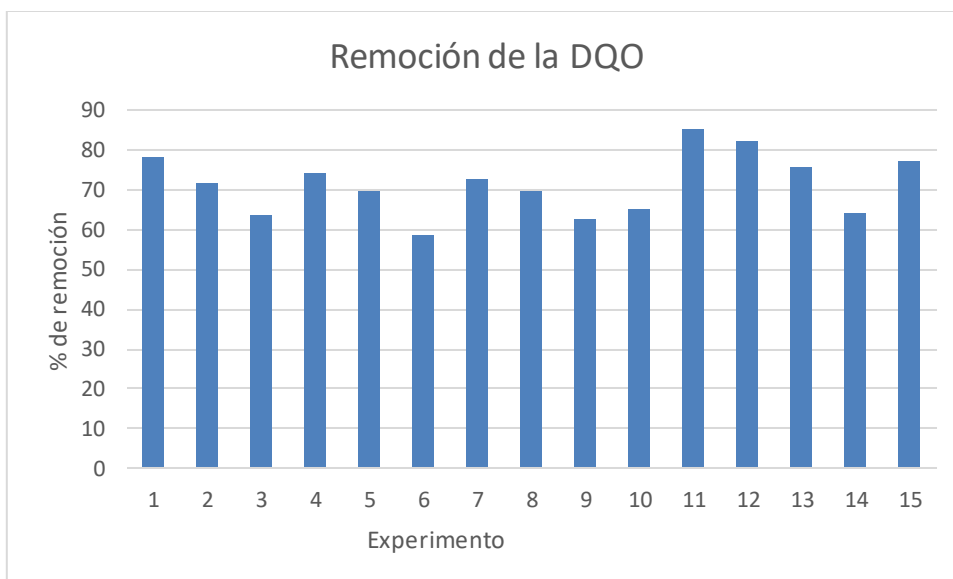
del voltaje que ocurren por: activación, resistencias óhmicas de la celda y transferencia de materia del sistema. El comportamiento del voltaje en el sistema fue similar al reportado en un estudio realizado con una celda de combustible microbiana de bajo costo que era alimentada con agua residual doméstica mezclada con acetato, el voltaje comenzó a crecer con cada ciclo y se estabilizó después de 20 días de operación en un valor de  $207 \pm 30$  mV y ocupando una resistencia externa de  $8200 \Omega$  (Buitrón and Cervantes-Astorga, 2013).

El agua residual de la cámara anódica se reemplazó cada día, el agua residual municipal alimentada a la celda tuvo una DQO de  $182.8 \pm 27.2$  mg/L, el agua residual doméstica durante esta etapa de aclimatamiento registro una DQO máxima de 230.3 mg/L y una DQO mínima de 128 mg/L. La remoción de la DQO alcanzada por la celda en esta etapa de aclimatamiento fue de  $71.4 \pm 6.1$  %, se alcanzó una remoción máxima de 85.3 % y una remoción mínima de 58.6 %, los resultados obtenidos se ilustran en la **Figura 27**, el porcentaje de remoción para cada experimento se muestra en la **Figura 28**. Los resultados obtenidos son similares a los reportados en la literatura para celdas microbianas de combustible con configuraciones similares. En una celda de combustible microbiana de 2 cámaras para un volumen de 40 litros con electrodos de grafito sin catalizador y tratando agua residual doméstica de una comunidad de Trinidad y Tobago, se alcanzaron remociones de la DQO y  $DBO_5$  en el intervalo de 30-70 % (Tota-Maharaj and Paul, 2015). En otro estudio realizado por Rodrigo et al, 2007 en celda con electrodos de grafito sin catalizador y ocupando un puente salino como membrana se obtuvo una concentración en el efluente de la cámara anódica de 150 mg/L de DQO, la concentración del agua residual doméstica alimentada fue de aproximadamente 300 mg/L de DQO, logrando una remoción aproximada del 50 % de la DQO.

Para las celdas con catalizador en el cátodo se han reportado valores de remoción más elevados que los obtenidos en este experimento y los citados en este documento para celdas sin catalizador.

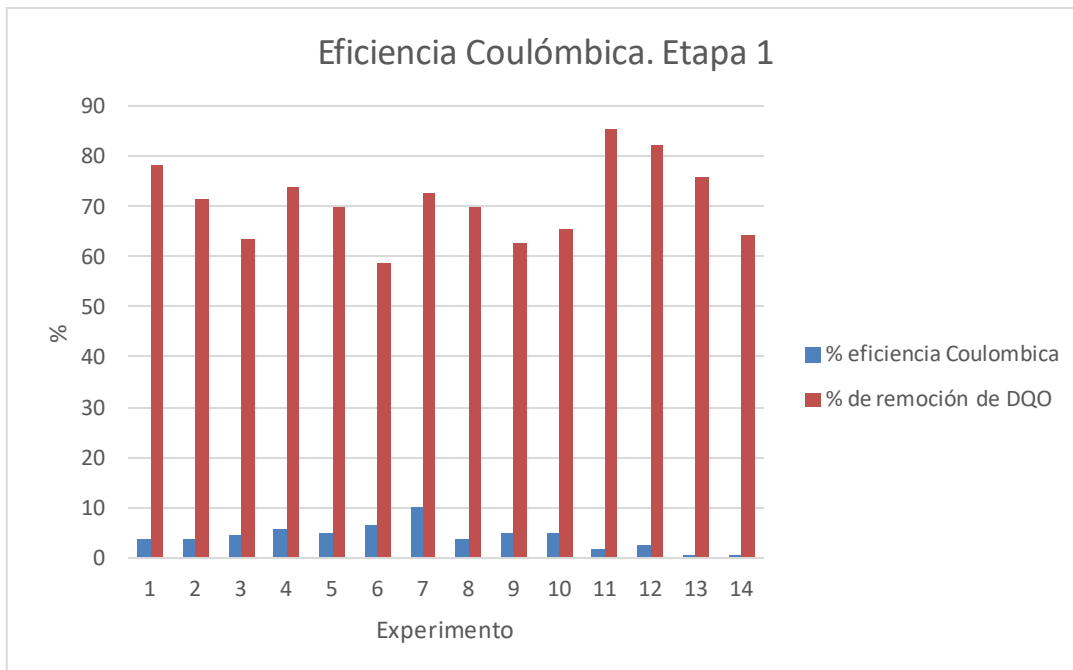


**Figura 27.** Variación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en la etapa de arranque y estabilización de la celda



**Figura 28.** Porcentajes de remoción alcanzados en la etapa de arranque y estabilización de la celda

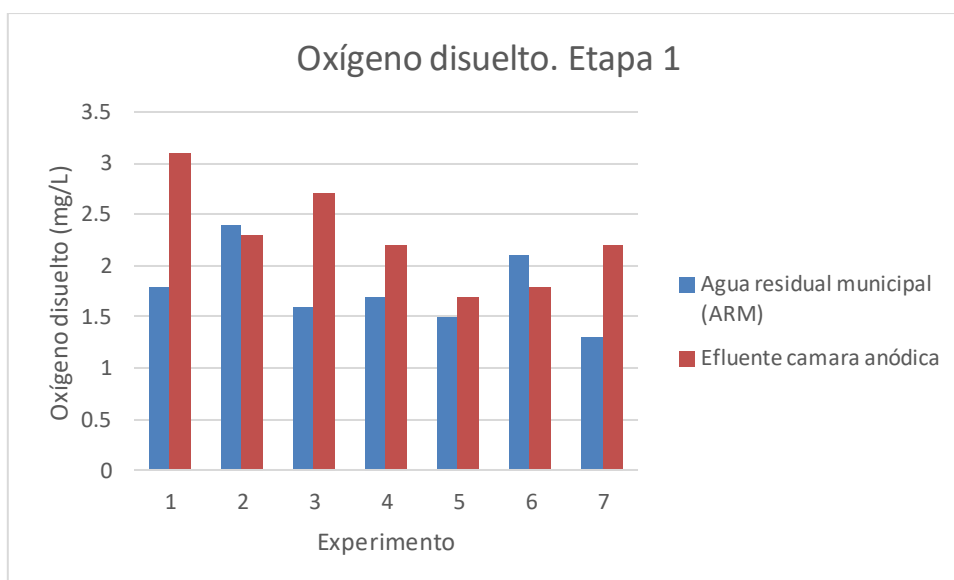
En la etapa de arranque y estabilización se alcanzaron porcentajes de remoción superiores al 50 %. Para poder evaluar cuanto de la materia orgánica fue removida por proceso bioelectroquímico y aprovechada como electricidad se midió la eficiencia Coulómbica de la celda. En la **Figura 29** se muestra el porcentaje removido y el porcentaje de eficiencia Coulómbica obtenida en la etapa inicial. Durante la etapa de arranque y estabilización, la celda alcanzo un porcentaje de eficiencia Coulómbica de  $4.1 \pm 1.8$  %, alcanzando un máximo de 9.9 % y un mínimo de 0.4 %.



**Figura 29.** Eficiencia Coulómbica y remoción en la etapa de arranque y estabilización

Los valores de eficiencia Coulómbica obtenidos para una celda de combustible microbiana alimentada con agua residual domestica suelen ser bajos, aproximadamente menores a 20% (Jiang et al, 2012). Los valores bajos de eficiencia Coulómbica son resultado de que existen otros procesos que intervienen en la remoción de la materia orgánica además de la electrogénesis, los procesos que compiten con la electrogénesis son la metanogénesis, el crecimiento bacteriano (generación de lodos), mecanismos aerobios relacionados con el oxígeno disuelto en la solución anódica o con el cruce del oxígeno a través de la membrana separadora (efecto crossover) y la reducción de otros aceptores de electrones como los nitratos y sulfatos presentes el agua residual doméstica (Rabaey et al 2005, Jiang et al, 2012, Zhang et al, 2013). En un estudio realizado en celdas de combustible microbianas con un volumen de 4 L instaladas en una planta de tratamiento de Milwaukee en Wisconsin bajo las condiciones que opera la planta y alimentadas con el efluente del clarificador primario se realizó un balance de la DQO total para describir los mecanismos de remoción que ocurrieron en las celdas, se obtuvo una eficiencia Coulómbica de 13.2 % y el mecanismo de remoción que más predominó es este sistema fue la remoción acompañada de la reducción de sulfatos ocupando el 37.2% de la remoción de la materia orgánica (Zhang et al, 2013). Durante la experimentación se percibieron malos olores que pueden relacionarse con la generación de  $H_2S$ . Sin embargo, para poder describir los mecanismos que influyen en la remoción de la materia orgánica es necesario hacer un balance de materia considerando todos los elementos y mecanismos que contribuyen a la remoción y contar con las técnicas analíticas para poder medir las concentraciones de las especies involucradas.

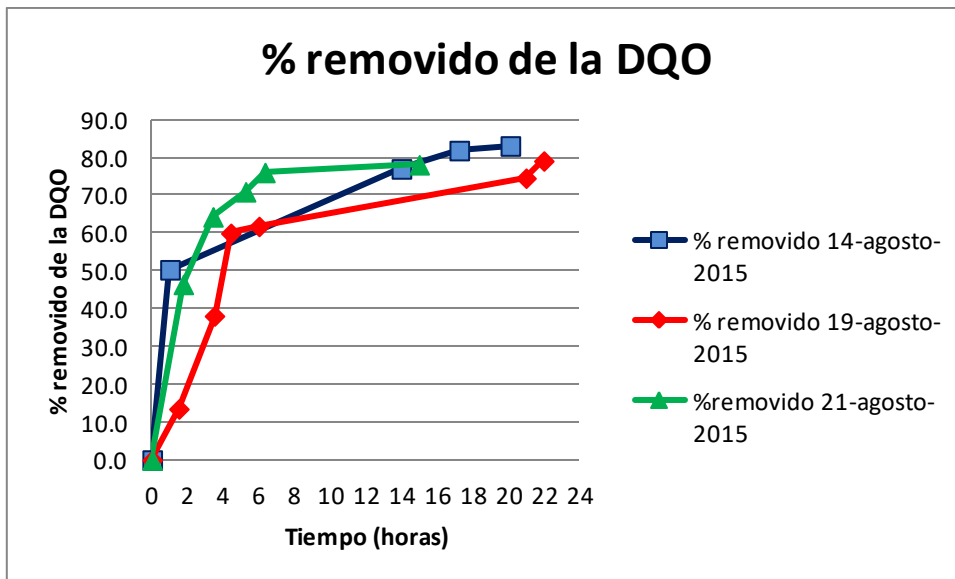
Durante la etapa inicial se dio seguimiento al oxígeno disuelto al principio y al final del tratamiento del agua residual municipal. El objetivo era verificar si existían condiciones aerobias que pueden afectar la producción de electricidad (Rodrigo et al, 2007, Min et al, 2005, Jiang et al, 2012). Los resultados obtenidos se ilustran en la **Figura 30**. Se alimentó un agua residual con una concentración de oxígeno disuelto de  $1.8 \pm 0.3$  mg/L, el efluente de la cámara anódica tuvo una concentración de  $2.3 \pm 0.4$  mg/L de oxígeno disuelto. El oxígeno final fue mayor que el inicial, indicando que hay transferencia del oxígeno a través de la membrana y que esto afecta la generación de electricidad (Liu et al, 2004); el oxígeno disuelto dentro de la cámara es una causa de baja eficiencia Coulómbica. Las celdas de combustible microbianas pueden manejar el oxígeno disuelto por periodos cortos de tiempo (Zhang et al, 2013), lo cual puede ser benéfico para los organismos facultativos de la celda (Zhang et al, 2013), ya que estos pueden ocupar el oxígeno para sintetizar compuestos que les permiten tolerar y crecer en condiciones anóxicas.



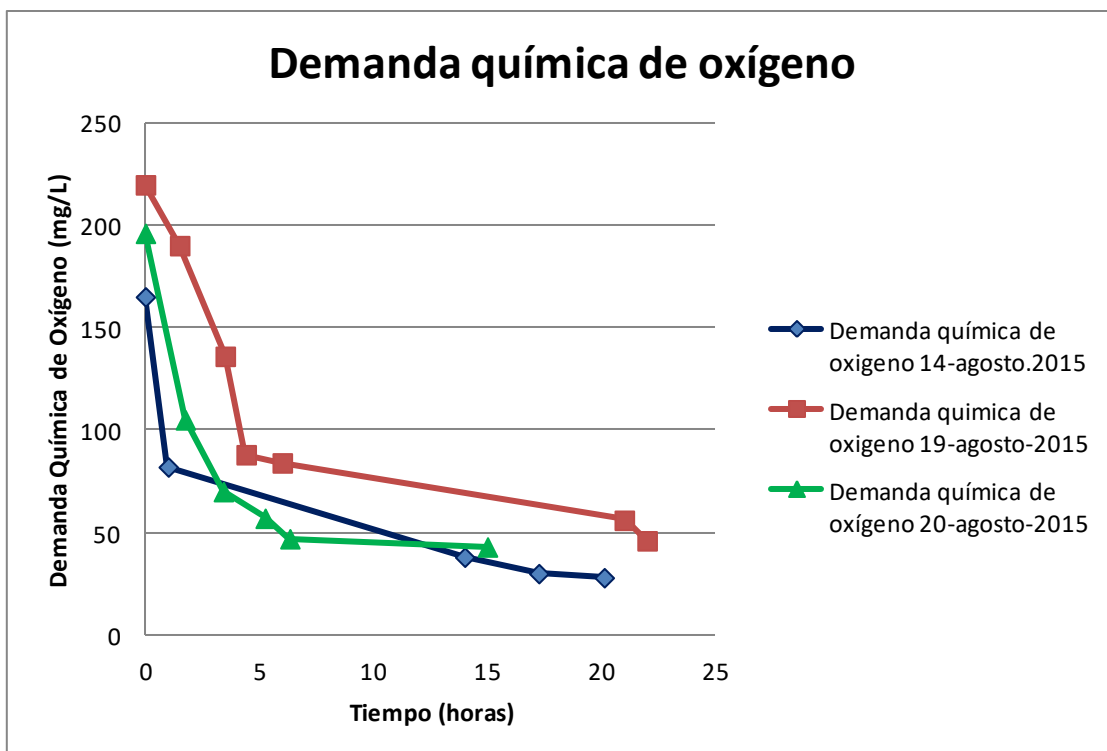
**Figura 30.** Oxígeno disuelto durante la etapa inicial.

Se realizaron corridas de la celda midiendo la DQO a lo largo del tiempo en un ciclo, esto se realizó para encontrar el tiempo de retención hidráulico adecuado para la remoción de la materia orgánica en la celda. Los resultados obtenidos para el porcentaje de remoción se muestran en la **Figura 31** y la variación de la DQO a lo largo del tiempo en la **Figura 32**.





**Figura 31.** Porcentaje removido por la celda de combustible microbiana en la etapa inicial

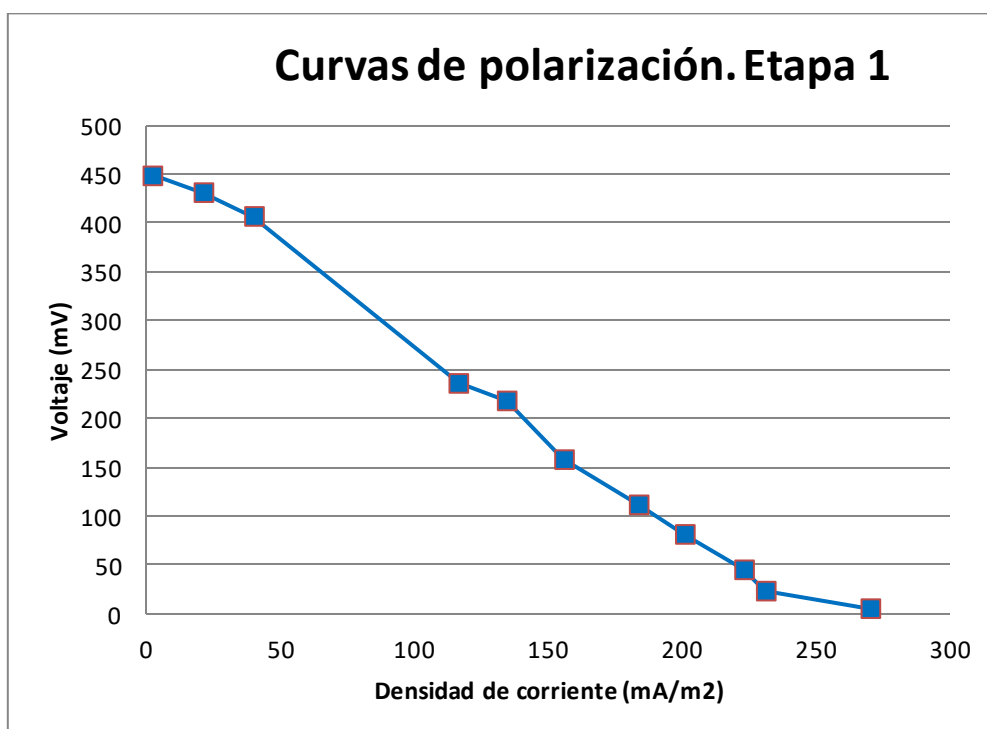


**Figura 32.** Demanda química de oxígeno en la celda de combustible microbiana en la etapa inicial

Se observa que para un tiempo aproximado de 17 horas la remoción de la DQO ya no cambia significativamente, por lo que se puede considerar como un tiempo de retención hidráulico adecuado para la remoción de la materia orgánica.

Esta prueba sirvió para determinar el tiempo para cambiar la resistencia eléctrica del circuito para construir las curvas de polarización y de potencia de la pila. En base a esta prueba se escogió un tiempo de 10 minutos para cada resistencia eléctrica. La construcción de las curvas de polarización y de potencia requiere que la concentración de las especies involucradas en el proceso bioelectroquímico no varíe en el tiempo en que se realizan las mediciones (Velásquez-Orta et al, 2009), ya que se consideran las pérdidas del voltaje al extraer corriente de la celda, pero el voltaje que se considera como referencia es el voltaje a circuito abierto de la celda y este depende de la concentración de cada una de las especies involucradas en las reacciones de óxido-reducción. El voltaje a circuito abierto (VCA) es el voltaje que es medido después de un tiempo cuando no hay corriente que fluya por el circuito (Logan et al, 2006), experimentalmente es cuando la resistencia del circuito es muy grande, y es el valor de voltaje más alto que obtenemos en nuestra celda. El voltaje a circuito abierto se considera como la fuerza electromotriz de la pila. El voltaje se pierde en la celda por 3 mecanismos: pérdidas por activación, pérdidas óhmicas y pérdidas por transferencia de masa

Las curvas de polarización y se muestra en la **Figura 33**.



**Figura 33.** Curva de polarización de la celda de combustible microbiana en la etapa de arranque y estabilización de la celda

La concentración de DQO del agua residual municipal alimentada en la experimentación para construir esta curva fue de 187 mg/L. El voltaje a circuito abierto que se obtuvo fue de 448.52 mV, el cual es similar al reportado por (Rodrigo et al, 2007) con un valor aproximado de 450 mV y ocupando agua residual urbana para una celda sin catalizador en el cátodo; El valor obtenido en la celda es mayor al reportado para una celda elaborada con materiales de

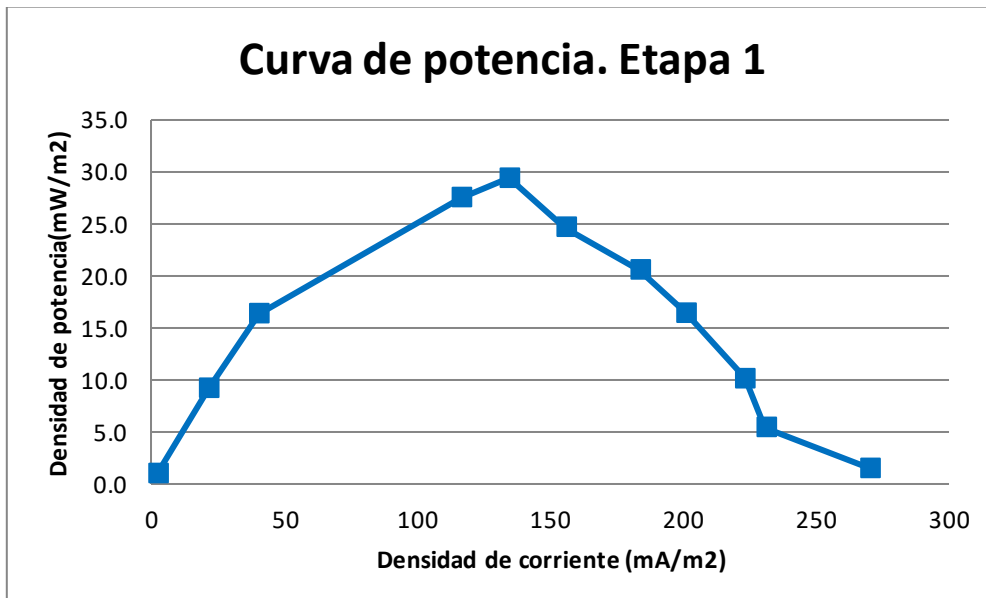
bajo costo y alimentada con agua residual municipal mezclada con acetato (Buitron and Cervantes-Astorga, 2013) que fue de aproximadamente 320 mV para una concentración  $367 \pm 24$  mg/L de DQO. Para otras celdas alimentadas con agua residual doméstica se reportan valores de voltaje a circuito abierto más elevados, (Liu et al, 2004) reporta un voltaje a circuito abierto aproximadamente de 590 mV para una celda alimentada con agua residual doméstica con una concentración de 210mg/L de DQO y ocupando los microorganismos presentes en el agua residual como inoculo. (Anh and Logan, 2010, Jiang et al, 2013) reportaron un valor voltaje a circuito abierto de 800 mV para celdas alimentadas con agua residual doméstica, (Jiang et al, 2013) ocuparon una concentración de  $321 \pm 6$  mg/L de DQO. En la curva de polarización de la celda hay 3 zonas donde se definen las pérdidas de voltaje. La curva de polarización sirve para determinar los mecanismos que afectan la perdida de voltaje en la celda y saber cuál es el mecanismo que predomina por la operación de una celda de combustible una vez que se extrae corriente. La celda de combustible microbiana opero en la región donde predominan las perdidas por transferencia de masa, la celda realizo el tratamiento del agua residual conectada a una resistencia de  $100 \Omega$ , el punto operacional de la celda corresponde al punto con una densidad de corriente de  $278.7 \text{ mA/m}^2$  y un voltaje de 56.48 mV. Este punto en la curva se encuentra a la derecha de la región que es una línea recta y pertenece a la región de pérdidas óhmicas. En la curva de polarización la pendiente de la recta de perdidas óhmicas tiene una gran inclinación prolongada la cual nos indica que hay una gran influencia de la resistencia eléctrica de la pila.

