



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
INSTITUTO DE ENERGÍAS RENOVABLES  
ENERGÍA – ENERGÍA Y MEDIO AMBIENTE

**DESARROLLO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE  
MICROBIANA PARA ESTUDIOS DE NUEVOS MATERIALES**

**TESIS**  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN INGENIERÍA ENERGÍA**

PRESENTA:  
**M.C.I.Q Alfonso Flores Meza**

TUTOR PRINCIPAL  
**Dr. Sebastian Pathiyamattom Joseph, IER-UNAM**

COMITÉ TUTOR  
Dr. Sergio Alberto Gamboa Sánchez, IER-UNAM  
Dr. Alberto A. Álvarez Gallegos, CIICAP-UAEM  
Dr. Joel Moreira Acosta, UNICACH  
Dr. Juan Manuel Tadeo Sierra Grajeda, UNICAR

Temixco, Morelos, abril de 2019



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:**

Presidente: Dr. Sergio Alberto Gamboa Sánchez  
Secretario: Dr. Alberto A. Álvarez Gallegos  
Vocal: Dr. Sebastián Pathiyamattom Joseph  
1<sup>er</sup>. Suplente: Dr. Joel Moreira Acosta  
2<sup>d o</sup>. Suplente: Dr. Juan Manuel Tadeo Sierra Grajeda

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

INSTITUTO DE ENERGÍAS RENOVABLES-UNAM

**TUTOR DE TESIS:**

Dr. Sebastian Pathiyamattom Joseph

-----  
**FIRMA**

# Dedicatoria

A mi esposa Lizbeth Contreras Romero:

Por ser el amor de mi vida en toda extensión de la palabra.

A mi hijo Alfonso Flores Contreras:

Por ser mi superhéroe favorito.

A mi padre el señor Alfonso Flores Hernández:

Gracias por todo Papá. Te lo debía.

A mi madre la guerrera Ana María E. Meza Hernández:

Por siempre estar presente con amor.

A mi suegra la Sra. Silvia Romero Sosa:

Por cuidar y darle brillo a mi tesoro mientras yo estaba ausente.

# Agradecimientos

Dios mío tu sabes que nada merezco, pero en tu infinito amor de padre todopoderoso permites que viva momentos maravillosos y me supere profesionalmente.

- A CONACYT por haberme otorgado una beca económica que me dio la facilidad para cumplir con este trabajo de tesis doctoral.
- Al Dr. Sebastian Pathiyamatton Joseph por todo el apoyo recibido durante la realización de este trabajo.
- Al Mtro. José Campos Álvarez, sin su apoyo este trabajo no hubiera llegado a buen término.
- A los doctores Sergio Gamboa y Alberto Álvarez por sus atinadas sugerencias, comentarios que contribuyeron sobremanera a mi trabajo.
- Al proyecto DGAPA-UNAM IN106516 por el apoyo recibido.
- Al todo el personal del Instituto de energías renovables por la gran labor que realizan, inolvidable experiencia.

# Resumen

El uso de celdas de combustible microbianas (CCM) ofrece uno de los enfoques más prometedores para la extracción de energía útil de las aguas residuales atacando dos problemas actuales: depuración de aguas al reducir la carga orgánica y la producción de corriente. A través de reacciones bioelectroquímicas, las CCMs pueden convertir la energía almacenada en los enlaces químicos de compuestos orgánicos en energía eléctrica; sin embargo, la baja potencia de salida de las CCMs limita actualmente sus aplicaciones prácticas. La investigación en la mejora de la producción de energía de las CCMs se centra en la comprensión de las actividades microbianas, optimizando la configuración y operación, reduciendo limitaciones electroquímicas, y la exploración de nuevos materiales para electrodos y membranas.

EL presente trabajo pretende utilizar nuevos materiales en el ánodo y mostrar que es factible su uso en las celdas de combustible microbianas para la depuración y producción de corriente y contribuir a la problemática creciente en el campo de la energía y tratamiento de aguas residuales. Dada la revisión bibliográfica de los materiales usados actualmente en el ánodo, los materiales a base de carbono han predominado en las investigaciones, nanomateriales como nanotubos de carbono, grafeno, entre otros han mostrado mejorar el desempeño al aumentar el área superficial disponible en el ánodo y cátodo, así como el incremento en la conductividad; también se han utilizado materiales para mejorar el desempeño de los mismos como los polímeros conductivos, es por ello que este trabajo se centró en utilizar grafeno, wireglue (nombre comercial) que es un pegamento conductivo novedoso a base de nanocarbono y pintura de plata; su mezcla y un tratamiento térmico permitió obtener un ánodo de conductividad mejorada el cual fue utilizado en la operación de una celda de combustible microbiana diseñada específicamente para su evaluación.

Los materiales fueron caracterizados previamente a la elaboración de los diversos compositos los cuales fueron evaluados mediante pruebas de hipótesis. El composito obtenido fue también sometido a técnicas de voltamperometría, cronoamperometría para establecer su comportamiento de transferencia de carga y área electroactiva. La idea es proponer un electrodo elaborado sin técnicas costosas, sin el uso de solventes, fácil de moldear para formar geometrías deseadas que permita conectarse al circuito externo sin que se vean expuestos los cables al ataque de los microorganismos.

Posteriormente fue puesta en marcha la celda de combustible microbiana diseñada para establecer el desempeño de la misma mediante la determinación de la eficiencia Coulombica y mostrar que el ánodo propuesto es factible en su uso y contribuir de manera sustentable en la problemática antes mencionada.

# Abstract

The use of microbial fuel cells (MFC) offers one of the most promising approaches for extracting useful energy from wastewater, tackling two current problems: water purification by reducing the organic load and the production of current. Through bioelectrochemical reactions, MFCs can convert the energy stored in the chemical bonds of organic compounds into electrical energy; however, the low output power of the MFCs currently limits their practical applications. The research in the improvement of the energy production of the MFCs focuses on the understanding of the microbial activities, optimizing the configuration and operation, reducing electrochemical limitations, and the exploration of new materials for electrodes and membranes.

The present work intends to use new materials in the anode and show that its use in microbial fuel cells is feasible for the purification and production of current and contribute to the growing problems in the field of energy and wastewater treatment. Given the literature review of materials currently used at the anode, carbon based materials have dominated research, nanomaterials such as carbon nanotubes, graphene, among others have shown to improve performance by increasing the available surface area at the anode and cathode, as well as the increase in conductivity; materials have also been used to improve performance such as conductive polymers, which is why this work focused on using graphene, wireglue (trade name) which is a novel conductive glue based on nanocarbon and silver paint; its mixture and a thermal treatment allowed to obtain an anode of improved conductivity which was used in the operation of a microbial fuel cell designed specifically for its.

The materials were characterized prior to the elaboration of the various composites which were evaluated by hypothesis testing. The composite obtained was also subjected to voltammetry, chronoamperometry techniques to establish its charge transfer behavior and electroactive area. The idea is to propose an electrode made without expensive techniques, without the use of solvents, easy to mold to form desired geometries that allows connecting to the external circuit without exposing the cables to the attack of microorganisms.

Subsequently, the microbial fuel cell was designed to establish the performance of the same by determining the Coulomb efficiency and show that the proposed anode is feasible in its use and contribute in a sustainable manner in the aforementioned problems.

# Objetivo

Desarrollo y evaluación de una celda de combustible microbiana empleando agua residual sintética como la fuente de carbono y utilizando nuevos materiales en sus componentes.

## Objetivos particulares

- Desarrollo de celda de combustible microbiana de cámara doble.
- Estudio y fabricación de ánodos con nuevos materiales.
- Estudio y análisis el desempeño electroquímico de los nuevos materiales anódicos.
- Determinación experimental de la eficiencia de remoción de carga orgánica y eficiencia de generación eléctrica de una celda de combustible microbiana con los nuevos materiales empleados en el ánodo.