El mecanismo de pérdida de voltaje está relacionado con el diseño de la pila y su operación, dependiendo de los materiales que la conforman, el espaciamiento entre los electrodos, el tipo de conexiones, las conductividades eléctricas del anolito y el catodito, el tipo de separador, la resistencia eléctrica del circuito de la conexión y la concentración de las especies involucradas en las reacciones de óxido-reducción (Logan et al, 2006). Para el diseño de la celda de combustible microbiana se consideró el fieltro de grafito por ser un material neutro, conductor eléctrico y poroso con una gran área superficial que favorece las reacciones electroquímicas y el crecimiento de microorganismos con propiedades electrogénicas. El fieltro de grafito ayuda a disminuir las perdidas por activación al aumentar el área superficial del electrodo (Logan et al, 2006) y al ocupar 3 piezas del lado del ánodo lo que permite tener más área para el crecimiento de microorganismos y aumentar el área para la reacción de oxidación. Una mayor área de electrodo favorece el proceso electroquímico debido a que las reacciones redox en las celdas electroquímicas ocurren en la superficie de los electrodos. En el cátodo tenemos un electrodo sin catalizador, la reacción de reducción del oxígeno es un proceso lento en electrodos de grafito sin catalizador por lo que en estos sistemas va a haber pérdida por activación (Logan et al, 2006). Para el sistema experimental estudiado a pesar de tener un área grande de electrodos para favorecer la reacción de oxidación estos electrodos se encuentran a diferente distancia del cátodo causando un aumento en la resistencia eléctrica interna de la celda que provoca pérdidas

óhmicas (Logan et al, 2006), las pérdidas relacionadas con la resistencia eléctrica se denominan pérdidas óhmicas. Las pérdidas de voltaje por efecto de la transferencia de masa (pérdidas por concentración) influyen cuando la celda opera a altas densidades de corriente y el sistema se ve limitado por la difusión de las especies químicas hacia la superficie de los electrodos (Logan et al, 2006). La resistencia al transporte de masa disminuye con un sistema de mezclado. Sin embargo la celda no tuvo un mezclado no es tan eficiente y hubo formación de sólidos que taparon las salidas del fluido y también se formaron burbujas de aire en el interior de la cámara anódica, al no tener un buen sistema de mezclado se formaran gradientes difusionales.

Considerando los mecanismos de pérdida de voltaje en la celda se puede decir que el diseño propuesto para la celda de combustible microbiana que se estudió no es el óptimo ya que al no tener catalizador el cátodo se van a favorecer las pérdidas por activación, por el efecto de la distancia entre los electrodos se favorecerán las pérdidas óhmicas en el sistema y al no tener un buen sistema de mezclado se favorecerán las pérdidas por concentración a causa de gradientes difusionales en el sistema. El diseño propuesto no resulto ser el adecuado debido a que la configuración de la celda favorece pérdidas de voltaje por los 3 mecanismos.

En la **Figura 34** se presenta la curva de potencia de la pila, en esta curva se alcanza un valor de densidad de potencia máximo de  $29.3 \text{ mW/m}^2$  para una resistencia eléctrica de circuito de  $500 \Omega$ , este valor es similar al reportado por (Rodrigo et al, 2007) con un valor de densidad de potencia de  $25 \text{ mW/m}^2$ . Las celdas de combustible microbianas sin catalizador en el cátodo y ocupando oxígeno como aceptor de electrones dan bajos valores de potencia eléctrica.



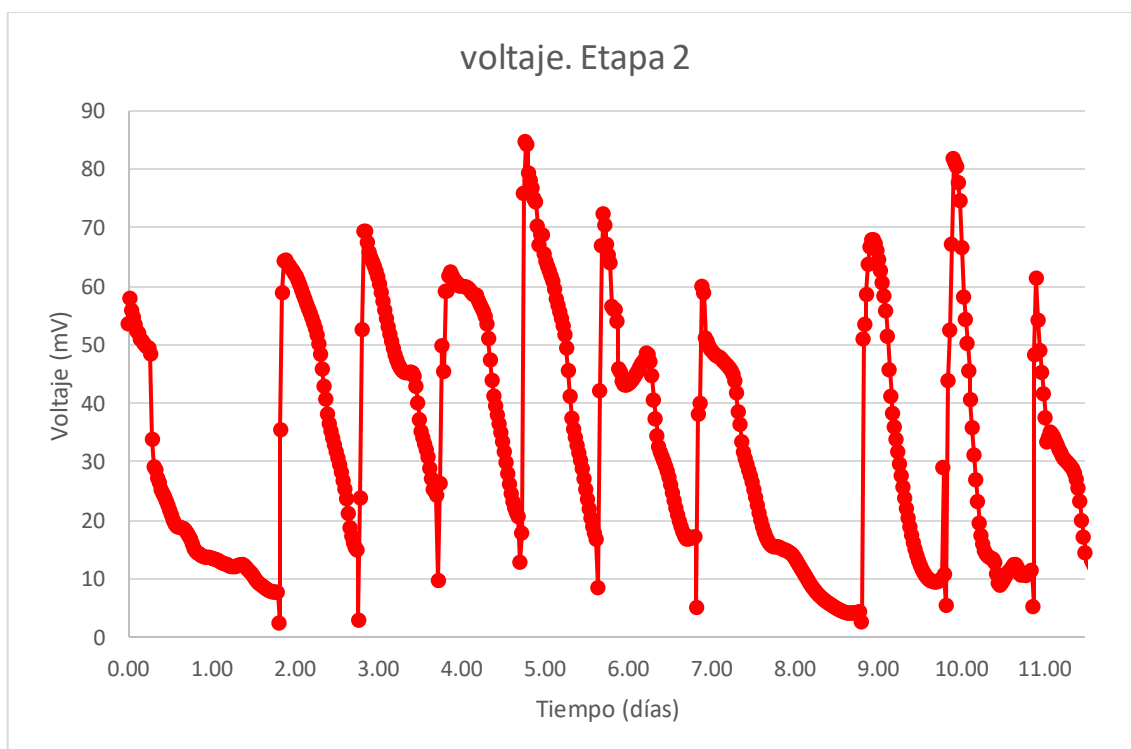
**Figura 34.** Curva de densidad de potencia de la etapa de arranque y estabilización

### 3.2 Etapa intermedia con pH básico

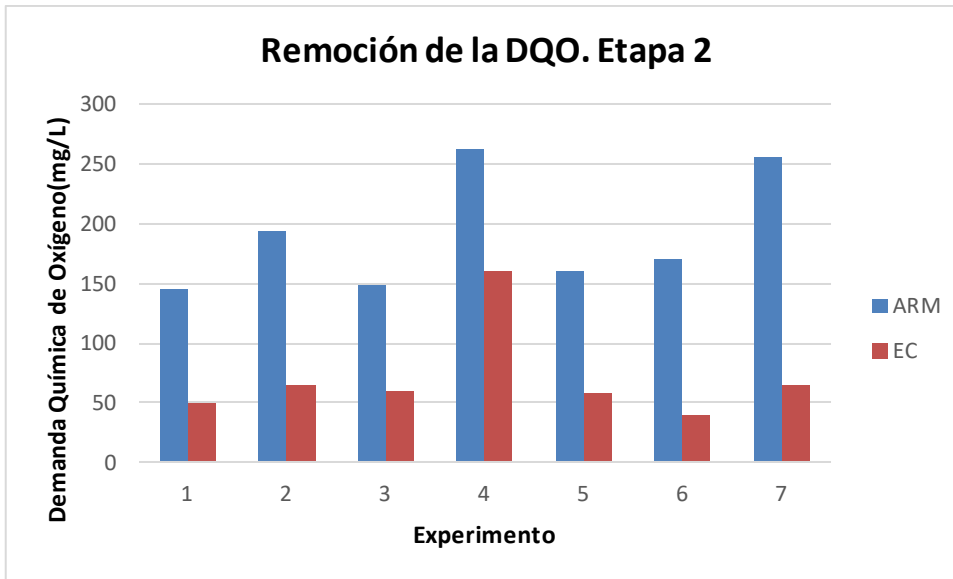
El comportamiento de la celda fue similar al obtenido ocupando agua de la llave hervida como catolito. El voltaje se mantuvo estable manteniendo valores similares a los obtenidos al final de la etapa de arranque y estabilización, y alcanzando un máximo de voltaje de 84.76 mV. El voltaje obtenido por la celda en esta etapa se reporta en la **Figura 35**.

Durante esta etapa se obtuvo una remoción de la DQO de  $63.6 \pm 8.4\%$ , alcanzando un valor máximo de 77.2% y obteniendo un mínimo de 38.8%. La DQO del influente tuvo una concentración de DQO de  $191 \pm 39.7$  mg/L. Los valores de la DQO del influente y el agua tratada se muestran en la **Figura 36** y el porcentaje de remoción alcanzado se muestra en la **Figura 37**.

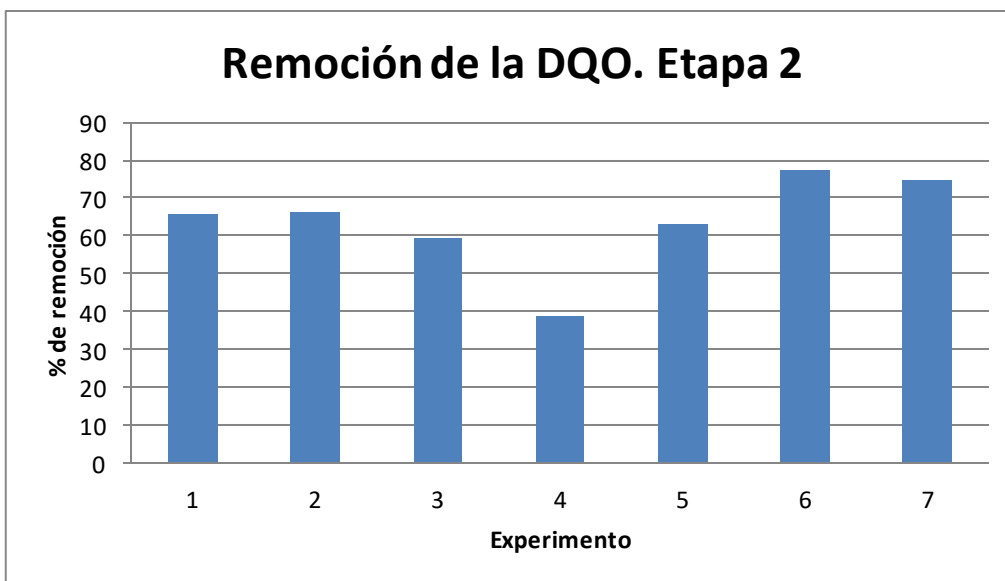
Durante la etapa intermedia se obtuvo un bajo valor de eficiencia Coulómbica bajo al igual que en la etapa de estabilización de la celda. Obteniendo un valor de  $4.6 \pm 0.9\%$  y alcanzando un valor máximo de 6% y un mínimo de 2.7%. La eficiencia Coulómbica obtenida se reporta en la **Figura 38**.



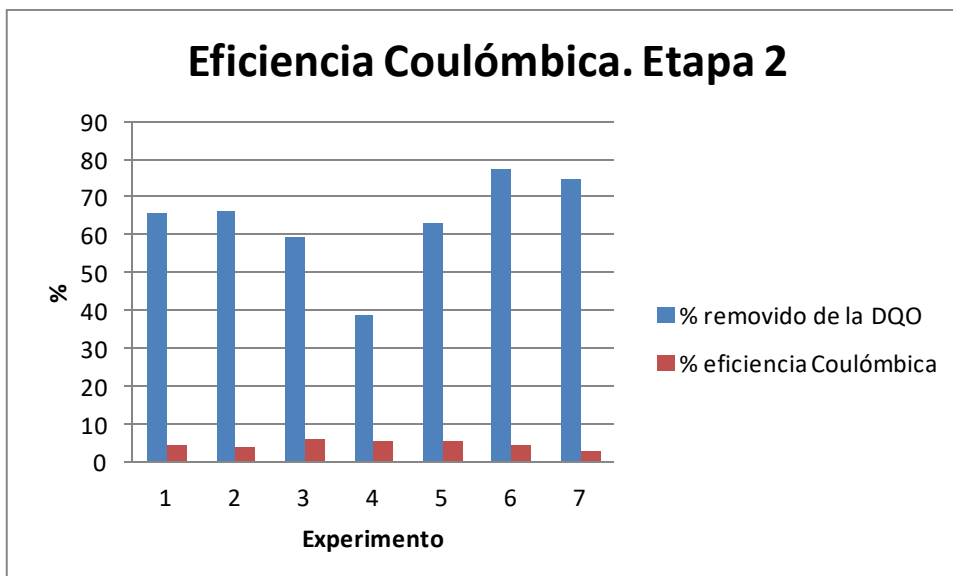
**Figura 35.** Voltaje obtenido por la celda con cátodo con solución alcalina.



**Figura 36.** Remoción de la DQO obtenida en la celda con cátodo con solución alcalina.

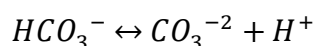
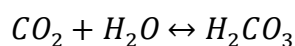


**Figura 37.** Porcentaje de remoción de DQO obtenido en la celda con cátodo con solución alcalina



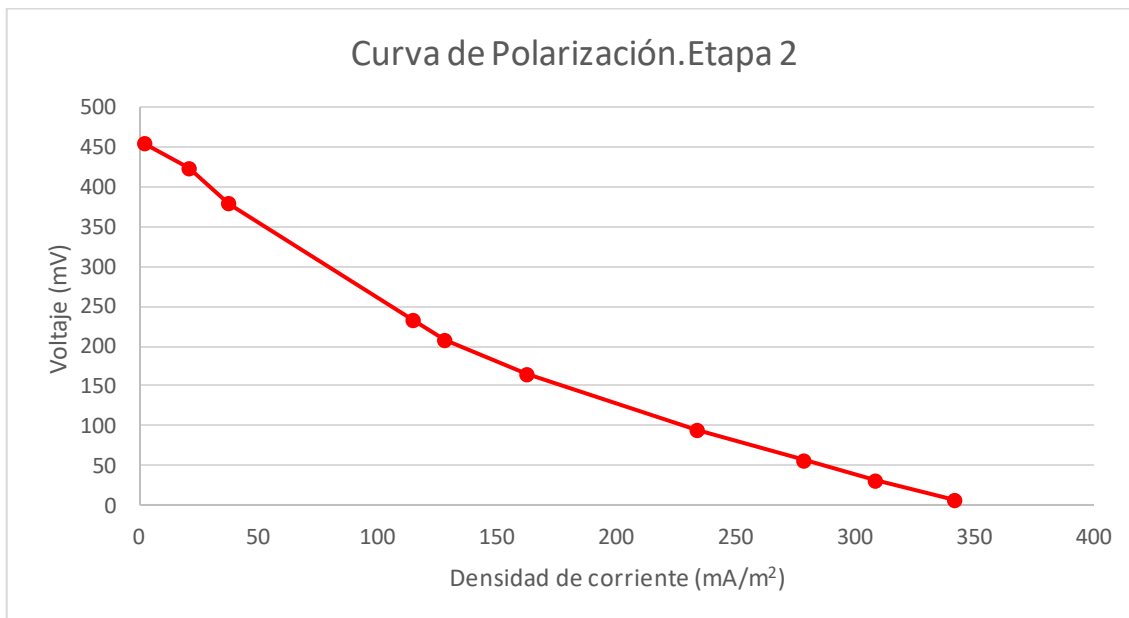
**Figura 38.** Eficiencia Coulómbica y remoción obtenida en la celda con cátodo con solución alcalina

El pH del católito disminuía con el paso del tiempo, pero al mismo tiempo la solución se volvió turbia. El valor inicial de pH en el católito fue de  $10.6 \pm 0.34$  y el valor final obtenido después de un día de operación fue de  $9.52 \pm 0.73$ . El pH disminuyó por la formación de carbonatos que se formaron por la disolución del  $\text{CO}_2$  y las reacciones de ácido-base del  $\text{CO}_2$  del aire que era burbujeadado en la solución básica. Se ha reportado en la literatura que los carbonatos desactivan los sitios activos del catalizador de Pt del cátodo en una celda de combustible microbiana con *Scenedesmus obliquus* oxigenando el cátodo (Kakarla and Min, 2014). Este es un factor importante a considerar ya que la fuente de carbono que se ocupe para alimentar a las microalgas va a causar diferentes condiciones de desempeño. La condición de operación para esta etapa ocupó el valor de pH al que creció la microalga *Scenedesmus obliquus* en el agua tratada por la celda en la etapa de arranque. Sin embargo, la forma de la aeración que se efectúa es distinta ya que el  $\text{CO}_2$  del aire ocasiona que el pH disminuya y se formen carbonatos. Las reacciones ácido-base en las que interviene el  $\text{CO}_2$  son las siguientes:

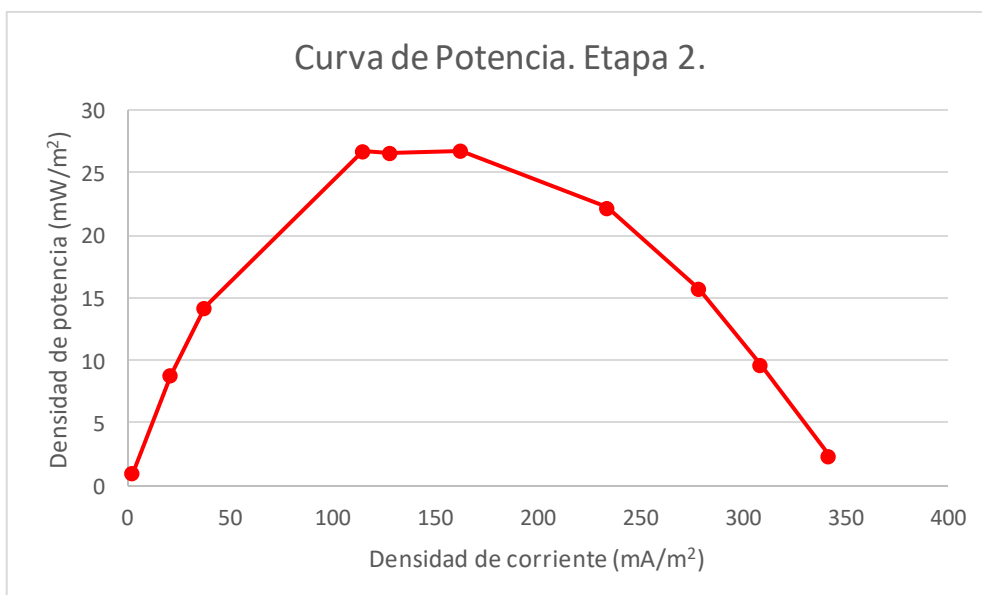


El pH del católito se puede mantener mediante una solución amortiguadora. Al tener las microalgas en solución, las microalgas capturan el  $\text{CO}_2$  y asimilan los carbonatos como fuente de carbono.

Las curvas de polarización y de potencia se muestran en la **Figura 39** y **Figura 40** respectivamente. Se observa que las curvas son muy parecidas a las de la etapa de arranque y estabilización de la celda, se obtuvo un valor de densidad de potencia máximo de  $26.8 \text{ mW/m}^2$ , esto indica que no se vio afectado el perfil de la celda por el cambio de pH en el catolito y que los mecanismos de pérdida de voltaje continuaron siendo los mismos.



**Figura 39.** Curva de polarización de la celda con solución alcalina



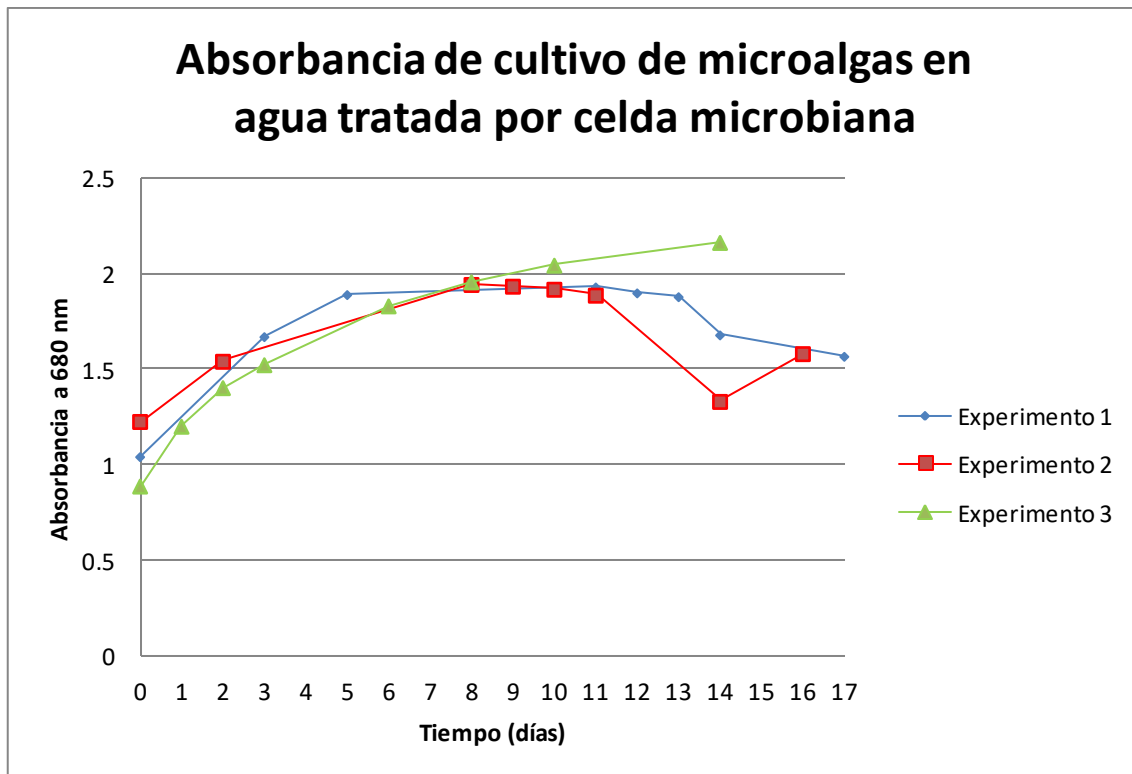
**Figura 40.** Curva de potencia de la celda con solución alcalina



### 3.3 Adaptación de la microalga *Scenedesmus obliquus* en el agua tratada por la cámara anódica de la celda

Antes de la introducción de la microalga como medio de oxigenación del cátodo, se montaron cultivos de *Scenedesmus obliquus* en el efluente de la cámara anódica. En estos cultivos se registró crecimiento por medio del aumento de la absorbancia a 680 nm, SST, el oxígeno disuelto y el pH. Los cultivos fueron montados con inóculo que fue adaptado a crecer en agua residual municipal anteriormente.