# Índice general

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
RESUMEN .....	III
ABSTRACT .....	IV
OBJETIVO .....	V
OBJETIVOS PARTICULARES.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Uso de combustibles fósiles</i> .....	1
1.2 <i>Economía del tratamiento de aguas residuales</i> .....	2
1.3 <i>Celdas de combustible</i> .....	3
1.4 <i>Sistemas bioelectroquímicos (SBEs)</i> .....	3
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>6</b>
CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA.....	6
2.1 <i>Introducción</i> .....	6
2.2 <i>Microorganismos en la cámara anódica</i> .....	7
2.3 <i>Mecanismo de transporte de electrones a los electrodos</i> .....	8
2.4 <i>Arquitecturas de las celdas microbianas</i> .....	9
2.5 <i>Modelos matemáticos de celdas de combustible microbianas</i> .....	11
2.6 <i>Materiales empleados en electrodos anódicos</i> .....	12
2.7 <i>Materiales de Carbono</i> .....	13
2.8 <i>Grafeno</i> .....	13
2.9 <i>Métodos electroquímicos de interface en sistemas heterogéneos electrodo de trabajo/medio acuoso</i> .....	15
2.10 <i>Métodos de análisis</i> .....	18
2.10.1 <i>Voltametría cíclica</i> .....	18
2.10.2 <i>Difracción de rayos-X (DRX)</i> .....	19
2.10.3 <i>Microanálisis por Sonda de Electrones (EDS)</i> .....	19
2.10.4 <i>Área Superficial Específica (<math>S_{BET}</math>)</i> .....	19
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>21</b>
METODOLOGÍA.....	21
3.1 <i>Diseño de celda de combustible microbiana</i> .....	21
3.2 <i>Caracterización de grafeno en polvo</i> .....	23
3.2.1 <i>SEM de GRAFENO</i> .....	23
3.2.2 <i>Análisis de difracción de rayos X</i> .....	23
3.3.3 <i>Área superficial específica</i> .....	23
3.3 <i>Caracterización de soporte</i> .....	24

3.3.1 SEM soporte .....	24
3.3.2 Determinación de conductividad.....	24
3.3.3 Estabilidad electroquímica de soporte .....	26
3.4 <i>Caracterización de ánodo</i> .....	27
3.4.1 Determinación de área electroactiva .....	27
3.5 <i>Operación de la celda de combustible microbiana</i> .....	28
3.5.1 Inoculación de ánodo. ....	28
3.5.2 Preparación de Membrana de Nafion 117 .....	28
3.5.3 Adquisición de datos para monitoreo de celda .....	28
3.5.4 Curva de polarización .....	29
3.5.5 Monitoreo de celda de combustible microbiana.....	30
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>31</b>
RESULTADOS.....	31
4.1 <i>Desarrollo de celda de combustible microbiana de cámara doble</i> .....	31
4.2 <i>Caracterización de grafeno en polvo para elaboración de electrodo anódico</i> .....	33
4.2.1 SEM Grafeno.....	34
4.2.2 Análisis de difracción de rayos X.....	36
4.2.3 Área superficial específica .....	36
4.3 <i>Caracterización de soporte</i> .....	37
4.3.1 SEM WIREGLUE.....	38
4.3.2 Determinación de conductividad y estabilidad electroquímica.....	39
4.3.3 Modificación de soporte (conductividad y estabilidad electroquímica) .....	43
4.3.2 Determinación de área electroactiva .....	47
4.4 <i>Electrodo de trabajo en celda de combustible microbiana</i> .....	49
4.4.1 Adquisición de datos para monitoreo de celda .....	49
4.4.2 Monitoreo celda de combustible microbiana.....	51
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>56</b>
CONCLUSIONES.....	56
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>58</b>

# Índice de figuras

Figura 1.1 Concentraciones de CO <sub>2</sub> . [2] .....	1
Figura 1.2 Temperaturas relativas históricas. [2].....	2
Figura 1.3 Celdas de combustible. ....	4
Figura 2.1 Trabajos registrados en base de datos de Scopus para celdas de combustible microbiana. ....	6
Figura 2.2 Esquema de celda de combustible microbiana de dos cámaras.....	7
Figura 2.3. Mecanismos de transferencia de electrones. [31].....	9
Figura 2.4. Diseños de celdas de combustible microbianas.....	10
Figura 2.5 Alotropía de carbono. Diamante y grafito (3D); grafeno (2D); nanotubos (1D); fullerenos (0D).....	13
Figura 2.6. Curva corriente-sobrepotencial para el sistema $O + e \leftrightarrow R$ , $\alpha = 0.5$ .....	16
Figura 2.7 Curva de Polarización de una celda tipo PEM.....	17
Figura 3.1 Tipos de CCM de dos cámaras. [27] .....	21
Figura 3.2 Tipos de CCM de una sola cámara. [27] .....	22
Figura 3.3 Gráfica de $\Delta V$ contra $I$ .....	25
Figura 3.4 Conductividad en un sólido.....	25
Figura 3.5 Esquema del método de Kelvin.....	26
Figura 3.6 Sistema para monitoreo de celda de combustible microbiana .....	29
Figura 4.1 Celda de combustible microbiana elaborada.....	31
Figura 4.2 Cara superior (izquierda), cara unión (derecha) de compartimentos para ánodo y cátodo. ....	32
Figura 4.3 Brida de presión. ....	32
Figura 4.4 Vistas de compartimentos de la celda de combustible elaborada. ....	33
Figura 4.5 Micrografía SEM grafeno en polvo.....	35
Figura 4.6 Difractograma de muestra de grafeno.....	36
Figura 4.7 Isoterma adsorción/desorción de N <sub>2</sub> . ....	37
Figura 4.8 Publicidad de pegamento wireglue.....	38
Figura 4.9 Micrografía SEM “Wireglue” .....	38
Figura 4.10 Equipo para la determinación de resistividades por procedimiento de Ohm. ....	39
Figura 4.11 Preparación de muestra para determinación de conductividad. ....	39
Figura 4.12 Gráfico datos voltaje vs corriente de probeta 4.....	40
Figura 4.13 Electrodo de trabajo grafeno/wireglue.....	42
Figura 4.14 Voltamperograma del par FeCN63 –/FeCN64 – con electrodo de trabajo grafeno/wireglue.....	43
Figura 4.15 Arreglo de puntas en método Kelvin.....	44
Figura 4.16 Micrografía SEM grafeno en polvo/soporte.....	45
Figura 4.17 Voltamperograma del par FeCN63 –/FeCN64 – con electrodo de trabajo wireglue/pintura de plata. ....	46

Figura 4.18 Voltamperograma del par FeCN63 –/FeCN64 – con electrodo de trabajo wireglue/pintura de plata/grafeno. ....	47
Figura 4.19 Voltamperograma del par FeCN63 –/FeCN64 –. ....	48
Figura 4.20 Ajuste de los datos a la ecuación de Cottrell. ....	48
Figura 4.21 Minicomputadora Duinomite para adquisición de datos. ....	51
Figura 4.22 Curva de calibración DQO .....	53
Figura 4.23 Curva de polarización. ....	53
Figura 4.24 Monitoreo Celda de Combustible .....	54
Figura 4.25 Desempeño de CCM.....	55

# Índice de Tablas

Tabla 1.1 Tipos de sistemas bioelectroquímicos.....	5
Tabla 2.1. Principales variables consideradas en CCMs. [29].....	8
Tabla 2.2 Desempeño de CCMs con grafeno modificado. ....	15
Tabla 4.1 Comparación de las características de materiales de carbón tradicionales. ....	34
Tabla 4.2 Composición química de grafeno .....	34
Tabla 4.3 Datos de probetas. ....	40
Tabla 4.4 Resultados obtenidos de conductividad en probetas. ....	41
Tabla 4.5 ANOVA de Probetas 3 Y 4.....	42
Tabla 4.6 Resultados comparativos de conductividades obtenidas. ....	44
Tabla 4.7 Resultados obtenidos para área electroactiva. ....	49
Tabla 4.8 Datos de absorbancia para curva DQO.....	52