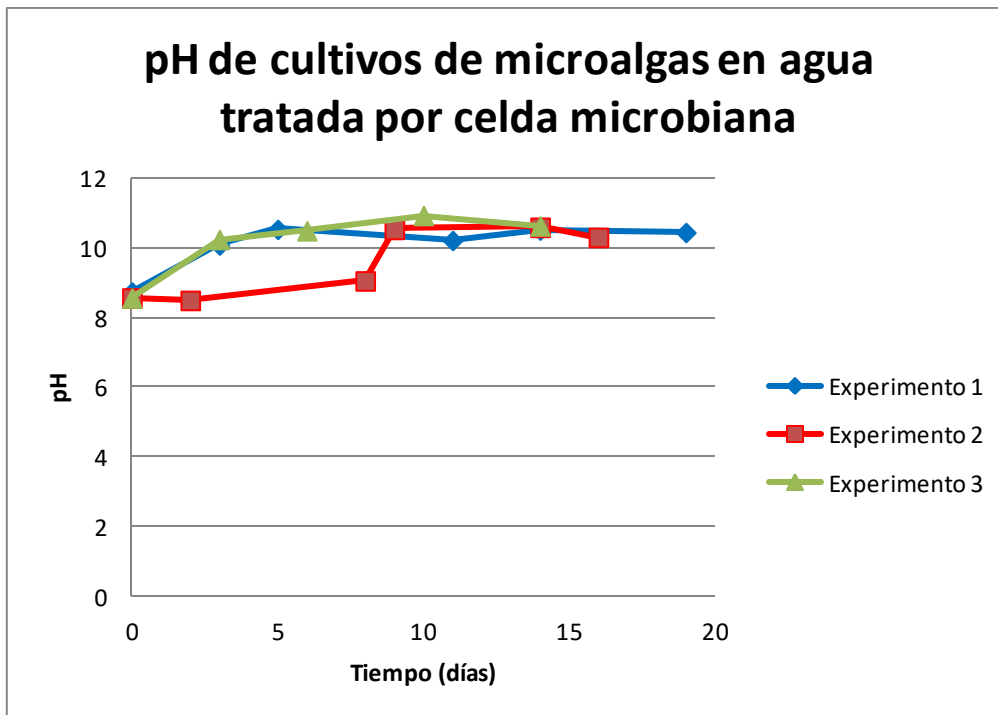
La absorbancia a 680 nm para los cultivos montados en agua tratada durante la etapa inicial de operación de la celda se reportan en la **Figura 41**. La absorbancia a 680 nm es un parámetro indicador de crecimiento microalgal relacionado con la densidad celular del cultivo (Xin et al, 2010); Existen correlaciones para calcular la densidad celular en un cultivo a partir de la absorbancia. Como el aumento de la absorbancia es equivalente al aumento de células dentro del cultivo, podemos observar en la **Figura 41** diferentes fases de crecimiento de microorganismos para cada cultivo. En los primeros días se observa un aumento constante en la absorbancia, esto corresponde a la fase de crecimiento exponencial que se caracteriza por una rápida velocidad de crecimiento y no tener una limitación en nutrientes (Metcalf and Eddy, 2003). Después de 8 días se observa la fase estacionaria en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* donde observamos un valor constante en la absorbancia, esta fase se caracteriza por mantener una concentración de biomasa, los microorganismos entran en esta fase por: el agotamiento de un nutriente necesario para su crecimiento, la inhibición por algún producto liberado durante la fase de crecimiento y la competencia de otros organismos que limitan el crecimiento (Ramírez-Landeros, 2013). A tiempos más prolongados podemos observar la fase de muerte que se caracteriza porque los nutrientes o sustratos necesarios para el crecimiento se han agotado (Metcalf and Eddy, 2003).



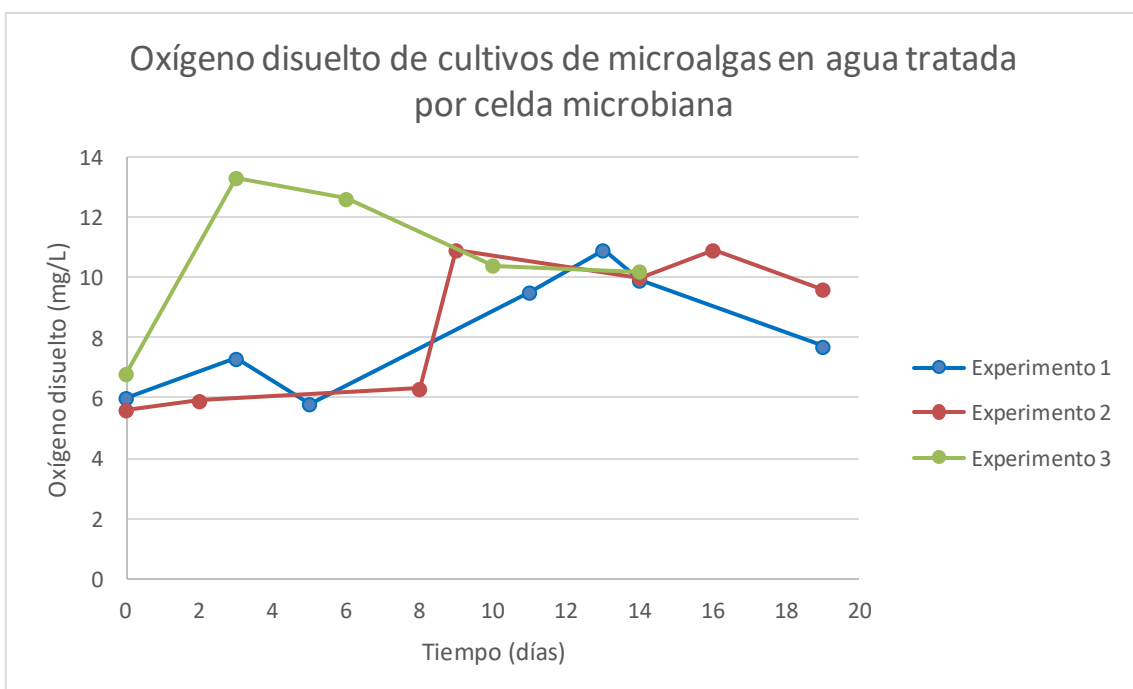
**Figura 41.** Absorbancia de los cultivos de microalgas en la etapa de arranque y estabilización de la celda

En las curvas de absorbancia no se observa la fase de adaptación, esto se debió a que las microalgas del inoculo ya son tolerantes a los componentes presentes en el agua residual municipal que es tratada por la celda y el tratamiento efectuado por la celda no libero algo que inhiba el crecimiento de la microalga, esto facilita la adaptación de la microalga al efluente de la cámara anódica debido a que varios de los componentes presentes en el agua residual municipal se conservan en el efluente de la cámara anódica, especialmente los nutrientes que son la fuente para el crecimiento microalgal.

El pH de los cultivos fue aumentando con el tiempo debido a la actividad fotosintética de la microalga, similar a lo reportado por Ruiz-Marin et al, 2010 el pH en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* aumenta por la escasas del carbono inorgánico presente en el agua residual que se agota por la actividad de la microalga *Scenedesmus obliquus* (Ruiz-Marin et al, 2010), este aumento en el pH favorece la remoción del nitrógeno amoniacal, del fosforo y de coliformes fecales, el pH de los cultivos se reporta en la **Figura 42**. En los 3 experimentos el pH crece y después se mantiene constante en un valor cercano a pH=10. El cambio de pH también puede provocar la inhibición en la actividad de las microalgas, cada organismo tiene intervalos de pH fisiológicos que deben mantenerse para que pueda vivir, por esa razón el pH es un parámetro que debe cuidarse en un cultivo de células de *Scenedesmus obliquus*. Al igual que el pH el oxígeno disuelto en la solución también aumenta por la actividad fotosintética **Figura 43**.



**Figura 42.** Valores de pH en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* montados durante la etapa de arranque y estabilización

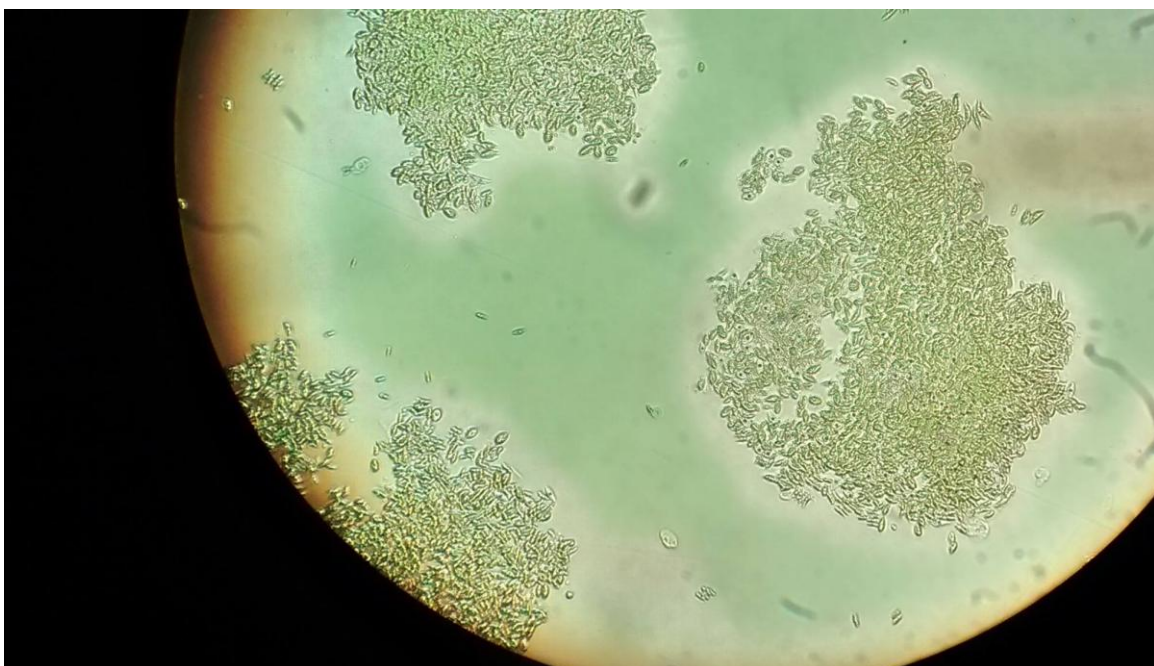


**Figura 43.** Oxígeno disuelto en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* montados durante la etapa de arranque y estabilización

El oxígeno tiene un comportamiento parecido al de la absorbancia, cuando llega a un valor alto el oxígeno disuelto en el cultivo la absorbancia deja de aumentar indicando que el cultivo entra en la fase estacionaria y posteriormente en la fase de muerte de las microalgas. Esto se debe a que una

alta concentración de oxígeno disuelto producido fotosintéticamente inhibe el crecimiento microalgal (Pandey et al, 2014). Considerando la inhibición que se da por la generación de oxígeno se propone a la reacción catódica de la celda de combustible microbiana como un sistema de remoción de oxígeno para mejorar la producción de biomasa microalgal.

Durante el acondicionamiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* se realizaron observaciones en el microscopio para verificar si existían indicios de contaminación por protozoarios u otras especies de microalgas. La **Figura 44** ilustra las microalgas en un cultivo de *Scenedesmus obliquus*. En este podemos ver conglomerados de microalgas, para este cultivo la concentración obtenida fue de 0.5 g/L de SST.



**Figura 44.** Cultivo de *Scenedesmus obliquus* vistos al microscopio

Considerando lo observado con el comportamiento de la absorbancia, el pH y el oxígeno disuelto se seleccionó 11 días como tiempo de residencia hidráulico para la remoción de nutrientes y producción de biomasa microalgal. Se montaron cultivos en el efluente de la cámara anódica y se le dio seguimiento a la calidad del agua en los cultivos después de 11 días. Se consideró todo el esquema de tratamiento que recibió el agua residual municipal y la concentración de biomasa microalgal alcanzada en los cultivos. Los resultados obtenidos para los experimentos se reporta en la **Tabla 15**.

La calidad del agua obtenida al tratar el agua con la celda y un cultivo de microalgas presento una concentración de fosforo total menor al límite establecido por la NOM-001-1996. Los porcentajes de remoción de DQO, nitrógeno amoniacal y fosforo total, fueron elevados. Jiang et al, 2012 reporta para un esquema de tratamiento conformado por una celda de combustible microbiana y un fotobiorreactor una remoción del 91% del nitrógeno amoniacal

y un 58% del fósforo total en el fotobiorreactor, este autor también reporta una remoción total en el esquema de tratamiento de 82% de DQO, 99% de Nitrógeno amoniacal y 92% de fósforo total.

**Tabla 15.** Esquema de tratamiento del agua residual municipal, efectuado por celda de combustible microbiana y cultivos de *Scenedesmus obliquus*

	<b>Agua residual doméstica</b>	<b>Efluente de la cámara anódica</b>	<b>Efluente tratado por microalgas</b>
<b>Demanda Química de Oxígeno (mg/L)</b>	210.2±35.2	51.1±11.9	15.2±3.0
<b>Nitrógeno amoniacal (mg/L)</b>	37.2±3.8	24.7±10.6	2.2±0.3
<b>Fósforo total (mg/L)</b>	22.3±0.4	21.8±0.8	1.4±0.8
<b>%Remoción de DQO en la cámara anódica</b>	75.0±7.1		-
<b>%Remoción de Nitrógeno amoniacal por microalgas</b>	-	89.3±3.5	
<b>%Remoción de fósforo por microalgas</b>	-	93.4±3.9	
<b>Concentración de biomasa microalgal SST (g/L)</b>			0.50±0.03
<b>TRH(días)</b>	1		11

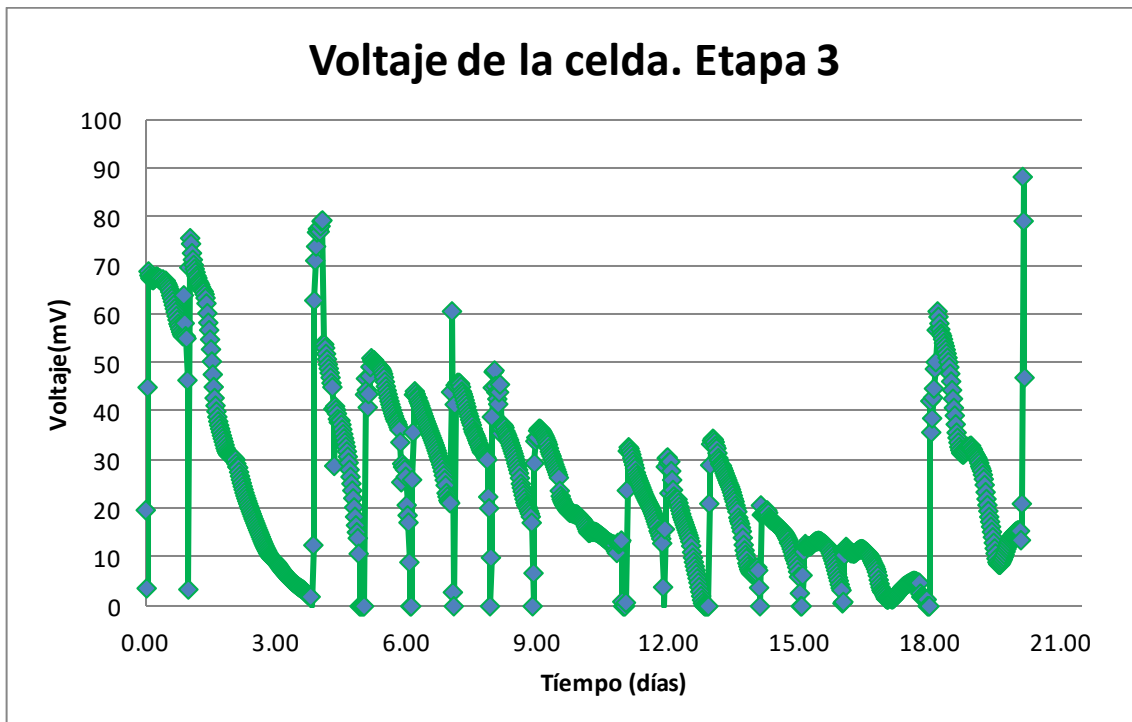
Para cultivos de *Scenedesmus obliquus* se ha reportado remociones de 100% del nitrógeno amoniacal de un agua residual urbana (Ruiz-Marin et al, 2010, Martinez et al, 2000). Ruiz-Marin et al, 2010 utilizó un agua residual urbana de una planta de tratamiento de la Universidad Autónoma de Baja California, para un cultivo con *Scenedesmus obliquus* con la microalga inmovilizada reportando un 90% de remoción del nitrógeno amoniacal y una remoción de ortofosfatos de 64% (Ruiz-Marin et al, 2010). Para *Scenedesmus acutus* (*Scenedesmus*

*obliquus*) ocupando agua residual municipal de una planta de tratamiento ubicada en un campus de una Universidad de México se reportó una remoción del nitrógeno orgánico y amoniacal (nitrógeno Kjeldahl) de 93.6 % y una remoción de ortofosfatos de 66.2% (Sacristán de Alva et al, 2013). Comparando con los valores de la literatura citados con anterioridad, en esta tesis el porcentaje de remoción de fósforo fue mayor y el porcentaje de nitrógeno amoniacal fue menor a los valores citados.

*Scenedesmus obliquus* posee una alta capacidad para adaptarse y crecer en agua residual municipal tolerando un amplio rango de temperatura y de pH (Martínez et al, 2000). En este estudio la microalga *Scenedesmus obliquus* presentó una adaptabilidad al agua residual tratada además de lograr una concentración de biomasa de 0.5 g/L.

### 3.4 Acoplamiento de la microalga como medio de oxigenación de la celda

Una vez probada la adaptación y el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en el agua tratada por la cámara anódica, se siguió el acoplamiento de la microalga como medio de oxigenación de la celda. Se retiró el mecanismo de aeración con el que contaba la celda y se sustituyó con un cultivo de microalga cultivada en el efluente de la cámara anódica. El voltaje alcanzado con esta condición de operación se reporta en la **Figura 45**.

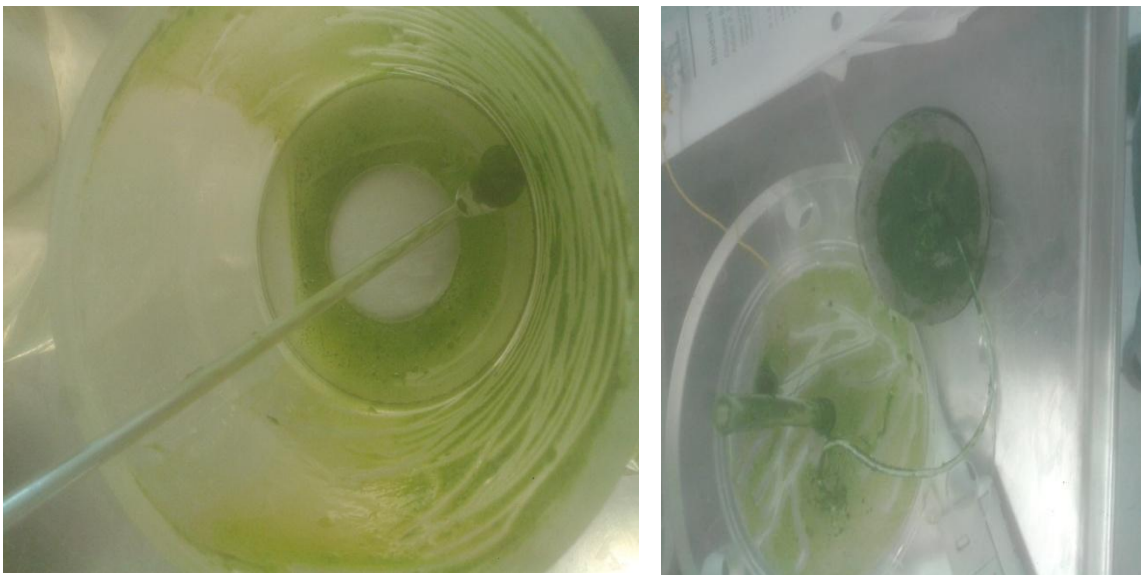


**Figura 45.** Voltaje de la celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por *Scenedesmus obliquus*

El voltaje se mantuvo los primeros ciclos y fue cayendo con cada ciclo, la caída de voltaje se atribuye a un ensuciamiento que se dio en la cámara catódica que impidió el paso de la luz. El ensuciamiento de las paredes fue provocado por un mal sistema de mezclado en la cámara que provocó la

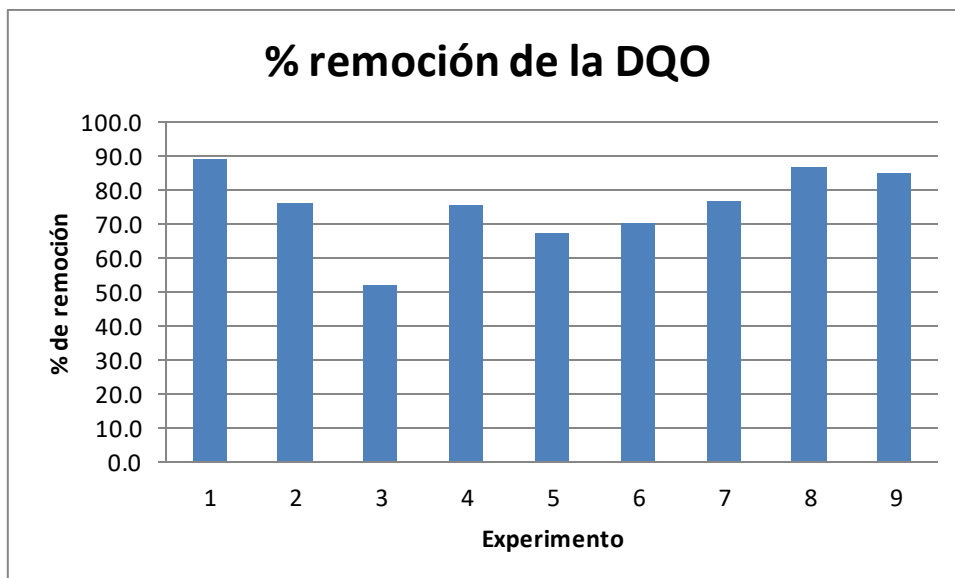


sedimentación de las microalgas y un crecimiento microalgal en las paredes que impidió el paso de la luz, este ensuciamiento inhibió la fotosíntesis y el crecimiento microalgal. El voltaje de una celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por microalgas es menor cuando se opera en una fase oscura (Lobato et al, 2013, Gonzalez del Campo et al, 2015, Wu et al, 2014), la disminución del oxígeno disuelto provoca una disminución del voltaje (Gonzalez del Campo et al, 2015, Gonzalez del Campo et al, 2013, Justo Lobato et al, 2013, Kakarla and Min, 2014), el oxígeno disminuye en la fase oscura por la inhibición de la fotosíntesis. También se ha reportado que el aumento de la intensidad luminosa disminuye la resistencia eléctrica en la cámara catódica (Wu et al, 2014). Considerando los mecanismos que disminuyeron el voltaje de la celda a causa del ensuciamiento, se limpió la celda y se cambió el sistema de alimentación de la cámara catódica por un tubo agujerado para mejorar el mezclado, esto logro que el voltaje de la celda incrementara como en los primeros ciclos de operación con microalga oxigenando el cátodo. El cambio de sistema de mezclado favorece un mejor intercambio de gases, así como la homogenización de la luz y los nutrientes en el cultivo (Pandey et al, 2014). El ensuciamiento que presento la celda se ilustra en la **Figura 46**.

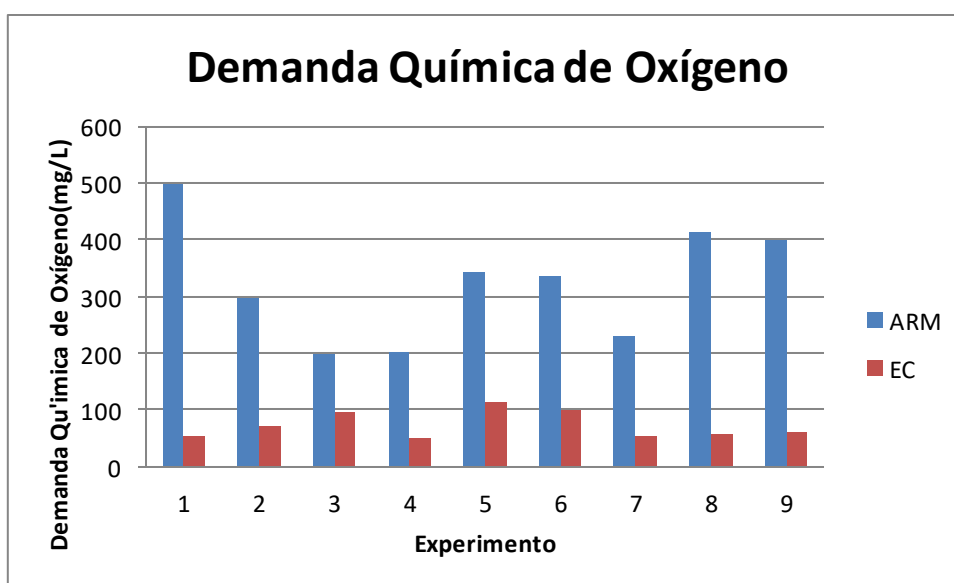


**Figura 46.** Ensuciamiento de la cámara catódica

En esta etapa de operación de la celda se alcanzó una remoción máxima en la cámara anódica de 88.9% de la DQO. La remoción alcanzada se reporta en la **Figura 47**, la concentración de la DQO del agua residual y del agua tratada se reporta en la **Figura 48** y las eficiencias Coulombicas se reportan en la **Figura 49**.



**Figura 47.** Porcentaje de remoción alcanzado por la celda con cátodo oxigenado por microalgas.

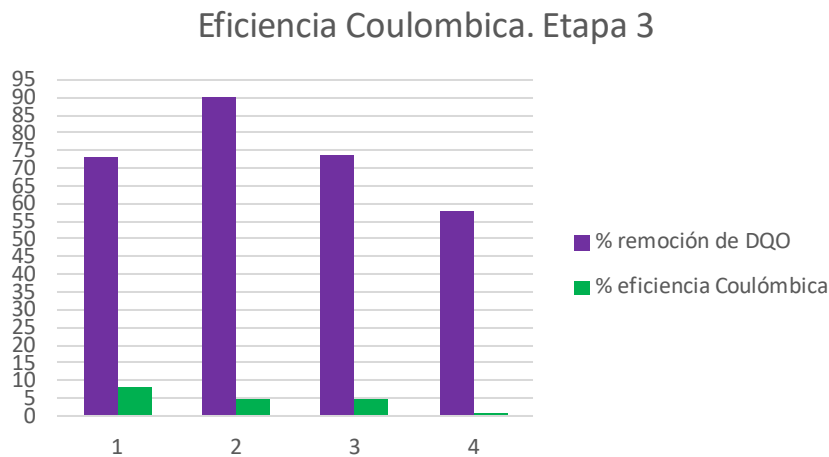


**Figura 48.** Demanda Química de Oxígeno en la celda con cátodo oxigenado por microalgas

Las eficiencias Coulombicas en la celda continuaron siendo bajas al igual que en las etapas anteriores de operación, estos valores de eficiencia Coulombica bajos se deben a la posible presencia de otros aceptores de electrones como: sulfatos y nitratos presentes en el agua residual municipal, las celdas de combustible microbiana que se alimentan con agua residual tiene eficiencias Coulombicas bajas. Se reportan eficiencias Coulombicas para celdas con cátodo oxigenado por microalgas más altas que las obtenidas en esta tesis, esto se debe a que se trabajan con aguas residuales sintéticas en las cuales no hay interferencia por otros aceptores de electrones, Wang et al, 2010 reporta una eficiencia Coulombica de 85% para una celda de combustible microbiana

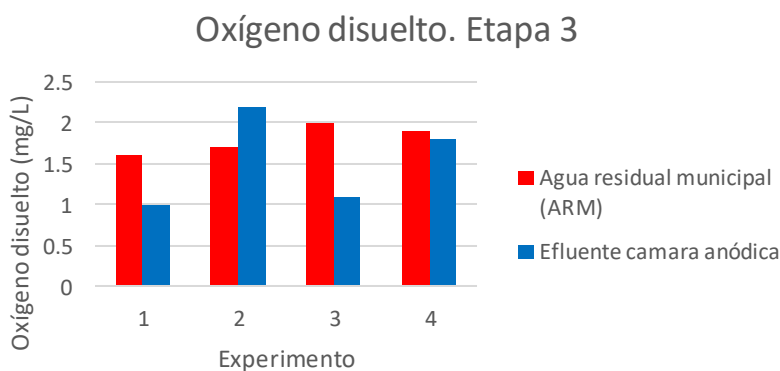


con cátodo oxigenado por *Chlorella vulgaris* y con un sistema de captura del CO<sub>2</sub> producido por los microorganismos electrogénicos. Wang et al, 2010 ocuparon una solución buffer de fosfatos con glucosa para alimentar su celda donde no hay la presencia de aceptores de electrones como: sulfatos y nitratos, además trabajaron con una población de microorganismos que ya habían sido adaptados al proceso de producción de bioelectricidad durante más de un año de operación en una celda alimentada con glucosa como combustible de la celda (Wang et al, 2010).



**Figura 49.** Porcentaje de eficiencia Coulombica en la celda con cátodo oxigenado por microalgas

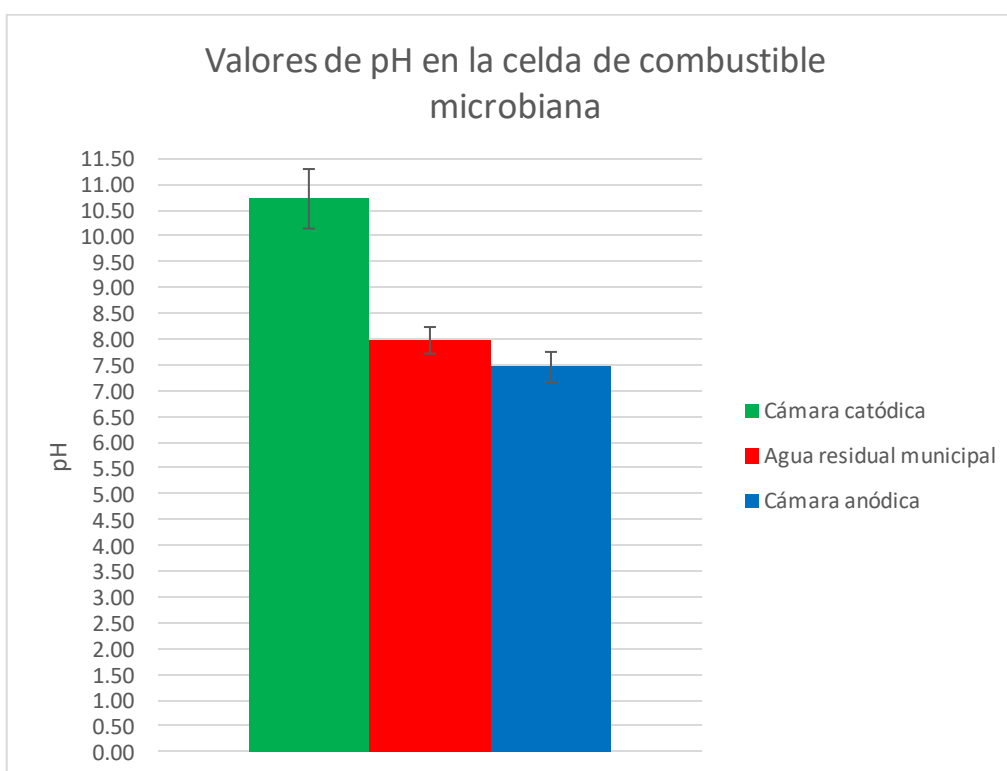
La baja eficiencia Coulombica que se obtuvo en la celda con *Scenedesmus obliquus* se debe a la presencia de otros aceptores de electrones como los: nitratos y sulfatos que están presentes en el agua residual doméstica (Zhang et al, 2013), los sulfatos en el agua residual municipal provienen principalmente de los detergentes. Durante esta etapa de operación también se midieron los nitratos en el agua residual y en el efluente de la cámara anódica. Se midió el oxígeno disuelto en el efluente de la cámara anódica y se encontró que es menor en la mayoría de los experimentos que el contenido en el agua residual alimentada. El oxígeno disuelto se reporta en la **Figura 50**.



**Figura 50.** Oxígeno disuelto durante la etapa de oxigenación con

### *Scenedesmus obliquus*

La microalga *Scenedesmus obliquus* permite un ahorro energético al eliminar el sistema de aeración, se alcanzan valores de voltaje parecidos a los alcanzados durante la etapa de estabilización. El oxígeno producido por la microalga es ocupado en el tratamiento del agua residual doméstica, creando una simbiosis entre los microorganismos de la cámara anódica y las microalgas similar a la que ocurre en las lagunas de crecimiento de alta tasa. Sin embargo, la celda presenta diferentes valores de pH en ambas cámaras, lo que es favorable porque permite tener comunidades diferentes de microorganismos para la remoción de contaminantes. En cultivos de *Scenedesmus obliquus* en agua residual urbana se ha reportado que los incrementos de pH logran remociones de coliformes fecales (Ruiz-Marin, 2010), considerando los diferentes valores de pH en las 2 cámaras, la celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por microalgas presenta una ventaja sobre las lagunas de alta tasa como sistema de tratamiento de agua residual municipal. Esto se debe a que el pH tiende a incrementar con el crecimiento de la microalga, como los incrementos de pH inhiben la actividad de microorganismos que remueven la materia orgánica en el cultivo de microalgas, la celda tiene la ventaja que al tener los microorganismos en una cámara diferente a donde se encuentran las microalgas, los microorganismos no se ven afectados por los cambios de pH ocasionados por el crecimiento de las microalgas y pueden seguir removiendo materia orgánica ocupando el oxígeno producido por la microalgas o bien por otros mecanismos. Los valores de pH para ambas cámaras se ilustran en la **Figura 51**.

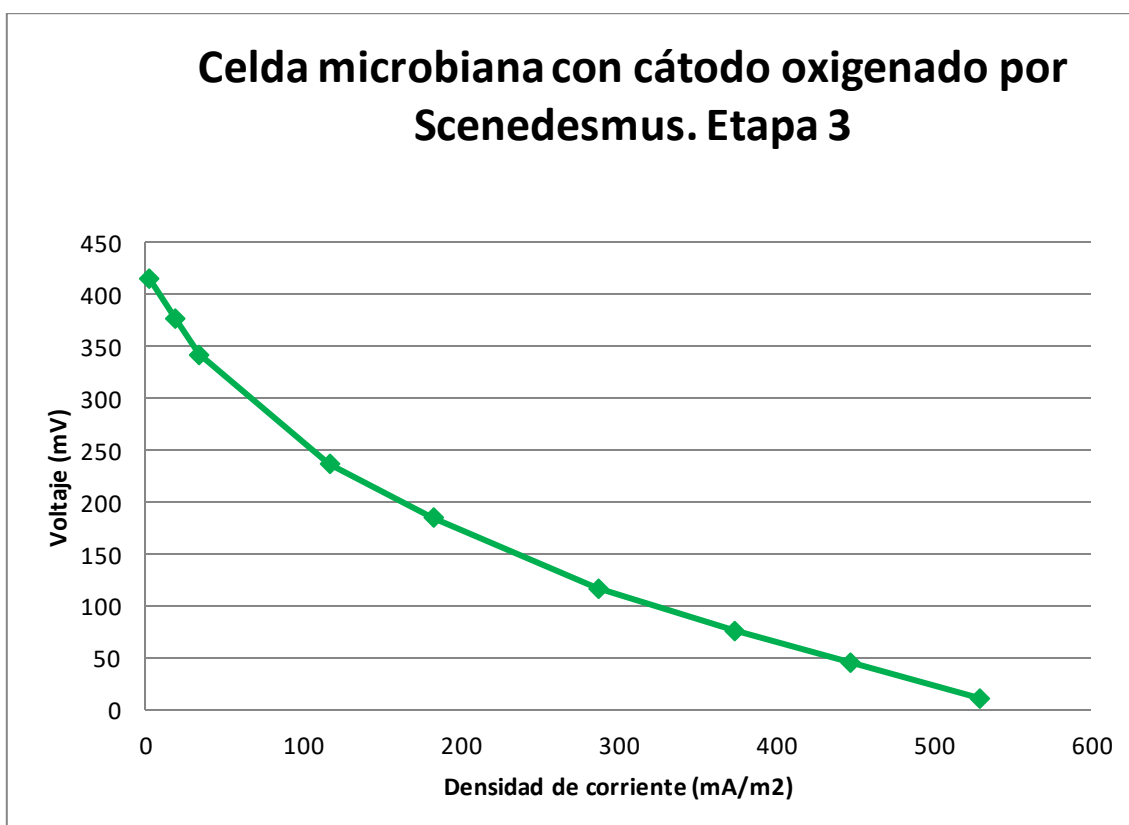


**Figura 51.** Valores de pH en la celda de combustible microbiana con cátodo

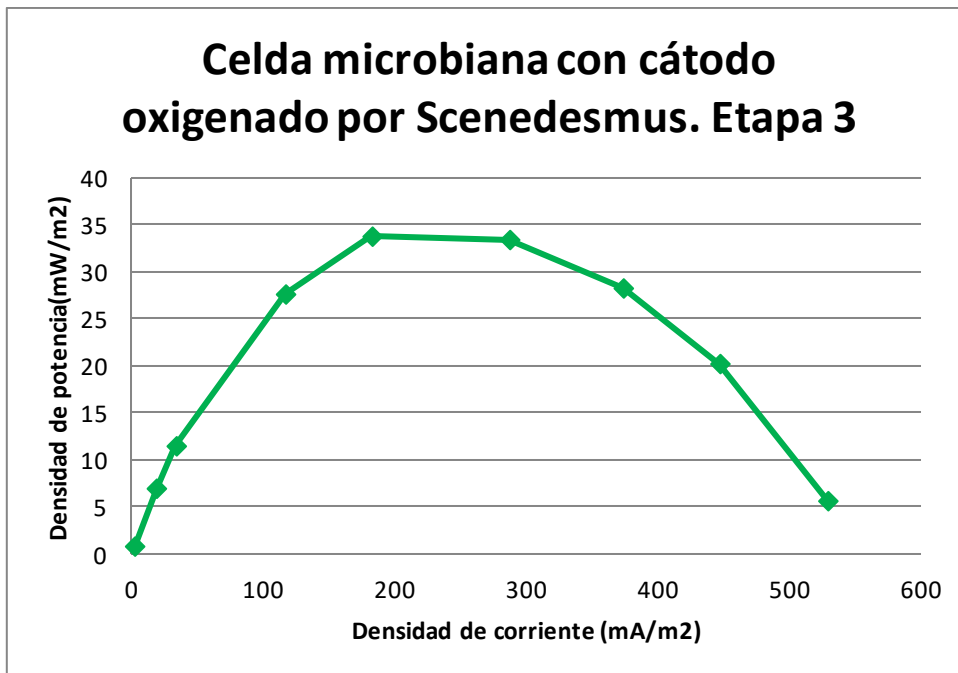
oxigenado por *Scenedesmus obliquus*

Otro de los fenómenos que ocurre dentro de la celda es la migración del ion amonio a través de la membrana de intercambio catiónico (Kelly and He, 2014, Wu and Modin, 2013, Rozendal et al, 2006). En este estudio se observó mediante los recambios de agua residual efectuados después del fin de semana que el nitrógeno amoniacal se había agotado en el cultivo y en la cámara anódica. Se ha reportado movilidad de este ion para la membrana CMI-7000 en una celda de electrolisis microbiana para la recuperación del amonio y producción de hidrogeno (Wu and Modin, 2013, Kelly and He, 2014). La movilidad del amonio hacia la cámara catódica beneficia a la producción de biomasa microalgal, al proporcionar nutrientes para el crecimiento.

Las curvas de polarización y de potencia se ilustran en la **Figura 52** y la **Figura 53** respectivamente.



**Figura 52.** Curva de polarización de la celda con microalgas oxigenando el cátodo



**Figura 53.** Curva de potencia de la celda con microalgas oxigenando el cátodo.

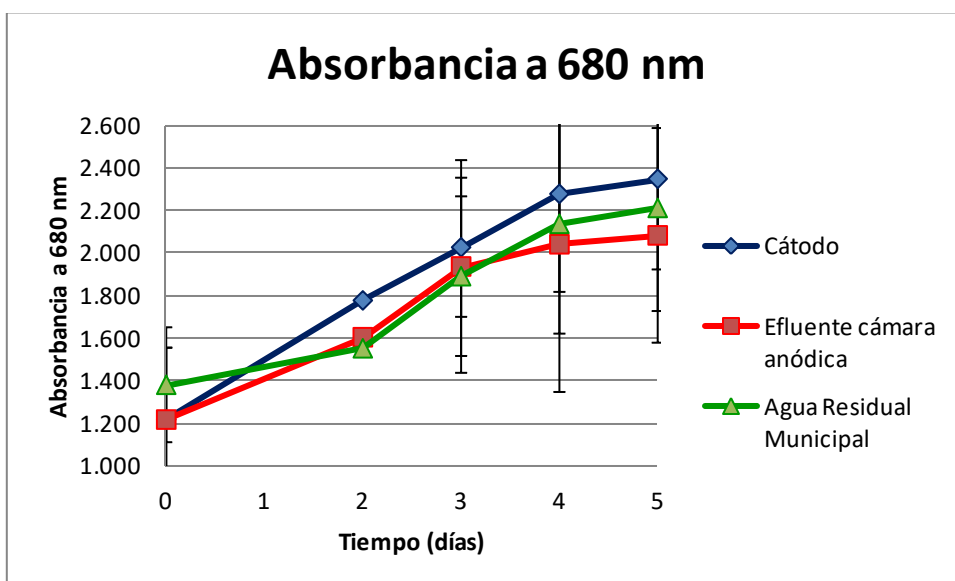
La celda se operó en una región intermedia entre las pérdidas por transferencia de masa y pérdidas óhmicas. Considerando estos resultados se debe mejorar el mezclado del sistema, así como reducir la resistencia eléctrica interna de la celda (Logan et al, 2006). La densidad de potencia máxima generada por la celda fue de  $34.2 \text{ mW/m}^2$ . Este valor es bajo, debido a que se opera una celda sin catalizador en el cátodo. En la literatura se reporta una densidad de potencia de  $13.5 \text{ mW/m}^2$  para una celda sin catalizador que ocupa la microalga *Chlorella vulgaris* y es alimentada con un agua residual sintética que simula un agua residual de la industria de los jugos y concentrados la cual contiene azúcares como fructosa y glucosa (González del Campo et al, 2013).

El valor obtenido por la celda con oxigenación microalgal fue mayor al obtenido en la etapa de arranque y estabilización que fue de  $26.8 \text{ mW/m}^2$ , también este valor se obtuvo con una resistencia de  $500 \Omega$ . El suministro de oxígeno en el cátodo es vital para mantener un alto perfil de generación de electricidad en una celda de combustible microbiana, disminuyendo las limitaciones en el transporte de masa del oxígeno se logra un mejor desempeño de la celda (Ramesh and Kakarla, 2014). Las microalgas proveen el oxígeno en varios lugares de la cámara catódica, mientras que con la aeración mecánica la burbuja de aire tiene que difundirse por el medio acuoso y después transportarse hacia el electrodo.

### 3.5 Evaluación de la bioenergía obtenida y calidad del agua tratada por la celda de combustible microbiana fotosintética

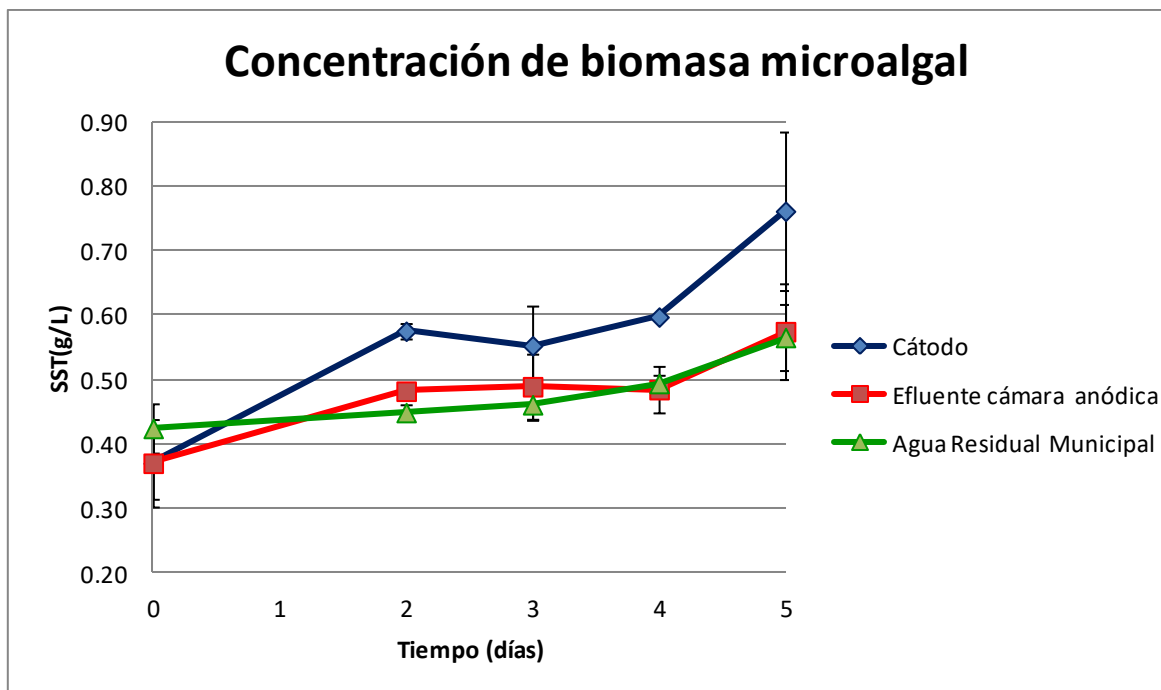
Después de ver la generación de electricidad con la microalga oxigenando el cátodo y cultivada en el efluente de la cámara anódica se realizó una evaluación de las otras 2 funciones de la celda operando con oxigenación microalgal. Se realizaron 3 experimentos para medir la producción de carbohidratos por la biomasa microalgal con potencial aplicación hacia la producción de bioetanol para 3 diferentes formas de cultivo. Se consideró la absorbancia, el pH, el oxígeno disuelto y los SST como parámetros indicadores.

El resultado de la absorbancia para estas 3 formas de cultivo se reporta en la **Figura 54**.



**Figura 54.** Absorbancia a 680 nm obtenida en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* para el estudio de la bioenergía

En la gráfica de absorbancia se observa crecimiento para las 3 formas de cultivo, el cultivo en el cátodo registra una mayor absorbancia. La grafica para SST de los cultivos se reporta en la **Figura 55**.



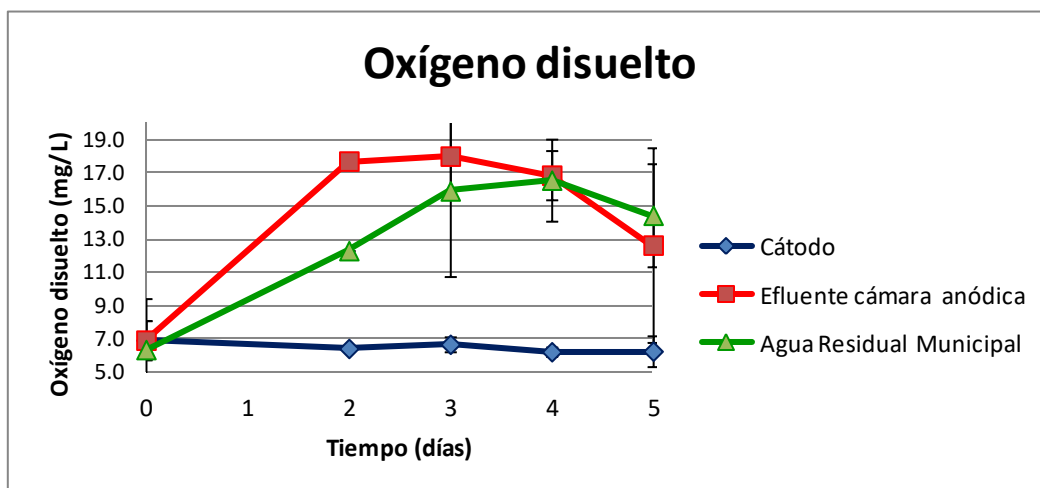
**Figura 55.** Concentración de SST en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* para el estudio de la bioenergía

Los SST en los cultivos presentaron aumento con el tiempo, indicando crecimiento de la microalga. Se observa en la gráfica una mayor concentración para el cultivo de cámara catódica. Se realizó un ANOVA con un  $\alpha=0.05$  para ver si había diferencia significativa en la concentración de biomasa en las 3 formas de cultivo. El análisis de varianza dio como resultado que si hubo diferencia significativa en al menos una de las 3 formas de cultivo, observando que el cultivo del cátodo tiene valores mayores y con el resultado del ANOVA podemos decir que la concentración alcanzada en la cámara catódica es superior a la alcanzada fuera de ella.

Fuente	gl	SS	MS	F	F para $\alpha=0.05$
Tratamientos	2	72158	36079	5.42	5.14
Error	6	39930	6655		
Total	8	112088			

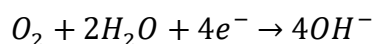
Observando la **Figura 55** donde se reporta el oxígeno disuelto en las 3 formas de cultivo, podemos observar que en la cámara catódica se mantiene el oxígeno en un valor aproximado de 6 mg/L. Este valor está por debajo del óptimo reportado para la generación de corriente con una celda de combustible microbiana de 2 cámaras, el valor óptimo reportado de oxígeno disuelto es de 6.6 mg/L (El Mekawy et al, 2014), también se puede observar en la **Figura 56** que el oxígeno disuelto en la cámara catódica es menor que en las otras formas de cultivo indicando que el oxígeno no se está acumulando y está siendo aprovechado para la remoción de la materia orgánica. Este aprovechamiento del oxígeno es benéfico porque al removerse del cultivo de microalgas se evita la inhibición por aumento en el oxígeno disuelto además el

oxígeno es ocupado para la generación de corriente eléctrica y el tratamiento del agua residual. El acoplamiento entre la celda de combustible microbiana y los sistemas de cultivo de microalgas es benéfico tanto para la producción de electricidad como para la producción de biomasa microalgal, este acoplamiento puede ayudar a mejorar los sistemas de tratamiento de lagunas de alta tasa (Lobato et al, 2013).



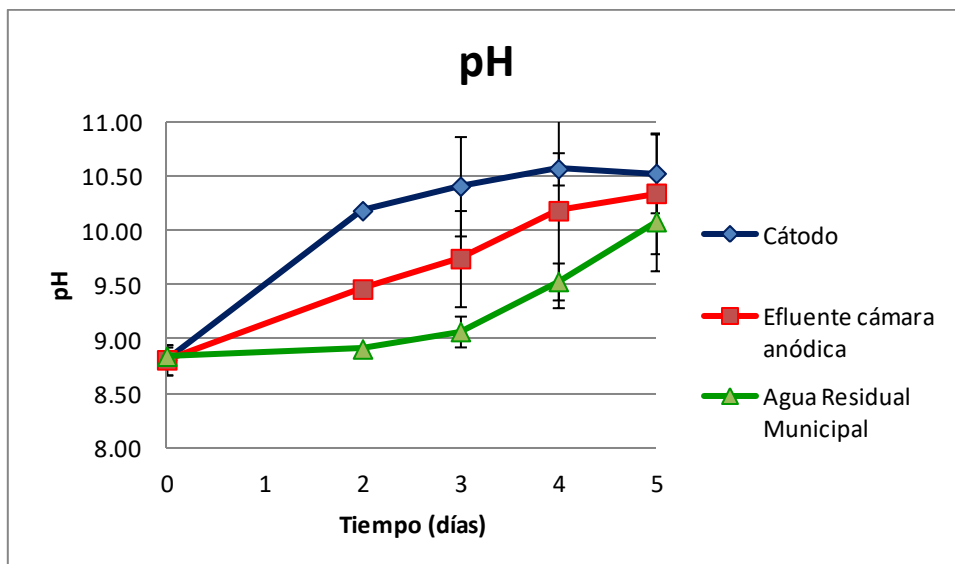
**Figura 56.** Oxígeno disuelto en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* para el estudio de la bioenergía

El pH de los cultivos se reporta en la **Figura 57**. El pH en el cultivo dentro de la celda fue superior al obtenido al cultivar fuera de la celda. El aumento en el pH se debe a la actividad fotosintética de las microalgas y a los protones consumidos en la reacción de reducción en el cátodo. En la literatura se reporta un incremento en el pH en la cámara catódica en un estudio para modelar y simular una celda de combustible de 2 cámaras (Zeng et al ,2010). Liu et al, 2014 reporta un incremento de pH en el catolito en una celda microbiana de captura de carbono ocupando la microalga *Chlorella vulgaris*, Liu et al, 2014 sugiere que la reacción de reducción involucrada en la celda con la microalga es la reacción de reducción del oxígeno de una celda de combustible alcalina, mostrada en la siguiente ecuación y que por esta reacción ocurre la alcalinización del católito.



Esta reacción tiene un menor potencial que la reacción con los protones, la alcalinización del catolito representa una pérdida del voltaje de la celda (Liu et al, 2014, Popat et al, 2012, Zhuang et al, 2010). El fenómeno de la alcalinización del cátodo y la acidificación del ánodo ocurre inevitablemente causando una reducción del voltaje de la celda de combustible microbiana (Zhuang et al, 2010), lo cual fue observado en el sistema experimental. El aumento en la concentración de los iones  $OH^-$  ocasiona una pérdida de potencial por efecto de transferencia de masa en el cátodo (Popat et al, 2012). El suministro de  $CO_2$  reduce este efecto de pérdida de potencial en el cátodo

(Popat et al, 2012), facilita el transporte de los iones  $\text{OH}^-$ , regula el pH y ayuda a aumentar la producción de biomasa microalgal lo que favorece la producción de bioenergía en el sistema, otra alternativa es cambiar la membrana separadora por una que favorezca el intercambio de aniones (Popat et al, 2012) como lo es la membrana AMI-7000 de Membranes International Inc.



**Figura 57.** pH en los cultivos de *Scenedesmus obliquus* para el estudio de la bioenergía

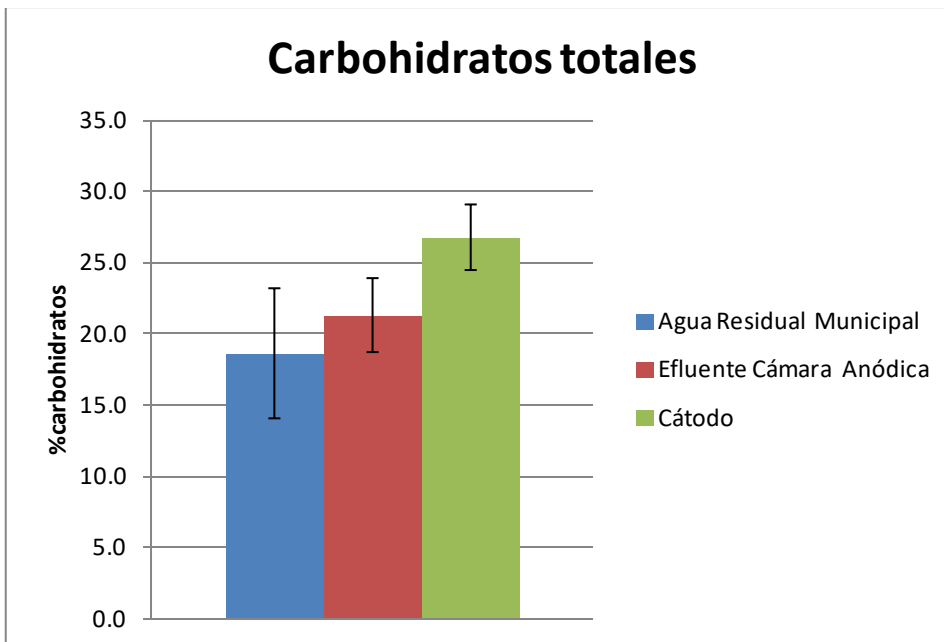
El comportamiento de los carbohidratos de la microalga en las 3 formas de cultivo se reporta en la **Figura 58**. Se realizó un ANOVA igual que con la concentración de biomasa como SST y se encontró que no hay diferencia significativa entre el porcentaje de carbohidratos de la biomasa en los cultivos. Se obtuvieron valores de % de carbohidratos en la biomasa de  $18.6 \pm 4.6\%$  para el cultivo en agua residual municipal,  $21.2 \pm 2.6\%$  para el cultivo en efluente de la cámara anódica fuera de la celda y  $26.7 \pm 2.3\%$  para el cultivo de la cámara catódica.

Los carbohidratos de la biomasa se pueden transformar en bioetanol, mediante los procesos de hidrolizado y fermentación. Se estimó la producción teórica de bioetanol mediante los datos reportados por Dávila Cardona, 2016, el cual reporta un rendimiento porcentual de 5.9 (g de etanol/ g de biomasa) para biomasa de *Scenedesmus obliquus* cultivada en agua residual municipal de la PTAR de Cerro del Agua y cosechada mediante centrifugación. La condiciones de hidrolizado y fermentación ocupadas por Dávila Cardona, 2016 fueron una hidrólisis química con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 4% (v/v) y *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo fermentador.

Debido a que Dávila Cardona, 2016 ocupó agua residual municipal proveniente de PTAR de Cerro del Agua y la misma especie microalgal trabajada en la presente tesis. Al no existir diferencia significativa en el porcentaje de carbohidratos en las 3 formas de cultivos, se puede considerar

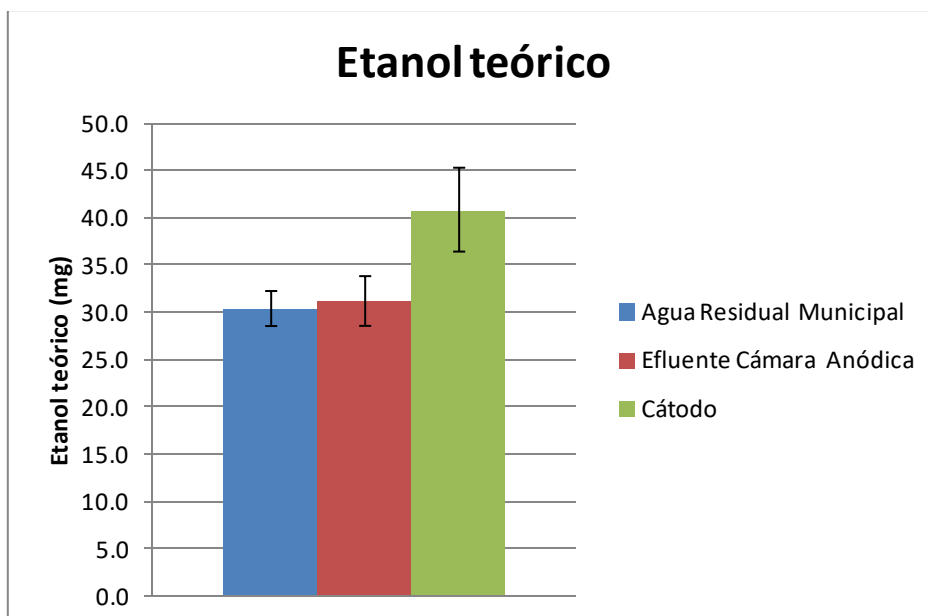


el rendimiento reportado como un valor adecuado para estimar la producción teórica de bioetanol a partir de la biomasa microalgal suponiendo que el método de producción de etanol tiene las mismas condiciones de hidrolizado y fermentación que Dávila Cardona, 2016.



**Figura 58.** Carbohidratos obtenidos en las diferentes formas de cultivo

Los valores teóricos de bioetanol producido a partir de los cultivos se reportan en la **Figura 59**.



**Figura 59.** Etanol teórico estimado en las diferentes formas de cultivo

Los valores estimados de producción de etanol teórica fueron  $30.3 \pm 1.9$  mg para el cultivo en agua residual municipal,  $31.1 \pm 2.6$  mg para el cultivo en efluente de la cámara anódica fuera de la celda y  $40.8 \pm 4.4$  mg para el cultivo de la cámara catódica. El valor mayor es para el cultivo de la microalga dentro de la celda.

Los resultados de la calidad del agua de los cultivo en agua residual municipal y efluente de la cámara anódica fuera y dentro de la celda se muestran en la **Tabla 16**, **Tabla 17** y **Tabla 18** respectivamente.

**Tabla 16.** Calidad del agua en el cultivo de *Scenedesmus obliquus* en agua residual municipal

	<b>Cultivo en agua residual municipal</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>%Remoción</b>
<b>Demanda Química de Oxígeno</b>	159.9±18.1	96.7±0.9	38.7±5.9
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	71.3±6.4	31.4±9.0	56.7±8.1
<b>Fosforo total</b>	17.6±1.6	10.9±1.2	36.6±11.6
<b>Nitratos</b>	4.9±2.1	0.9±0.5	82.6±4.9

**Tabla 17.** Calidad del agua en el cultivo de *Scenedesmus obliquus* en efluente de la cámara anódica.

	<b>Cultivo en efluente de la cámara anódica</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>%Remoción</b>
<b>Demanda Química de Oxígeno</b>	115.4±27.7	78±19.3	32.6±9.6
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	79.7±5.8	30.2±20.9	64.2±22.5
<b>Fosforo total</b>	15.0±2.1	11.8±4.1	23.2±24.1
<b>Nitratos</b>	10.0±5.3	1.6±1.0	75.5±13.7

**Tabla 18.** Calidad del agua en el cultivo de *Scenedesmus obliquus* en la cámara catódica.

	<b>Cultivo en la cámara catódica</b>		
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>%Remoción</b>
<b>Demanda Química de Oxígeno</b>	115.4±27.7	88.3±17.8	22.8±10.3
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	79.7±5.8	21.8±6.7	72.7±9.1
<b>Fosforo total</b>	15.0±2.1	9.6±0.9	34.9±10.5
<b>Nitratos</b>	10.0±5.3	1.5±0.7	77.9±16.5

Observando los valores de nitrógeno amoniacal obtenido al final de los cultivos se puede decir que no hay un estrés por falta de nitrógeno en los cultivos. Esto concuerda con lo obtenido en el ANOVA donde se ve que no hay diferencia en la composición de los carbohidratos de la microalga. La mayor remoción de nitrógeno amoniacal se obtuvo en la cámara catódica. Para los cultivos montados con el efluente de la cámara anódica se obtuvo mayor remoción de nutrientes dentro de la celda. La calidad del agua no fue tan buena como cuando se estabilizó la celda. El agua residual municipal que llega a la PTAR de Cerro del Agua presentó variaciones en su composición debido a los paros en el periodo vacacional de verano. Sin embargo, a pesar de las variaciones en composición del agua residual se registró crecimiento y remoción de contaminantes. La producción de biomasa microalgal y de electricidad por medio de este sistema experimental fue posible más sin embargo la generación de electricidad fue baja para aplicaciones industriales importantes. Además se reporta en la literatura que uno de los mayores retos para la producción de biocombustibles con microalgas es reducir los altos costos energéticos para la cosecha de las microalgas (Lee et al, 2015). Para hacer de la celda de combustible microbiana con cátodo oxigenado por microalgas una fuente de energía atractiva económicamente, muchos obstáculos para el proceso de producción de biomasa microalgas y de electricidad necesitan ser superados (Lee et al, 2015)

## Capítulo 4. CONCLUSIONES

Se logró evaluar un proceso bioelectroquímico para producir biocombustibles empleando una celda de combustible microbiana (CCM) acoplado el tratamiento de aguas residuales al cultivo de microalgas.

La CCM operó por un periodo de cinco meses llevando a cabo el tratamiento de agua residual municipal mediante el proceso de electrogénesis y la remoción de nutrientes, con la correspondiente generación de corriente eléctrica y biomasa microalgal con potencial para la obtención de biocombustibles.

Se concluye que mediante dicho acoplamiento, es posible alcanzar remociones máximas de nitrógeno amoniacal y de fósforo total de  $89.3 \pm 3.5\%$  y de  $93.4 \pm 3.9\%$ , respectivamente. La microalga *Scenedesmus obliquus* fue cultivada en la cámara catódica, empleando agua residual tratada por la celda, alcanzando una concentración microalgal de 0.5 g SST/L. El oxígeno producido fotosintéticamente fue utilizado en la cámara anódica para remover el 88.9% de la DQO alimentada.

Bajo las condiciones ensayadas, el voltaje máximo alcanzado fue 86.13 mV y la densidad máxima de potencia eléctrica registrada por la celda, de  $34.2 \text{ mW/m}^2$ .

Durante la operación de la CCM se registraron valores bajos de eficiencia Coulombica (4.9%), por lo que se concluye que solo una parte de la remoción de materia orgánica fue transformada en corriente eléctrica. La baja eficiencia Coulombica se puede atribuir, entre otras posibles causas, a la interferencia de otros aceptores de electrones presentes en el agua residual (como los sulfatos y nitratos) así como por el efecto “crossover” del oxígeno hacia la cámara anódica.

Con respecto a la generación de corriente eléctrica, se concluye que la operación de la celda se mantuvo en la región donde predominan las pérdidas por efecto de transferencia de masa; lo cual se atribuye al diseño de la celda que favorecen las pérdidas óhmicas y por activación.

En cuanto al potencial de la biomasa microalgal cultivada en el cátodo, esta presentó un contenido de carbohidratos del  $26.7 \pm 2.3\%$ , a partir de la cual se estimó una producción teórica de bioetanol de 5.9 mg de etanol / mg de biomasa.

La generación de electricidad en una celda de combustible microbiana fotosintética, a partir del tratamiento de un agua residual y su acoplamiento al cultivo de microalgas, es técnicamente factible, no obstante, se recomiendan mejoras en el diseño de la celda que permitan aumentar la eficiencia Coulombica y reducir la pérdidas de voltaje en la celda.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Raouf N., Al-Homaidan A.A., Ibraheem I.B. M.. 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19, 257-275
- Álvarez-Díaz P. D., Ruiz J., Barragán J., Garrido-Pérez M.C., Perales J.A. 2015. Wastewater treatment and biodiesel production by *Scenedesmus obliquus* in a two-stage cultivation process. *Bioresource Technology*. 181. 90-96.
- Amaro H. M., Guedes A. C., Malcata F. X. (2011). Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy* , 88, 3402–3410.
- Anh Y., Logan B. E. 2010. Effectiveness of domestic wastewater treatment using microbial fuel cells at ambient and mesophilic temperatures. *Bioresource Technology*, 101, 469-475
- Brennan Liam, Owende Philip. 2010. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 557-577
- Buitron G., Cervantes-Astorga C.2013. Performance Evaluation of a Low-Cost Microbial Fuel Cell Using Municipal Wastewater. *Water, Air & Soil Pollution*, 224:1470.
- Cakir F. Y., Stenstrom M. K. 2005. Greenhouse gas production: A comparison between aerobic and anaerobic wastewater treatment technology. *Water Research*, 39, 4197-4203.
- Christenson Logan, Sims Ronald. 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29, 686-702
- CONAGUA. 2015. Estadísticas del agua en México. Edición 2015.
- Cui Yufeng, Rashid Naim. 2014. Electricity generation and microalgae cultivation in microbial fuel cell using microalgae-enriched anode and biocathode.
- Dávila Cardona B., 2016. Obtención de bioetanol a partir de biomasa microalgal cultivada en agua residual empleando ozoflotación como método de cosecha. Universidad Nacional Autónoma de México. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería Ambiental-Agua. Tesis de maestría.
- Demirbas Ayhan, Demirbas M. Fatih. 2011. Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Conversion and Management*, 52, 163-170

- Dragone Giuliano, Fernades Bruno, Vicente Antonio A., Teixeira José A. 2010. Third generation biofuels from microalgae. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, A. Mendez-Vilas (Ed), 1355-1366
- Du, Z., Li, H., Gu, T. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. Biotechnology Advances. 25, 464-482.
- Elmekawy Ahmed, M. Hegab Hanaa, Vanbroekhoven Karolien, Pant Deepak. 2014. Techno-productive potential of photosynthetic microbial fuel cells through different configurations. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 39, 617-627.
- Fournier González P. A., 2015. Obtención de biomasa microalgal y remoción de nutrientes de aguas residuales mediante el cultivo de microalgas (*Desmodesmus* sp. y *Scenedesmus* sp.) con potencial uso en la producción de biocombustibles. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de licenciatura.
- Gonzalez del Campo A., Perez J. F., Cañizares P., Rodrigo M. A., Fernandez F. J., Lobato J., 2015. Characterization of light/dark cycle and long-term performance test in a photosynthetic microbial fuel cell. Fuel 140, 209-216.
- González del Campo Araceli, Cañizares Pablo, Rodrigo Manuel A., Fernandez Francisco J., Lobato Justo. 2013. Microbial fuel cell with an algae assisted cathode: A preliminary assessment. Journal of Power Sources. 242. 638-645.
- Gouveia L., Neves C., Sebastião D., Nobre B. P., Matos C. T . 2014. Effect of light on the production of bioelectricity and added-value microalgae biomass in a Photosynthetic Alga Microbial Fuel Cell. Bioresource Technology, 154, 171-177.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G., Danquah, M., 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Renewable Sustainable. Energy Reviews. 14, 1037–1047.
- Heidrich Elizabeth S., Edwards Stephen R.. 2014. Performance of a pilot scale microbial electrolysis cell fed on domestic wastewater at ambient temperatures for a 12 month period. Bioresource Technology, 173, 87-95
- Hou Q., Pei H., Hu W., Jiang L., Yu Z., 2016. Mutual facilitations of food waste treatment, microbial fuel cell bioelectricity generation and *Chlorella vulgaris* lipid production. Bioresource Technology, 203, 50-55.
- Jiang D., Curtis M., Troop E., Scheible K., McGrath J., Hu B., Suib S., Raymond D., Li B. 2011. A pilot-scale study on utilizing multi-anode/cathode microbial fuel cells (MAC MFCs) to enhance the power

production in wastewater treatment. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 876-884

- Jiang Haiming, Luo Shengjun, Shi Xiaoshuang, Dai Meng, Guo Rong-bo (2012). A novel microbial fuel cell and photobioreactor system for continuous domestic wastewater treatment and bioelectricity generation. *Biotechnol Lett.* 34. 1269-1274.
- Kakarla Ramesh and Min Booki. 2014. Photoautotrophic microalgae *Scenedesmus obliquus* attached on a cathode as oxygen producers for microbial fuel cell (MFC) operation. *International Journal of Hydrogen Energy*. 39. 10275-10283.
- Kelly P.T., He Z., 2014. Nutrients removal and recovery in bioelectrochemical systems: A review. *Bioresource Technology* 153, 351-360.
- Kim J. R. 2009. Application of Bioelectrochemical Process (BES) for Electricity Generation and Sustainable Wastewater Treatment. *Springer Proceedings in Physics*, 135, 17-21.
- Lam M. Kee, Lee K. T.. 2012. Microalgae Biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnology Advances*, 30, 673-690
- Larsdotter Karin.2006. Wastewater Treatment with microalgae- a literature review. *Vatten*, 62, 31-38
- Lee D, Chang J, Lai J., 2015. Microalgae-microbial fuel cell. A mini review. *Bioresource Technology*.
- Liu H., Ramnarayanan R., Logan B. E. (2004). Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environmental Science Technology*, 38, 2281-2285
- Liu Ting, Rao Liqun, Yuan Yong, Zhuang Li. 2014. Bioelectricity Generation in a Microbial Fuel Cell with a Self-Sustainable Photocathode. *Hindawi Publishing Corporation, The Scientific World Journal*, Article ID 864568
- Lobato Justo, González Del Campo. 2013. Lagooning microbial fuel cells: A first approach by coupling electricity-producing microorganisms and algae. *Applied Energy*, 110, 220-226.
- Logan Bruce E, Hamelers Bert, Rozendal Rene, Schröder Uwe, Keller Jürg, Freguia Stefano, Aelterman Peter, Verstraete Willy, Rabaey Korneel. (2006). *Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology*. *Environmental Science and Technology*. Vol. 40, No 17, pag 5181-5192.
- Loyola A., Morgan-Sagastume J. M., Güereca L. P., 2013. Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales. Guía de apoyo para ciudades pequeñas y medianas. 1ra edición. Universidad Autónoma de México. Instituto de Ingeniería.

- Lu N., Zhou S., Zhuang L., Zhang J., Ni J. 2009. Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell technology. *Biochemical Engineering Journal*, 43, 246-251
- Martínez M.E., Sánchez S., Jiménez J. M., El Yousfi F., Muñoz L. 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology* 73, 263-272.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable Sustainable Energy Reviews*. 14, 217–232.
- Metcalf & Eddy. 2003. *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. Fourth Edition ed. New York: Mc Graw Hill.
- Min B., Cheng S., Logan B. E., 2005. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research*, 39, 1675-1686.
- Min Booki, Kim JungRae, Oh SangEun. 2005. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells.
- Muñoz R., Guieysse B., 2006. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research* 40, 2799-2815.
- Pandey Ashok, Jong Lee Duu, Chisti Yusuf, Socool Carlos R. 2014. *Biofuels from algae*. Elsevier.
- Pires, J., Alvin-Ferraz, M., Martins, F., Simões, M., 2012. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept. *Ren. Sustain. Energy Rev.* 16, 3043–3053.
- Popat S.C, D. Ki D., Rittmann B.E., Torres C. I., 2012. Importance of OH<sup>-</sup> transport from cathodes in microbial fuel cells. *ChemSusChem*, vol. 5, no. 6, pp. 1071–1079.
- Powell E. E., Evitts R. W., Gill G. A., Bolster J. C. 2011. A Microbial Fuel Cell with a Photosynthetic Microalgae Cathodic Half Cell Coupled to a Yeast Anodic Half Cell. *Energy Sources, Part A*, 33, 440-448.
- Quiroz Arita C. E., Peebles C., Bradley T. H., 2015. Scalability of combining microalgae-based biofuels with wastewater facilities: A review. *Algal Research* 9, 160-169.
- Ramírez-Landeros H. E., 2013. Generación de electricidad en una celda de combustible microbiana tipo PEM. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de licenciatura.
- Rashid N., Yu-Feng C., Rehman M. S. U., Han J. 2013. Enhanced electricity generation by using algae biomass and activated sludge in microbial fuel cell. *Science of the Total Environment*, 456-457, 91-94.



- Revelo D. M., Hurtado N. H., Ruiz J. O., 2013. Celdas de combustible microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. *Información Tecnológica* Vol. 24 (6), 17-28
- Rodrigo M. A., Cañizares P., Lobato J., Paz R., Sáez C., Linares J. J., 2007. Production of electricity from the treatment of urban waste water using a microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, 169, 198-204.
- Rodríguez Muñiz V., 2015. Separación de microalgas por ozoflotación en un reactor tipo espumador para la producción de biodiesel. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de licenciatura.
- Rosenbaum Miriam, He Zhen, Angenent Larsus T. 2010. Light energy to bioelectricity: photosynthetic microbial fuel cells. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, 259-264
- Rossi, N., Derouiniot-Chaplain, M., Jaouen, P., Legentilhomme, P., Petit, I., 2008. *Arthrospira platensis* harvesting with membrane: gouling phenomenon with limiting and critical flux. *Bioresources Technology* 99, 6162–6167.
- Rozendal R. A., Hamelers H. V.M., Buisman C. J. N., 2006. Effects of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell Performance. *Environmental, Science and Technology* 40, 5206-5211.
- Ruiz-Marin A., Mendoza-Espinosa L.G., Stephenson T., Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101, 58-64.
- Sacristan de Alva M., Luna-Pabello V. M., Cadena E., Ortiz E., 2013. Green microalga *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production. *Bioresource Technology* 146, 744-748.
- Secretaría de Energía (SENER). 2014. *Prospectiva de Anergias Renovables 2014-2028*.
- Singh A., Singh Nigam P., Murphy J. D.. 2011. Renewable fuels from algae: An answer to debatable land based fuels. *Bioresource Technology*, 102, 10-16.
- Singh Jasvinder, Gu Sai. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 2596–2610
- Strik, D.P.B.T.B., Hamelers, H.V.M., Snel, J.F.H., Buisman, C.J.N. 2008. Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell. *Int. J. Energy Res.* 32(9), 870-876

- Timmers, R. A., Strik, D. P. B. T. B., Hamelers, H. V. M., Buisman, C. J. N. 2010. Long-term performance of a plant microbial fuel cell with *Spartina anglica*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86, 973-981
- Tota-Maharaj K., Paul P., 2015. Performance of pilot-scale microbial fuel cells treating wastewater with associated bioenergy production in the Caribbean context. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*, Vol. 6, 213-220.
- UNESCO. 2014. Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo 2014 Agua y energía. Datos y estadísticas. Programa mundial de evaluación de los recursos hídricos. UNWATER.
- UNESCO. 2014. Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo 2014 Agua y energía. Resumen ejecutivo. Programa mundial de evaluación de los recursos hídricos. UNWATER.
- UNESCO. 2014. The United Nations World Water Development Report 2014. Water and energy. Vol. 1.
- Valeriano González M. T., 2013. Efecto del ozono en la liberación de proteínas surfactantes y en ácidos grasos precursores de biodiesel durante la separación de microalgas mediante ozoflotación. Universidad Nacional Autónoma de México. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería Ambiental-Agua. Tesis de maestría.
- Velazquez-Orta S. B., Curtis T. P., Logan B. E. 2009. Energy From Algae Using Microbial Fuel Cells. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 103. No 6, August 15, 2009, pag. 1068-1076.
- Velazquez-Orta S.B., Head I. M., Curtis T. P., Scott K. (2011). Factors affecting current production in microbial fuel cells using different industrial wastewaters. *Bioresource Technology*, 102, 5105-5112
- Venkata Mohan S., Srikanth S., Chiranjeevi P., Arora S., Chandra R., 2014. Algal biocathode for in situ terminal electron acceptor (TEA) production: Synergetic association of bacteria–microalgae metabolism for the functioning of biofuel cell. *Bioresource Technology*, 166, 566-574.
- Wang X., Feng Y., Liu J., Lee He, Li C., Li N., Ren N. 2010. Sequestration of CO<sub>2</sub> discharged from anode by algal cathode in microbial carbon capture cells (MCCs). *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 2639-2643
- Wen Qing, Wu Ying. 2010. Production of electricity from the treatment of continuous brewery wastewater using a microbial fuel cell
- Wu X., Modin O., 2013. Ammonium recovery from reject water combined with hydrogen production in a bioelectrochemical reactor. *Bioresource Technology* 146, 530-536.

- Wu Y., Wang Z., Zheng Y., Xiao Y, Yang Z., Zhao F., 2014. Light intensity affects the performance of photo microbial fuel cells with *Desmodesmus* sp. A8 as cathodic microorganism. *Applied Energy* 116, 86-90
- Zhang F., Ge Z., Grimaud J., Hurst J., He Z., 2013. Long-Term Performance of Liter-Scale Microbial Fuel Cells Treating Primary Effluent Installed in a Municipal Wastewater Treatment Facility. *Environmental Science & Technology*, 47, 4941-4948.
- Zhou M., He H., Jin T., Wang H. 2012. Power generation enhancement in novel microbial capture cells with immobilized *Chlorella vulgaris*. *Journal of Power Sources*, 214, 216-219.
- Zhuang L., Zhou S., Li Y., Yuan Y., 2010. Enhanced performance of air-cathode two-chamber microbial fuel cells with high-pH anode and low-pH cathode. *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 10, pp. 3514–3519.

## ANEXOS

### Valores de voltaje en la etapa 1.

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
0.00	0.72	0.75	0.35	1.50	0.94	2.25	2.52	3.00	0.39	3.75	0.34
0.02	0.69	0.77	0.35	1.52	1.16	2.27	2.52	3.02	0.39	3.77	0.35
0.04	0.66	0.79	0.36	1.54	0.81	2.29	2.44	3.04	0.39	3.79	0.51
0.06	0.54	0.81	0.36	1.56	0.76	2.31	2.41	3.06	0.38	3.81	0.38
0.08	0.45	0.83	0.37	1.58	0.76	2.33	2.38	3.08	0.39	3.83	0.28
0.10	0.41	0.85	0.39	1.60	0.83	2.35	2.36	3.10	0.40	3.85	0.16
0.13	0.38	0.88	0.40	1.63	0.89	2.38	2.30	3.13	0.39	3.88	-0.19
0.15	0.4	0.90	0.41	1.65	0.85	2.40	2.17	3.15	0.38	3.90	-0.19
0.17	0.42	0.92	0.44	1.67	0.84	2.42	2.07	3.17	0.38	3.92	0.57
0.19	0.46	0.94	0.46	1.69	0.86	2.44	1.98	3.19	0.38	3.94	2.08
0.21	0.53	0.96	0.50	1.71	0.90	2.46	1.86	3.21	0.37	3.96	2.93
0.23	0.53	0.98	0.52	1.73	1.01	2.48	1.60	3.23	0.35	3.98	3.47
0.25	0.53	1.00	0.54	1.75	0.95	2.50	1.30	3.25	0.34	4.00	3.88
0.27	0.52	1.02	0.54	1.77	0.97	2.52	1.02	3.27	0.33	4.02	4.18
0.29	0.51	1.04	0.54	1.79	1.09	2.54	0.81	3.29	0.33	4.04	3.86
0.31	0.5	1.06	0.53	1.81	1.01	2.56	0.66	3.31	0.32	4.06	3.74
0.33	0.5	1.08	0.61	1.83	1.05	2.58	0.60	3.33	0.31	4.08	3.79
0.35	0.52	1.10	0.57	1.85	1.02	2.60	0.65	3.35	0.28	4.10	3.88
0.38	0.5	1.13	0.56	1.88	1.05	2.63	0.62	3.38	0.28	4.13	3.94
0.40	0.47	1.15	0.56	1.90	1.09	2.65	0.57	3.40	0.23	4.15	3.95
0.42	0.45	1.17	0.55	1.92	1.15	2.67	0.56	3.42	0.27	4.17	3.88
0.44	0.44	1.19	0.56	1.94	1.24	2.69	0.55	3.44	0.19	4.19	3.83
0.46	0.43	1.21	0.57	1.96	1.38	2.71	0.53	3.46	0.26	4.21	3.78
0.48	0.48	1.23	0.70	1.98	1.45	2.73	0.44	3.48	0.25	4.23	3.73
0.50	0.41	1.25	0.84	2.00	1.60	2.75	0.41	3.50	0.12	4.25	3.65
0.52	0.41	1.27	0.82	2.02	1.68	2.77	0.39	3.52	0.26	4.27	3.55
0.54	0.39	1.29	0.61	2.04	1.72	2.79	0.39	3.54	0.25	4.29	3.45
0.56	0.39	1.31	0.54	2.06	1.76	2.81	0.38	3.56	0.20	4.31	3.35
0.58	0.38	1.33	0.52	2.08	1.82	2.83	0.38	3.58	0.06	4.33	3.20
0.60	0.38	1.35	0.55	2.10	1.90	2.85	0.45	3.60	0.25	4.35	3.03
0.63	0.42	1.38	0.55	2.13	1.99	2.88	0.38	3.63	0.21	4.38	2.90
0.65	0.46	1.40	0.53	2.15	2.12	2.90	0.38	3.65	0.21	4.40	2.78
0.67	0.38	1.42	0.54	2.17	2.26	2.92	0.39	3.67	0.31	4.42	2.64
0.69	0.37	1.44	0.71	2.19	2.26	2.94	0.40	3.69	0.49	4.44	2.51
0.71	0.36	1.46	0.63	2.21	2.41	2.96	0.41	3.71	0.47	4.46	2.39
0.73	0.36	1.48	0.63	2.23	2.62	2.98	0.39	3.73	0.44	4.48	2.29

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
4.50	2.19	5.25	2.32	6.00	1.10	6.75	1.19	7.50	5.68	8.25	3.43
4.52	2.09	5.27	2.19	6.02	1.16	6.77	1.19	7.52	5.56	8.27	3.37
4.54	2.01	5.29	2.05	6.04	1.22	6.79	1.20	7.54	5.47	8.29	3.23
4.56	1.95	5.31	1.89	6.06	1.26	6.81	1.25	7.56	5.30	8.31	3.12
4.58	1.88	5.33	1.77	6.08	1.32	6.83	1.29	7.58	5.10	8.33	3.01
4.60	1.82	5.35	1.63	6.10	1.44	6.85	1.33	7.60	4.90	8.35	2.88
4.63	1.78	5.38	1.54	6.13	1.46	6.88	1.39	7.63	4.72	8.38	2.82
4.65	1.71	5.40	1.46	6.15	1.49	6.90	1.52	7.65	4.44	8.40	2.75
4.67	1.67	5.42	1.42	6.17	1.50	6.92	2.09	7.67	4.19	8.42	2.69
4.69	1.64	5.44	1.36	6.19	1.50	6.94	6.50	7.69	3.97	8.44	2.65
4.71	1.63	5.46	1.29	6.21	1.49	6.96	7.91	7.71	3.75	8.46	2.59
4.73	1.62	5.48	1.25	6.23	1.48	6.98	8.60	7.73	3.59	8.48	2.54
4.75	1.61	5.50	1.25	6.25	1.47	7.00	8.98	7.75	3.48	8.50	2.49
4.77	1.65	5.52	1.18	6.27	1.45	7.02	9.46	7.77	3.36	8.52	2.47
4.79	1.67	5.54	1.14	6.29	1.45	7.04	9.91	7.79	3.25	8.54	2.45
4.81	1.74	5.56	1.11	6.31	1.42	7.06	7.19	7.81	3.22	8.56	2.45
4.83	1.79	5.58	1.11	6.33	1.40	7.08	6.89	7.83	3.19	8.58	2.44
4.85	1.87	5.60	1.09	6.35	1.37	7.10	7.10	7.85	3.21	8.60	2.44
4.88	1.97	5.63	1.08	6.38	1.40	7.13	7.20	7.88	3.30	8.63	2.43
4.90	2.09	5.65	1.01	6.40	1.36	7.15	7.21	7.90	3.39	8.65	2.43
4.92	2.23	5.67	0.98	6.42	1.35	7.17	7.15	7.92	3.56	8.67	2.43
4.94	2.37	5.69	0.95	6.44	1.33	7.19	7.09	7.94	3.74	8.69	2.43
4.96	2.50	5.71	0.92	6.46	1.31	7.21	7.03	7.96	3.92	8.71	2.42
4.98	2.67	5.73	0.89	6.48	1.31	7.23	6.98	7.98	4.05	8.73	2.40
5.00	2.87	5.75	0.88	6.50	1.30	7.25	6.92	8.00	4.18	8.75	2.41
5.02	2.97	5.77	0.85	6.52	1.30	7.27	6.89	8.02	4.26	8.77	3.14
5.04	3.05	5.79	0.83	6.54	1.31	7.29	6.85	8.04	4.28	8.79	6.54
5.06	3.12	5.81	0.83	6.56	1.29	7.31	6.79	8.06	4.29	8.81	8.56
5.08	3.12	5.83	0.85	6.58	1.29	7.33	6.67	8.08	4.32	8.83	6.33
5.10	3.08	5.85	0.86	6.60	1.27	7.35	6.58	8.10	4.19	8.85	12.39
5.13	3.01	5.88	0.87	6.63	1.27	7.38	6.49	8.13	3.98	8.88	13.96
5.15	2.92	5.90	0.90	6.65	1.25	7.40	6.36	8.15	3.83	8.90	14.12
5.17	2.83	5.92	0.93	6.67	1.23	7.42	6.26	8.17	3.72	8.92	14.41
5.19	2.73	5.94	0.95	6.69	1.23	7.44	6.19	8.19	3.61	8.94	14.86
5.21	2.60	5.96	1.00	6.71	1.20	7.46	5.98	8.21	3.52	8.96	13.06
5.23	2.47	5.98	1.03	6.73	1.19	7.48	5.82	8.23	3.48	8.98	12.39

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
9.00	12.47	9.75	2.12	10.50	1.88	11.25	2.04	12.00	0.76	12.75	0.47
9.02	12.40	9.77	2.12	10.52	1.87	11.27	1.89	12.02	0.77	12.77	0.47
9.04	12.33	9.79	2.12	10.54	1.85	11.29	1.75	12.04	0.77	12.79	0.48
9.06	12.15	9.81	2.14	10.56	1.83	11.31	1.63	12.06	0.77	12.81	0.50
9.08	11.93	9.83	2.17	10.58	1.80	11.33	1.54	12.08	0.78	12.83	0.51
9.10	11.71	9.85	2.23	10.60	1.77	11.35	1.46	12.10	0.78	12.85	0.53
9.13	11.35	9.88	2.31	10.63	1.75	11.38	1.41	12.13	0.80	12.88	0.57
9.15	10.84	9.90	2.40	10.65	1.73	11.40	1.38	12.15	0.79	12.90	0.66
9.17	10.40	9.92	2.51	10.67	1.69	11.42	1.34	12.17	0.79	12.92	0.77
9.19	9.88	9.94	2.61	10.69	1.66	11.44	1.30	12.19	0.79	12.94	0.85
9.21	9.33	9.96	2.73	10.71	1.64	11.46	1.27	12.21	0.77	12.96	0.95
9.23	8.53	9.98	2.88	10.73	1.60	11.48	1.25	12.23	0.76	12.98	1.04
9.25	7.67	10.00	3.01	10.75	1.60	11.50	1.23	12.25	0.74	13.00	1.13
9.27	6.91	10.02	3.07	10.77	1.59	11.52	1.20	12.27	0.71	13.02	1.24
9.29	6.23	10.04	3.15	10.79	1.58	11.54	1.16	12.29	0.68	13.04	1.33
9.31	5.63	10.06	3.12	10.81	1.59	11.56	1.13	12.31	0.66	13.06	1.44
9.33	5.13	10.08	3.12	10.83	1.63	11.58	1.10	12.33	0.65	13.08	1.56
9.35	4.61	10.10	2.99	10.85	1.68	11.60	1.07	12.35	0.64	13.10	1.66
9.38	4.21	10.13	2.85	10.88	1.75	11.63	1.04	12.38	0.62	13.13	1.72
9.40	3.91	10.15	2.75	10.90	1.84	11.65	1.01	12.40	0.62	13.15	1.62
9.42	3.64	10.17	2.63	10.92	1.97	11.67	0.98	12.42	0.60	13.17	1.52
9.44	3.38	10.19	2.53	10.94	2.11	11.69	0.94	12.44	0.60	13.19	1.39
9.46	3.16	10.21	2.44	10.96	2.24	11.71	0.89	12.46	0.58	13.21	1.24
9.48	3.01	10.23	2.34	10.98	2.40	11.73	0.84	12.48	0.57	13.23	1.13
9.50	2.86	10.25	2.25	11.00	2.55	11.75	0.83	12.50	0.57	13.25	1.00
9.52	2.74	10.27	2.19	11.02	2.68	11.77	0.81	12.52	0.57	13.27	0.90
9.54	2.62	10.29	2.13	11.04	2.79	11.79	0.79	12.54	0.55	13.29	0.82
9.56	2.51	10.31	2.07	11.06	2.86	11.81	0.77	12.56	0.55	13.31	0.75
9.58	2.46	10.33	2.05	11.08	2.92	11.83	0.76	12.58	0.54	13.33	0.70
9.60	2.40	10.35	2.03	11.10	2.90	11.85	0.76	12.60	0.52	13.35	0.66
9.63	2.34	10.38	2.02	11.13	2.86	11.88	0.74	12.63	0.52	13.38	0.63
9.65	2.34	10.40	1.98	11.15	2.85	11.90	0.74	12.65	0.51	13.40	0.61
9.67	2.26	10.42	1.95	11.17	2.78	11.92	0.75	12.67	0.50	13.42	0.65
9.69	2.21	10.44	1.94	11.19	2.64	11.94	0.74	12.69	0.49	13.44	0.69
9.71	2.17	10.46	1.92	11.21	2.46	11.96	0.75	12.71	0.48	13.46	0.54
9.73	2.14	10.48	1.89	11.23	2.24	11.98	0.75	12.73	0.47	13.48	0.34

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
13.50	0.27	14.25	-0.19	15.00	12.26	15.75	1.84	16.50	7.43	17.25	52.29
13.52	-0.08	14.27	-0.19	15.02	10.52	15.77	1.80	16.52	6.98	17.27	51.43
13.54	-0.13	14.29	-0.19	15.04	9.20	15.79	1.75	16.54	6.56	17.29	49.36
13.56	-0.15	14.31	-0.19	15.06	8.30	15.81	1.75	16.56	6.19	17.31	46.50
13.58	-0.17	14.33	-0.19	15.08	7.63	15.83	1.77	16.58	5.82	17.33	41.25
13.60	-0.18	14.35	-0.19	15.10	7.28	15.85	1.78	16.60	5.46	17.35	35.97
13.63	-0.19	14.38	-0.19	15.13	7.05	15.88	1.85	16.63	5.11	17.38	30.36
13.65	-0.19	14.40	-0.19	15.15	6.84	15.90	-6.03	16.65	4.77	17.40	26.86
13.67	-0.19	14.42	-0.19	15.17	6.72	15.92	0.62	16.67	4.48	17.42	25.31
13.69	-0.19	14.44	-0.19	15.19	6.65	15.94	5.93	16.69	4.17	17.44	23.84
13.71	-0.19	14.46	-0.19	15.21	6.45	15.96	-0.17	16.71	3.86	17.46	22.37
13.73	-0.19	14.48	-0.19	15.23	6.14	15.98	-0.21	16.73	3.61	17.48	20.52
13.75	-0.19	14.50	-0.19	15.25	5.85	16.00	-0.20	16.75	3.39	17.50	18.97
13.77	-0.19	14.52	-0.19	15.27	5.55	16.02	-0.22	16.77	3.24	17.52	17.52
13.79	-0.19	14.54	-0.19	15.29	5.19	16.04	-0.21	16.79	3.08	17.54	16.44
13.81	-0.19	14.56	-0.19	15.31	4.82	16.06	10.89	16.81	3.01	17.56	15.58
13.83	-0.19	14.58	-0.19	15.33	4.46	16.08	26.16	16.83	2.90	17.58	15.06
13.85	-0.19	14.60	-0.19	15.35	4.14	16.10	31.04	16.85	2.89	17.60	14.53
13.88	-0.19	14.63	-0.19	15.38	3.88	16.13	27.65	16.88	2.80	17.63	13.74
13.90	-0.19	14.65	-0.19	15.40	3.64	16.15	23.78	16.90	2.83	17.65	12.74
13.92	-0.19	14.67	-0.19	15.42	3.43	16.17	23.44	16.92	2.88	17.67	11.76
13.94	-0.19	14.69	-0.19	15.44	3.25	16.19	23.06	16.94	4.40	17.69	10.90
13.96	-0.13	14.71	-0.19	15.46	3.11	16.21	22.00	16.96	6.91	17.71	10.17
13.98	-0.19	14.73	-0.19	15.48	3.00	16.23	20.92	16.98	9.67	17.73	9.56
14.00	-0.18	14.75	-0.19	15.50	2.91	16.25	19.66	17.00	6.62	17.75	8.99
14.02	-0.12	14.77	-0.19	15.52	2.78	16.27	18.09	17.02	5.08	17.77	8.63
14.04	-0.05	14.79	-0.18	15.54	2.65	16.29	16.48	17.04	16.48	17.79	8.42
14.06	-0.12	14.81	-0.19	15.56	2.55	16.31	14.84	17.06	40.07	17.81	7.90
14.08	-0.10	14.83	-0.19	15.58	2.47	16.33	13.47	17.08	42.10	17.83	7.53
14.10	-0.04	14.85	-0.19	15.60	2.37	16.35	12.26	17.10	56.44	17.85	7.29
14.13	-0.10	14.88	-0.19	15.63	2.28	16.38	11.28	17.13	53.08	17.88	7.13
14.15	0.00	14.90	-0.19	15.65	2.21	16.40	10.47	17.15	53.07	17.90	7.02
14.17	-0.14	14.92	0.24	15.67	2.16	16.42	9.78	17.17	54.34	17.92	6.95
14.19	-0.03	14.94	11.05	15.69	2.10	16.44	9.09	17.19	54.17	17.94	6.92
14.21	-0.14	14.96	10.78	15.71	2.01	16.46	8.51	17.21	53.69	17.96	6.91
14.23	-0.14	14.98	9.82	15.73	1.92	16.48	7.95	17.23	53.18	17.98	6.99

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
18.00	7.26	18.75	2.24	19.50	1.94	20.25	30.92	21.00	42.86	21.75	30.35
18.02	7.22	18.77	2.15	19.52	2.01	20.27	29.85	21.02	46.11	21.77	29.06
18.04	7.32	18.79	2.09	19.54	2.07	20.29	29.04	21.04	46.42	21.79	26.62
18.06	7.43	18.81	2.04	19.56	2.13	20.31	28.27	21.06	49.04	21.81	24.74
18.08	7.52	18.83	1.95	19.58	2.18	20.33	27.76	21.08	55.40	21.83	24.15
18.10	7.61	18.85	1.88	19.60	2.22	20.35	27.41	21.10	58.48	21.85	23.91
18.13	7.69	18.88	1.84	19.63	2.22	20.38	26.99	21.13	59.47	21.88	23.93
18.15	7.73	18.90	1.85	19.65	2.22	20.40	26.63	21.15	59.42	21.90	24.24
18.17	7.76	18.92	1.90	19.67	2.22	20.42	26.14	21.17	58.41	21.92	24.57
18.19	7.68	18.94	1.92	19.69	2.20	20.44	25.54	21.19	57.26	21.94	24.98
18.21	7.44	18.96	1.81	19.71	2.19	20.46	24.79	21.21	55.84	21.96	25.59
18.23	7.10	18.98	1.66	19.73	2.16	20.48	23.60	21.23	54.44	21.98	20.00
18.25	6.77	19.00	1.61	19.75	2.14	20.50	22.02	21.25	53.07	22.00	6.69
18.27	6.45	19.02	1.61	19.77	2.12	20.52	19.19	21.27	51.90	22.02	30.24
18.29	6.19	19.04	1.60	19.79	2.11	20.54	17.74	21.29	50.87	22.04	47.31
18.31	5.79	19.06	1.66	19.81	2.12	20.56	16.76	21.31	49.88	22.06	45.11
18.33	5.41	19.08	1.67	19.83	2.13	20.58	15.91	21.33	48.88	22.08	50.11
18.35	5.13	19.10	1.63	19.85	2.03	20.60	15.21	21.35	47.91	22.10	64.05
18.38	4.89	19.13	1.55	19.88	1.50	20.63	14.55	21.38	47.01	22.13	68.46
18.40	4.62	19.15	1.53	19.90	7.21	20.65	14.01	21.40	46.17	22.15	69.43
18.42	4.29	19.17	1.52	19.92	27.17	20.67	13.49	21.42	45.47	22.17	69.81
18.44	4.07	19.19	1.50	19.94	37.92	20.69	13.01	21.44	44.93	22.19	69.19
18.46	3.86	19.21	1.44	19.96	39.13	20.71	12.65	21.46	44.21	22.21	68.10
18.48	3.66	19.23	1.36	19.98	38.82	20.73	12.25	21.48	43.24	22.23	67.41
18.50	3.48	19.25	1.35	20.00	41.05	20.75	11.94	21.50	42.12	22.25	66.47
18.52	3.32	19.27	1.37	20.02	43.70	20.77	11.58	21.52	40.54	22.27	65.44
18.54	3.19	19.29	1.39	20.04	48.81	20.79	11.33	21.54	38.07	22.29	64.40
18.56	3.06	19.31	1.43	20.06	50.80	20.81	11.16	21.56	36.25	22.31	63.16
18.58	2.97	19.33	1.48	20.08	49.76	20.83	11.12	21.58	35.70	22.33	61.65
18.60	2.85	19.35	1.52	20.10	47.81	20.85	11.13	21.60	35.25	22.35	60.26
18.63	2.75	19.38	1.54	20.13	45.24	20.88	11.20	21.63	34.77	22.38	58.92
18.65	2.66	19.40	1.56	20.15	43.08	20.90	11.66	21.65	34.23	22.40	57.63
18.67	2.57	19.42	1.59	20.17	40.65	20.92	12.00	21.67	33.64	22.42	56.31
18.69	2.48	19.44	1.69	20.19	38.09	20.94	9.67	21.69	33.01	22.44	54.45
18.71	2.40	19.46	1.78	20.21	34.64	20.96	15.95	21.71	32.29	22.46	51.72
18.73	2.32	19.48	1.86	20.23	32.12	20.98	37.31	21.73	31.43	22.48	48.84



Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
22.50	46.93	23.25	52.00	24.00	38.72	24.75	50.30	25.50	31.34	26.25	16.01
22.52	45.25	23.27	51.61	24.02	45.35	24.77	49.98	25.52	30.64	26.27	15.89
22.54	43.42	23.29	50.76	24.04	46.45	24.79	49.84	25.54	30.03	26.29	15.68
22.56	40.30	23.31	50.44	24.06	47.95	24.81	49.78	25.56	29.47	26.31	15.47
22.58	38.36	23.33	50.26	24.08	55.83	24.83	49.57	25.58	28.94	26.33	15.20
22.60	37.01	23.35	49.57	24.10	58.52	24.85	49.64	25.60	28.40	26.35	14.81
22.63	35.59	23.38	49.12	24.13	57.65	24.88	49.60	25.63	27.87	26.38	14.36
22.65	34.10	23.40	48.47	24.15	57.07	24.90	49.60	25.65	27.25	26.40	13.89
22.67	32.53	23.42	47.58	24.17	57.72	24.92	49.69	25.67	26.53	26.42	13.47
22.69	30.80	23.44	46.97	24.19	58.73	24.94	49.91	25.69	25.55	26.44	13.10
22.71	28.95	23.46	46.59	24.21	58.80	24.96	50.13	25.71	24.41	26.46	12.76
22.73	26.67	23.48	45.69	24.23	58.76	24.98	50.33	25.73	23.44	26.48	12.45
22.75	23.97	23.50	45.11	24.25	58.49	25.00	50.47	25.75	22.68	26.50	12.12
22.77	21.80	23.52	44.71	24.27	58.09	25.02	50.46	25.77	22.00	26.52	11.78
22.79	19.97	23.54	44.09	24.29	57.56	25.04	50.36	25.79	21.31	26.54	11.42
22.81	18.57	23.56	43.82	24.31	57.01	25.06	50.18	25.81	20.66	26.56	11.09
22.83	17.28	23.58	43.58	24.33	56.20	25.08	49.95	25.83	19.99	26.58	10.77
22.85	16.43	23.60	43.21	24.35	55.95	25.10	49.63	25.85	19.36	26.60	10.45
22.88	16.03	23.63	42.98	24.38	55.78	25.13	49.34	25.88	18.79	26.63	10.15
22.90	15.74	23.65	42.68	24.40	55.45	25.15	49.26	25.90	17.99	26.65	9.80
22.92	15.66	23.67	42.16	24.42	55.20	25.17	49.20	25.92	17.14	26.67	9.52
22.94	15.83	23.69	41.79	24.44	55.08	25.19	49.07	25.94	16.76	26.69	9.25
22.96	16.17	23.71	41.06	24.46	54.71	25.21	48.86	25.96	16.39	26.71	9.00
22.98	16.72	23.73	40.10	24.48	54.21	25.23	48.60	25.98	16.21	26.73	8.78
23.00	17.43	23.75	39.27	24.50	53.73	25.25	48.23	26.00	16.16	26.75	8.56
23.02	18.22	23.77	38.24	24.52	53.39	25.27	47.79	26.02	16.08	26.77	8.32
23.04	19.03	23.79	36.78	24.54	53.05	25.29	47.32	26.04	16.04	26.79	8.08
23.06	19.95	23.81	34.03	24.56	52.71	25.31	46.69	26.06	16.06	26.81	7.91
23.08	20.88	23.83	32.10	24.58	52.44	25.33	45.98	26.08	16.10	26.83	7.70
23.10	13.28	23.85	31.00	24.60	52.12	25.35	45.19	26.10	16.18	26.85	7.55
23.13	45.66	23.88	29.80	24.63	51.66	25.38	44.22	26.13	16.24	26.88	7.44
23.15	51.46	23.90	28.73	24.65	51.48	25.40	42.46	26.15	16.29	26.90	7.43
23.17	53.82	23.92	28.54	24.67	51.15	25.42	39.79	26.17	16.28	26.92	7.51
23.19	53.68	23.94	28.79	24.69	51.01	25.44	36.72	26.19	16.26	26.94	7.64
23.21	53.23	23.96	28.97	24.71	50.83	25.46	34.63	26.21	16.20	26.96	7.82
23.23	52.46	23.98	12.71	24.73	50.58	25.48	32.44	26.23	16.11	26.98	8.09

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
27.00	8.79	27.75	18.78	28.50	12.44	29.25	57.81	30.00	67.53	30.75	28.88
27.02	4.63	27.77	18.69	28.52	12.25	29.27	56.95	30.02	65.85	30.77	27.11
27.04	10.48	27.79	18.57	28.54	11.93	29.29	56.17	30.04	64.90	30.79	25.26
27.06	45.24	27.81	18.27	28.56	11.57	29.31	55.43	30.06	64.18	30.81	24.94
27.08	45.83	27.83	17.83	28.58	11.24	29.33	54.59	30.08	63.45	30.83	24.28
27.10	47.16	27.85	17.30	28.60	10.97	29.35	53.73	30.10	62.57	30.85	9.69
27.13	53.59	27.88	16.78	28.63	10.56	29.38	52.82	30.13	61.60	30.88	26.30
27.15	57.95	27.90	15.98	28.65	10.09	29.40	51.67	30.15	60.39	30.90	49.84
27.17	55.89	27.92	15.14	28.67	9.67	29.42	50.17	30.17	58.95	30.92	45.44
27.19	54.74	27.94	14.70	28.69	9.32	29.44	48.38	30.19	57.45	30.94	59.14
27.21	53.48	27.96	14.39	28.71	9.07	29.46	45.86	30.21	55.94	30.96	59.21
27.23	52.32	27.98	14.28	28.73	8.89	29.48	42.92	30.23	54.51	30.98	61.76
27.25	52.02	28.00	13.98	28.75	8.63	29.50	40.71	30.25	53.08	31.00	62.46
27.27	50.96	28.02	13.83	28.77	8.42	29.52	38.16	30.27	51.81	31.02	61.78
27.29	50.71	28.04	13.74	28.79	8.19	29.54	36.53	30.29	50.59	31.04	61.17
27.31	50.24	28.06	13.63	28.81	8.01	29.56	35.25	30.31	49.41	31.06	60.86
27.33	49.87	28.08	13.66	28.83	7.87	29.58	34.05	30.33	48.29	31.08	60.45
27.35	49.57	28.10	13.65	28.85	7.78	29.60	32.87	30.35	47.38	31.10	60.06
27.38	49.44	28.13	13.52	28.88	7.72	29.63	31.74	30.38	46.62	31.13	60.09
27.40	48.42	28.15	13.44	28.90	7.71	29.65	30.65	30.40	46.06	31.15	60.02
27.42	33.84	28.17	13.34	28.92	7.68	29.67	29.49	30.42	45.64	31.17	59.94
27.44	29.14	28.19	13.25	28.94	2.42	29.69	28.23	30.44	45.35	31.19	59.89
27.46	28.62	28.21	13.10	28.96	35.47	29.71	26.77	30.46	45.25	31.21	59.72
27.48	27.20	28.23	12.92	28.98	58.90	29.73	25.34	30.48	45.21	31.23	59.43
27.50	26.43	28.25	12.73	29.00	64.35	29.75	23.67	30.50	45.26	31.25	58.99
27.52	25.21	28.27	12.61	29.02	64.49	29.77	21.16	30.52	45.34	31.27	58.62
27.54	24.60	28.29	12.51	29.04	63.83	29.79	18.73	30.54	45.22	31.29	58.54
27.56	24.02	28.31	12.45	29.06	63.51	29.81	17.28	30.56	44.63	31.31	58.49
27.58	23.27	28.33	12.23	29.08	63.02	29.83	16.13	30.58	42.90	31.33	57.59
27.60	22.52	28.35	12.10	29.10	62.68	29.85	15.32	30.60	40.06	31.35	56.94
27.63	21.66	28.38	12.08	29.13	62.15	29.88	14.91	30.63	37.20	31.38	56.32
27.65	20.87	28.40	12.06	29.15	61.71	29.90	2.90	30.65	35.20	31.40	55.71
27.67	20.00	28.42	12.09	29.17	61.01	29.92	23.81	30.67	34.10	31.42	54.85
27.69	19.37	28.44	12.21	29.19	60.26	29.94	52.60	30.69	33.06	31.44	53.55
27.71	18.96	28.46	12.34	29.21	59.42	29.96	69.42	30.71	32.07	31.46	51.08
27.73	18.82	28.48	12.40	29.23	58.58	29.98	69.42	30.73	30.81	31.48	47.41

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
31.50	43.92	32.25	59.53	33.00	54.02	33.75	19.85
31.52	41.24	32.27	57.86	33.02	45.90	33.77	18.91
31.54	39.56	32.29	56.75	33.04	45.35	33.79	18.05
31.56	38.00	32.31	55.63	33.06	43.77	33.81	17.33
31.58	36.49	32.33	54.49	33.08	43.19	33.83	16.82
31.60	35.00	32.35	53.24	33.10	43.11	33.85	16.76
31.63	33.44	32.38	51.72	33.13	43.18	33.88	17.15
31.65	31.73	32.40	49.45	33.15	43.40	33.90	16.97
31.67	29.88	32.42	45.60	33.17	43.69	33.92	17.04
31.69	27.97	32.44	41.19	33.19	44.06	33.94	17.18
31.71	26.17	32.46	37.45	33.21	44.51	33.96	5.08
31.73	24.56	32.48	35.59	33.23	44.99	33.98	38.13
31.75	23.17	32.50	34.17	33.25	45.47	34.00	40.03
31.77	22.10	32.52	32.82	33.27	46.10	34.02	45.12
31.79	21.31	32.54	31.51	33.29	46.67	34.04	58.88
31.81	20.63	32.56	30.23	33.31	47.09	34.06	51.18
31.83	12.82	32.58	28.81	33.33	47.44	-	-
31.85	17.81	32.60	27.09	33.35	48.60	-	-
31.88	75.90	32.63	25.28	33.38	48.34	-	-
31.90	84.76	32.65	23.58	33.40	47.12	-	-
31.92	84.25	32.67	21.94	33.42	44.73	-	-
31.94	79.38	32.69	20.37	33.44	40.56	-	-
31.96	78.16	32.71	18.93	33.46	37.34	-	-
31.98	76.83	32.73	17.78	33.48	34.44	-	-
32.00	75.02	32.75	16.75	33.50	32.58	-	-
32.02	74.44	32.77	8.47	33.52	31.66	-	-
32.04	70.30	32.79	42.13	33.54	30.88	-	-
32.06	67.07	32.81	66.96	33.56	30.11	-	-
32.08	68.84	32.83	72.40	33.58	29.29	-	-
32.10	68.81	32.85	70.47	33.60	28.39	-	-
32.13	65.54	32.88	67.19	33.63	27.34	-	-
32.15	64.27	32.90	65.36	33.65	26.05	-	-
32.17	63.41	32.92	64.02	33.67	24.70	-	-
32.19	62.61	32.94	56.57	33.69	23.36	-	-
32.21	61.73	32.96	56.09	33.71	22.08	-	-
32.23	60.87	32.98	56.01	33.73	20.93	-	-

## Valores de voltaje en la etapa 2

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
0.00	53.59	0.63	18.78	1.25	12.08	1.88	64.35	2.50	31.74	3.13	53.08
0.02	57.95	0.65	18.69	1.27	12.06	1.90	64.49	2.52	30.65	3.15	51.81
0.04	55.89	0.67	18.57	1.29	12.09	1.92	63.83	2.54	29.49	3.17	50.59
0.06	54.74	0.69	18.27	1.31	12.21	1.94	63.51	2.56	28.23	3.19	49.41
0.08	53.48	0.71	17.83	1.33	12.34	1.96	63.02	2.58	26.77	3.21	48.29
0.10	52.32	0.73	17.30	1.35	12.40	1.98	62.68	2.60	25.34	3.23	47.38
0.13	52.02	0.75	16.78	1.38	12.44	2.00	62.15	2.63	23.67	3.25	46.62
0.15	50.96	0.77	15.98	1.40	12.25	2.02	61.71	2.65	21.16	3.27	46.06
0.17	50.71	0.79	15.14	1.42	11.93	2.04	61.01	2.67	18.73	3.29	45.64
0.19	50.24	0.81	14.70	1.44	11.57	2.06	60.26	2.69	17.28	3.31	45.35
0.21	49.87	0.83	14.39	1.46	11.24	2.08	59.42	2.71	16.13	3.33	45.25
0.23	49.57	0.85	14.28	1.48	10.97	2.10	58.58	2.73	15.32	3.35	45.21
0.25	49.44	0.88	13.98	1.50	10.56	2.13	57.81	2.75	14.91	3.38	45.26
0.27	48.42	0.90	13.83	1.52	10.09	2.15	56.95	2.77	2.90	3.40	45.34
0.29	33.84	0.92	13.74	1.54	9.67	2.17	56.17	2.79	23.81	3.42	45.22
0.31	29.14	0.94	13.63	1.56	9.32	2.19	55.43	2.81	52.60	3.44	44.63
0.33	28.62	0.96	13.66	1.58	9.07	2.21	54.59	2.83	69.42	3.46	42.90
0.35	27.2	0.98	13.65	1.60	8.89	2.23	53.73	2.85	69.42	3.48	40.06
0.38	26.43	1.00	13.52	1.63	8.63	2.25	52.82	2.88	67.53	3.50	37.20
0.40	25.21	1.02	13.44	1.65	8.42	2.27	51.67	2.90	65.85	3.52	35.20
0.42	24.6	1.04	13.34	1.67	8.19	2.29	50.17	2.92	64.90	3.54	34.10
0.44	24.02	1.06	13.25	1.69	8.01	2.31	48.38	2.94	64.18	3.56	33.06
0.46	23.27	1.08	13.10	1.71	7.87	2.33	45.86	2.96	63.45	3.58	32.07
0.48	22.52	1.10	12.92	1.73	7.78	2.35	42.92	2.98	62.57	3.60	30.81
0.50	21.66	1.13	12.73	1.75	7.72	2.38	40.71	3.00	61.60	3.63	28.88
0.52	20.87	1.15	12.61	1.77	7.71	2.40	38.16	3.02	60.39	3.65	27.11
0.54	20	1.17	12.51	1.79	7.68	2.42	36.53	3.04	58.95	3.67	25.26
0.56	19.37	1.19	12.45	1.81	2.42	2.44	35.25	3.06	57.45	3.69	24.94
0.58	18.96	1.21	12.23	1.83	35.47	2.46	34.05	3.08	55.94	3.71	24.28
0.60	18.82	1.23	12.10	1.85	58.90	2.48	32.87	3.10	54.51	3.73	9.69

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
3.75	26.30	4.38	43.92	5.00	65.54	5.63	16.75	6.25	48.34	6.88	40.00
3.77	49.84	4.40	41.24	5.02	64.27	5.65	8.47	6.27	47.12	6.90	60.00
3.79	45.44	4.42	39.56	5.04	63.41	5.67	42.13	6.29	44.73	6.92	58.88
3.81	59.14	4.44	38.00	5.06	62.61	5.69	66.96	6.31	40.56	6.94	51.18
3.83	59.21	4.46	36.49	5.08	61.73	5.71	72.40	6.33	37.34	6.96	50.62
3.85	61.76	4.48	35.00	5.10	60.87	5.73	70.47	6.35	34.44	6.98	49.81
3.88	62.46	4.50	33.44	5.13	59.53	5.75	67.19	6.38	32.58	7.00	49.19
3.90	61.78	4.52	31.73	5.15	57.86	5.77	65.36	6.40	31.66	7.02	48.90
3.92	61.17	4.54	29.88	5.17	56.75	5.79	64.02	6.42	30.88	7.04	48.52
3.94	60.86	4.56	27.97	5.19	55.63	5.81	56.57	6.44	30.11	7.06	48.21
3.96	60.45	4.58	26.17	5.21	54.49	5.83	56.09	6.46	29.29	7.08	48.03
3.98	60.06	4.60	24.56	5.23	53.24	5.85	56.01	6.48	28.39	7.10	47.91
4.00	60.09	4.63	23.17	5.25	51.72	5.88	54.02	6.50	27.34	7.13	47.68
4.02	60.02	4.65	22.10	5.27	49.45	5.90	45.90	6.52	26.05	7.15	47.32
4.04	59.94	4.67	21.31	5.29	45.60	5.92	45.35	6.54	24.70	7.17	47.00
4.06	59.89	4.69	20.63	5.31	41.19	5.94	43.77	6.56	23.36	7.19	46.68
4.08	59.72	4.71	12.82	5.33	37.45	5.96	43.19	6.58	22.08	7.21	46.37
4.10	59.43	4.73	17.81	5.35	35.59	5.98	43.11	6.60	20.93	7.23	45.99
4.13	58.99	4.75	75.90	5.38	34.17	6.00	43.18	6.63	19.85	7.25	45.56
4.15	58.62	4.77	84.76	5.40	32.82	6.02	43.40	6.65	18.91	7.27	44.93
4.17	58.54	4.79	84.25	5.42	31.51	6.04	43.69	6.67	18.05	7.29	43.83
4.19	58.49	4.81	79.38	5.44	30.23	6.06	44.06	6.69	17.33	7.31	41.78
4.21	57.59	4.83	78.16	5.46	28.81	6.08	44.51	6.71	16.82	7.33	38.55
4.23	56.94	4.85	76.83	5.48	27.09	6.10	44.99	6.73	16.76	7.35	36.38
4.25	56.32	4.88	75.02	5.50	25.28	6.13	45.47	6.75	17.15	7.38	33.42
4.27	55.71	4.90	74.44	5.52	23.58	6.15	46.10	6.77	16.97	7.40	31.66
4.29	54.85	4.92	70.30	5.54	21.94	6.17	46.67	6.79	17.04	7.42	30.54
4.31	53.55	4.94	67.07	5.56	20.37	6.19	47.09	6.81	17.18	7.44	29.56
4.33	51.08	4.96	68.84	5.58	18.93	6.21	47.44	6.83	5.08	7.46	28.55
4.35	47.41	4.98	68.81	5.60	17.78	6.23	48.60	6.85	38.13	7.48	27.61

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
7.50	26.53	8.13	10.86	8.75	4.21	9.38	20.38	10.00	74.64	10.63	11.96
7.52	25.25	8.15	10.37	8.77	4.27	9.40	18.86	10.02	66.62	10.65	12.42
7.54	23.92	8.17	9.86	8.79	4.36	9.42	17.45	10.04	58.18	10.67	12.43
7.56	22.59	8.19	9.34	8.81	2.62	9.44	16.16	10.06	54.34	10.69	11.96
7.58	21.24	8.21	8.88	8.83	51.00	9.46	15.03	10.08	50.25	10.71	11.05
7.60	19.99	8.23	8.47	8.85	53.50	9.48	14.01	10.10	45.54	10.73	10.63
7.63	18.88	8.25	8.08	8.88	58.61	9.50	13.09	10.13	40.63	10.75	10.71
7.65	17.94	8.27	7.71	8.90	63.77	9.52	12.30	10.15	35.83	10.77	10.63
7.67	17.15	8.29	7.36	8.92	66.73	9.54	11.62	10.17	31.16	10.79	10.55
7.69	16.52	8.31	7.06	8.94	67.97	9.56	11.03	10.19	26.92	10.81	10.84
7.71	16.03	8.33	6.79	8.96	67.97	9.58	10.55	10.21	23.20	10.83	10.99
7.73	15.70	8.35	6.52	8.98	67.33	9.60	10.18	10.23	19.50	10.85	11.43
7.75	15.50	8.38	6.27	9.00	66.14	9.63	9.87	10.25	17.39	10.88	5.23
7.77	15.46	8.40	6.05	9.02	64.57	9.65	9.64	10.27	15.94	10.90	48.30
7.79	15.46	8.42	5.85	9.04	62.69	9.67	9.60	10.29	14.77	10.92	61.40
7.81	15.46	8.44	5.65	9.06	60.61	9.69	9.45	10.31	14.21	10.94	54.21
7.83	15.33	8.46	5.46	9.08	58.35	9.71	9.44	10.33	13.86	10.96	49.03
7.85	15.14	8.48	5.25	9.10	55.81	9.73	9.50	10.35	13.65	10.98	45.28
7.88	14.99	8.50	5.07	9.13	51.46	9.75	9.65	10.38	13.46	11.00	41.63
7.90	14.92	8.52	4.89	9.15	45.73	9.77	9.94	10.40	13.36	11.02	37.53
7.92	14.78	8.54	4.73	9.17	41.19	9.79	29.02	10.42	12.77	11.04	33.38
7.94	14.61	8.56	4.58	9.19	38.28	9.81	10.76	10.44	10.82	11.06	34.19
7.96	14.41	8.58	4.44	9.21	35.95	9.83	5.44	10.46	9.24	11.08	35.08
7.98	14.17	8.60	4.32	9.23	33.83	9.85	43.87	10.48	8.89	11.10	34.73
8.00	13.79	8.63	4.22	9.25	31.70	9.88	52.50	10.50	9.26	11.13	34.21
8.02	13.34	8.65	4.14	9.27	29.62	9.90	67.20	10.52	9.75	11.15	33.52
8.04	12.84	8.67	4.12	9.29	27.62	9.92	81.86	10.54	10.31	11.17	32.89
8.06	12.33	8.69	4.12	9.31	25.68	9.94	81.13	10.56	10.80	11.19	32.12
8.08	11.83	8.71	4.15	9.33	23.78	9.96	80.47	10.58	11.22	11.21	31.60
8.10	11.34	8.73	4.17	9.35	22.01	9.98	77.73	10.60	11.54	11.23	30.93



### Valores de voltaje en la etapa 3

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
0.00	19.76	0.63	62.65	1.25	66.12	1.88	31.53	2.50	17.53	3.13	7.50
0.02	3.68	0.65	61.93	1.27	65.62	1.90	31.22	2.52	17.06	3.15	7.26
0.04	45.00	0.67	61.18	1.29	65.21	1.92	31.04	2.54	16.58	3.17	7.04
0.06	68.86	0.69	60.49	1.31	64.91	1.94	31.02	2.56	16.10	3.19	6.82
0.08	68.04	0.71	59.67	1.33	64.71	1.96	30.96	2.58	15.64	3.21	6.59
0.10	67.50	0.73	58.89	1.35	64.15	1.98	30.85	2.60	15.19	3.23	6.38
0.13	67.27	0.75	58.07	1.38	63.39	2.00	30.72	2.63	14.74	3.25	6.19
0.15	67.20	0.77	57.57	1.40	62.28	2.02	30.53	2.65	14.27	3.27	5.97
0.17	67.06	0.79	56.99	1.42	60.26	2.04	30.37	2.67	13.79	3.29	5.74
0.19	67.22	0.81	56.40	1.44	58.30	2.06	30.14	2.69	13.33	3.31	5.54
0.21	67.48	0.83	55.90	1.46	56.78	2.08	29.32	2.71	12.88	3.33	5.36
0.23	67.65	0.85	55.53	1.48	54.85	2.10	28.66	2.73	12.46	3.35	5.18
0.25	67.80	0.88	63.93	1.50	52.82	2.13	28.49	2.75	12.05	3.38	5.02
0.27	67.69	0.90	58.18	1.52	50.33	2.15	27.58	2.77	11.68	3.40	4.85
0.29	67.53	0.92	55.52	1.54	47.66	2.17	26.76	2.79	11.32	3.42	4.70
0.31	67.20	0.94	55.07	1.56	45.09	2.19	26.03	2.81	10.96	3.44	4.55
0.33	67.36	0.96	46.46	1.58	42.82	2.21	25.33	2.83	10.64	3.46	4.40
0.35	66.88	0.98	3.45	1.60	41.25	2.23	24.64	2.85	10.34	3.48	4.24
0.38	66.89	1.00	69.65	1.63	40.05	2.25	23.99	2.88	10.10	3.50	4.09
0.40	67.21	1.02	75.68	1.65	38.93	2.27	23.33	2.90	9.89	3.52	3.95
0.42	66.63	1.04	74.53	1.67	38.00	2.29	22.72	2.92	9.71	3.54	3.82
0.44	66.69	1.06	72.61	1.69	37.21	2.31	22.17	2.94	9.55	3.56	3.69
0.46	66.94	1.08	71.25	1.71	36.50	2.33	21.62	2.96	9.38	3.58	3.58
0.48	66.53	1.10	70.18	1.73	35.82	2.35	21.09	2.98	9.20	3.60	3.47
0.50	66.18	1.13	69.36	1.75	35.11	2.38	20.55	3.00	9.02	3.63	3.33
0.52	65.72	1.15	68.67	1.77	34.48	2.40	20.03	3.02	8.82	3.65	3.17
0.54	65.22	1.17	67.93	1.79	33.84	2.42	19.52	3.04	8.57	3.67	2.98
0.56	64.65	1.19	67.49	1.81	33.16	2.44	19.01	3.06	8.31	3.69	2.76
0.58	63.92	1.21	66.85	1.83	32.50	2.46	18.51	3.08	8.03	3.71	2.54
0.60	63.35	1.23	66.48	1.85	31.95	2.48	17.99	3.10	7.75	3.73	2.34



Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
3.75	2.15	4.38	40.41	5.00	0.00	5.63	41.51	6.25	42.81	6.88	25.95
3.77	1.98	4.40	39.61	5.02	0.00	5.65	40.88	6.27	42.17	6.90	24.88
3.79	1.94	4.42	38.50	5.04	43.53	5.67	40.28	6.29	41.72	6.92	23.26
3.81	-0.20	4.44	37.83	5.06	46.82	5.69	39.66	6.31	41.21	6.94	22.52
3.83	-0.20	4.46	38.15	5.08	44.48	5.71	39.08	6.33	40.66	6.96	21.76
3.85	12.55	4.48	38.19	5.10	40.89	5.73	38.52	6.35	40.13	6.98	21.40
3.88	62.88	4.50	37.34	5.13	43.64	5.75	38.09	6.38	39.62	7.00	21.20
3.90	71.07	4.52	36.37	5.15	47.33	5.77	37.88	6.40	39.07	7.02	44.03
3.92	73.98	4.54	35.40	5.17	49.21	5.79	37.35	6.42	38.55	7.04	60.63
3.94	76.89	4.56	34.52	5.19	51.00	5.81	36.81	6.44	38.03	7.06	2.86
3.96	77.59	4.58	33.68	5.21	50.44	5.83	36.29	6.46	37.53	7.08	0.00
3.98	77.54	4.60	32.80	5.23	50.62	5.85	33.70	6.48	37.05	7.10	41.49
4.00	77.03	4.63	31.83	5.25	50.58	5.88	25.50	6.50	36.55	7.13	45.44
4.02	78.15	4.65	30.75	5.27	50.16	5.90	29.31	6.52	36.06	7.15	45.41
4.04	79.16	4.67	29.51	5.29	49.98	5.92	28.64	6.54	35.57	7.17	45.93
4.06	79.33	4.69	28.07	5.31	49.82	5.94	28.78	6.56	35.08	7.19	45.92
4.08	54.00	4.71	26.60	5.33	49.59	5.96	28.10	6.58	34.60	7.21	45.92
4.10	53.83	4.73	25.20	5.35	49.41	5.98	26.64	6.60	34.12	7.23	45.73
4.13	53.10	4.75	23.79	5.38	49.20	6.00	20.79	6.63	33.62	7.25	45.09
4.15	51.90	4.77	22.21	5.40	48.99	6.02	18.69	6.65	33.12	7.27	44.16
4.17	50.78	4.79	20.33	5.42	48.72	6.04	17.21	6.67	32.57	7.29	43.64
4.19	49.74	4.81	18.39	5.44	48.32	6.06	9.04	6.69	32.01	7.31	43.05
4.21	48.88	4.83	16.64	5.46	47.79	6.08	0.00	6.71	31.45	7.33	42.37
4.23	47.98	4.85	15.21	5.48	47.08	6.10	0.00	6.73	30.83	7.35	41.70
4.25	47.02	4.88	14.00	5.50	46.15	6.13	26.00	6.75	30.26	7.38	41.01
4.27	45.91	4.90	10.79	5.52	45.20	6.15	35.74	6.77	29.79	7.40	40.23
4.29	45.05	4.92	0.00	5.54	44.36	6.17	43.51	6.79	29.15	7.42	39.59
4.31	40.56	4.94	0.00	5.56	43.60	6.19	44.20	6.81	28.53	7.44	39.02
4.33	28.86	4.96	0.00	5.58	42.87	6.21	43.65	6.83	27.75	7.46	38.36
4.35	41.11	4.98	0.00	5.60	42.16	6.23	43.04	6.85	26.90	7.48	37.78

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
7.50	37.26	8.13	44.00	8.75	20.74	9.38	29.66	10.00	18.15	10.63	13.31
7.52	36.46	8.15	45.60	8.77	20.48	9.40	29.14	10.02	17.97	10.65	13.18
7.54	35.88	8.17	35.55	8.79	20.11	9.42	28.62	10.04	17.75	10.67	13.09
7.56	35.46	8.19	36.54	8.81	19.56	9.44	28.12	10.06	17.49	10.69	12.97
7.58	35.09	8.21	37.32	8.83	19.04	9.46	27.59	10.08	17.16	10.71	12.86
7.60	34.59	8.23	37.12	8.85	18.40	9.48	27.03	10.10	16.85	10.73	12.75
7.63	34.11	8.25	36.73	8.88	17.17	9.50	26.44	10.13	16.40	10.75	12.69
7.65	33.56	8.27	36.00	8.90	0.00	9.52	23.74	10.15	15.93	10.77	12.65
7.67	33.19	8.29	35.54	8.92	6.80	9.54	22.64	10.17	15.42	10.79	12.54
7.69	32.68	8.31	35.11	8.94	29.39	9.56	22.00	10.19	15.09	10.81	11.40
7.71	32.19	8.33	34.58	8.96	33.94	9.58	21.53	10.21	15.11	10.83	10.97
7.73	31.75	8.35	34.18	8.98	34.70	9.60	21.13	10.23	15.25	10.85	13.02
7.75	31.52	8.38	33.58	9.00	34.68	9.63	20.77	10.25	15.35	10.88	12.78
7.77	31.50	8.40	33.04	9.02	36.09	9.65	20.47	10.27	15.31	10.90	12.93
7.79	31.18	8.42	32.51	9.04	36.47	9.67	20.18	10.29	15.31	10.92	13.17
7.81	30.77	8.44	31.93	9.06	36.50	9.69	19.91	10.31	15.32	10.94	13.51
7.83	30.47	8.46	31.38	9.08	36.35	9.71	19.64	10.33	15.27	10.96	0.93
7.85	30.11	8.48	30.77	9.10	36.11	9.73	19.41	10.35	15.21	10.98	0.00
7.88	22.48	8.50	30.11	9.13	35.78	9.75	19.24	10.38	15.13	11.00	0.00
7.90	20.14	8.52	29.41	9.15	35.39	9.77	19.23	10.40	15.00	11.02	0.00
7.92	0.00	8.54	28.75	9.17	35.04	9.79	19.18	10.42	14.87	11.04	0.74
7.94	9.99	8.56	28.06	9.19	34.63	9.81	19.12	10.44	14.71	11.06	23.80
7.96	38.92	8.58	27.35	9.21	34.18	9.83	19.05	10.46	14.58	11.08	31.92
7.98	44.94	8.60	26.36	9.23	33.76	9.85	18.94	10.48	14.43	11.10	32.69
8.00	48.19	8.63	25.18	9.25	33.24	9.88	18.88	10.50	14.28	11.13	32.40
8.02	48.47	8.65	24.37	9.27	32.49	9.90	18.87	10.52	14.14	11.15	31.78
8.04	45.28	8.67	23.61	9.29	31.79	9.92	18.86	10.54	14.01	11.17	31.19
8.06	43.97	8.69	22.83	9.31	31.28	9.94	18.72	10.56	13.83	11.19	30.45
8.08	42.61	8.71	22.04	9.33	30.86	9.96	18.54	10.58	13.66	11.21	29.72
8.10	41.56	8.73	21.31	9.35	30.26	9.98	18.31	10.60	13.47	11.23	29.07

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
11.25	28.38	11.88	12.93	12.50	14.00	13.13	32.48	13.75	12.62	14.38	17.74
11.27	27.48	11.90	3.92	12.52	13.32	13.15	31.48	13.77	11.48	14.40	17.61
11.29	26.83	11.92	-0.20	12.54	12.39	13.17	30.46	13.79	10.58	14.42	17.50
11.31	26.32	11.94	15.83	12.56	11.10	13.19	29.95	13.81	9.87	14.44	17.35
11.33	25.82	11.96	28.68	12.58	9.99	13.21	29.28	13.83	8.85	14.46	17.16
11.35	25.36	11.98	30.42	12.60	9.07	13.23	28.99	13.85	8.19	14.48	16.95
11.38	24.91	12.00	30.60	12.63	8.21	13.25	28.89	13.88	7.59	14.50	16.77
11.40	24.43	12.02	29.49	12.65	7.39	13.27	28.36	13.90	7.17	14.52	16.65
11.42	23.95	12.04	23.25	12.67	6.57	13.29	27.87	13.92	6.84	14.54	16.46
11.44	23.48	12.06	29.74	12.69	5.74	13.31	27.35	13.94	6.64	14.56	16.24
11.46	23.00	12.08	27.80	12.71	4.86	13.33	26.84	13.96	6.58	14.58	16.08
11.48	22.58	12.10	25.96	12.73	3.93	13.35	26.39	13.98	6.58	14.60	15.92
11.50	22.20	12.13	23.91	12.75	2.99	13.38	25.91	14.00	6.70	14.63	15.73
11.52	21.81	12.15	22.57	12.77	2.09	13.40	25.38	14.02	7.05	14.65	15.56
11.54	21.44	12.17	21.93	12.79	1.27	13.42	24.96	14.04	7.79	14.67	15.35
11.56	21.08	12.19	21.37	12.81	0.62	13.44	24.53	14.06	7.98	14.69	15.05
11.58	20.72	12.21	21.36	12.83	0.17	13.46	24.01	14.08	7.37	14.71	14.76
11.60	20.36	12.23	21.96	12.85	0.00	13.48	23.43	14.10	3.82	14.73	14.42
11.63	19.97	12.25	21.23	12.88	0.00	13.50	22.76	14.13	0.00	14.75	14.04
11.65	19.53	12.27	20.46	12.90	0.00	13.52	22.08	14.15	20.73	14.77	13.70
11.67	19.06	12.29	19.70	12.92	0.00	13.54	21.53	14.17	18.78	14.79	13.07
11.69	18.56	12.31	18.99	12.94	0.00	13.56	20.75	14.19	18.88	14.81	12.84
11.71	18.02	12.33	18.31	12.96	21.09	13.58	20.11	14.21	19.08	14.83	12.37
11.73	17.43	12.35	17.78	12.98	29.01	13.60	19.44	14.23	19.22	14.85	11.79
11.75	16.87	12.38	17.27	13.00	33.34	13.63	18.22	14.25	19.30	14.88	11.20
11.77	16.31	12.40	16.74	13.02	34.06	13.65	17.50	14.27	19.63	14.90	10.49
11.79	15.48	12.42	16.21	13.04	34.44	13.67	16.98	14.29	19.70	14.92	9.86
11.81	15.08	12.44	15.69	13.06	34.25	13.69	16.17	14.31	19.23	14.94	9.43
11.83	14.50	12.46	15.14	13.08	33.76	13.71	15.39	14.33	18.33	14.96	8.80
11.85	13.88	12.48	14.59	13.10	32.99	13.73	14.08	14.35	17.93	14.98	8.01

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
15.00	7.10	15.63	12.66	16.25	10.96	16.88	4.61	17.50	4.48	18.13	44.76
15.02	6.05	15.65	12.51	16.27	10.84	16.90	3.91	17.52	4.60	18.15	48.79
15.04	2.66	15.67	12.32	16.29	10.87	16.92	3.31	17.54	4.69	18.17	50.20
15.06	0.00	15.69	12.09	16.31	10.94	16.94	2.94	17.56	4.80	18.19	56.78
15.08	0.00	15.71	11.83	16.33	11.07	16.96	2.79	17.58	4.89	18.21	60.63
15.10	6.35	15.73	11.48	16.35	11.29	16.98	2.41	17.60	5.02	18.23	59.51
15.13	11.22	15.75	10.99	16.38	11.40	17.00	2.00	17.63	5.09	18.25	58.14
15.15	12.36	15.77	10.54	16.40	11.54	17.02	1.57	17.65	5.18	18.27	56.94
15.17	12.79	15.79	9.90	16.42	11.66	17.04	1.44	17.67	5.22	18.29	56.05
15.19	12.37	15.81	9.37	16.44	11.71	17.06	1.36	17.69	5.18	18.31	55.61
15.21	12.19	15.83	8.74	16.46	11.74	17.08	1.57	17.71	5.16	18.33	54.91
15.23	12.28	15.85	8.05	16.48	11.73	17.10	1.84	17.73	5.03	18.35	54.14
15.25	12.36	15.88	7.35	16.50	11.66	17.13	1.61	17.75	4.88	18.38	53.50
15.27	12.32	15.90	6.61	16.52	11.54	17.15	1.47	17.77	4.87	18.40	52.75
15.29	12.39	15.92	5.89	16.54	11.38	17.17	1.42	17.79	4.79	18.42	51.96
15.31	12.58	15.94	5.23	16.56	11.24	17.19	1.50	17.81	2.60	18.44	51.10
15.33	12.77	15.96	4.46	16.58	11.10	17.21	1.68	17.83	1.92	18.46	50.19
15.35	12.96	15.98	3.75	16.60	10.89	17.23	1.91	17.85	1.87	18.48	49.16
15.38	13.13	16.00	3.28	16.63	10.69	17.25	2.16	17.88	1.88	18.50	47.81
15.40	13.27	16.02	0.61	16.65	10.45	17.27	2.33	17.90	1.83	18.52	46.22
15.42	13.35	16.04	0.89	16.67	10.10	17.29	2.59	17.92	1.66	18.54	44.44
15.44	13.35	16.06	10.46	16.69	9.71	17.31	2.83	17.94	1.46	18.56	42.66
15.46	13.44	16.08	11.89	16.71	9.28	17.33	3.08	17.96	1.37	18.58	40.79
15.48	13.45	16.10	12.20	16.73	8.87	17.35	3.32	17.98	0.00	18.60	39.21
15.50	13.38	16.13	12.02	16.75	8.49	17.38	3.54	18.00	0.00	18.63	37.41
15.52	13.35	16.15	11.68	16.77	8.15	17.40	3.77	18.02	0.00	18.65	35.70
15.54	13.22	16.17	11.39	16.79	7.66	17.42	3.97	18.04	42.20	18.67	34.64
15.56	13.06	16.19	11.14	16.81	7.06	17.44	4.12	18.06	35.75	18.69	33.67
15.58	12.96	16.21	10.95	16.83	6.30	17.46	4.23	18.08	38.64	18.71	32.75
15.60	12.80	16.23	10.92	16.85	5.40	17.48	4.36	18.10	42.89	18.73	32.11

Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)	Tiempo (días)	Voltaje (mV)
18.75	31.54	19.38	19.57	20.00	15.28
18.77	31.34	19.40	18.37	20.02	15.41
18.79	31.18	19.42	17.37	20.04	15.54
18.81	31.27	19.44	16.35	20.06	15.60
18.83	31.57	19.46	15.28	20.08	15.56
18.85	31.93	19.48	14.19	20.10	15.48
18.88	32.33	19.50	13.04	20.13	13.58
18.90	32.77	19.52	11.89	20.15	21.07
18.92	32.67	19.54	10.85	20.17	88.27
18.94	32.81	19.56	9.80	20.19	79.20
18.96	32.96	19.58	9.04	20.21	47.00
18.98	33.00	19.60	8.67	-	-
19.00	32.52	19.63	8.53	-	-
19.02	32.22	19.65	8.54	-	-
19.04	31.73	19.67	8.82	-	-
19.06	31.41	19.69	9.20	-	-
19.08	31.09	19.71	9.59	-	-
19.10	30.72	19.73	10.07	-	-
19.13	30.42	19.75	10.62	-	-
19.15	29.97	19.77	11.21	-	-
19.17	29.45	19.79	11.76	-	-
19.19	28.76	19.81	12.23	-	-
19.21	28.33	19.83	12.75	-	-
19.23	27.82	19.85	13.27	-	-
19.25	27.04	19.88	13.74	-	-
19.27	26.14	19.90	14.11	-	-
19.29	24.95	19.92	14.44	-	-
19.31	23.45	19.94	14.67	-	-
19.33	22.05	19.96	14.90	-	-
19.35	20.80	19.98	15.09	-	-