# Capítulo 1

## 1.1 Uso de combustibles fósiles

Hemos utilizado variados combustibles: madera, carbón, petróleo, gas natural, entre otros, que satisfacen el requerimiento energético para poder comunicarnos, iluminar nuestros espacios, producir nuestros alimentos, transportarnos, etc. El actual patrón energético está centrado esencialmente en combustibles fósiles, el proceso de su obtención y quema produce costos ambientales y humanos [1], en la perforación se utilizan una gran cantidad de explosivos, el emplazamiento de plataformas petroleras contamina, altera y fragmenta los ecosistemas, genera residuos como metales pesados, compuestos tóxicos como el mercurio e hidrocarburos aromáticos volátiles (benceno, tolueno y xileno) que tienen efecto potencial en la reproducción animal y del ser humano, a lo anterior se suman los riesgos de derrames e incendios provocados en la operación de los pozos petroleros.

La quema de estos combustibles produce gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), tan solo la quema de gas natural asociado al proceso de extracción, práctica barata y muy común se estima en el orden de unos 35 millones de toneladas de  $\text{CO}_2$  y 12 millones de toneladas de metano.

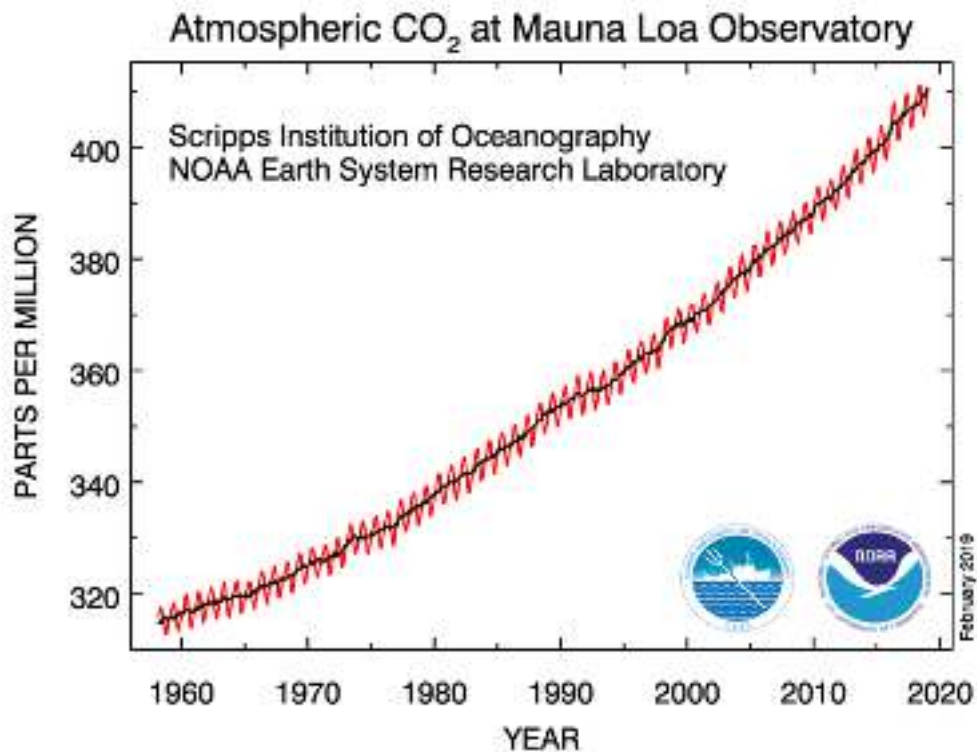


Figura 1.1 Concentraciones de  $\text{CO}_2$ . [2]

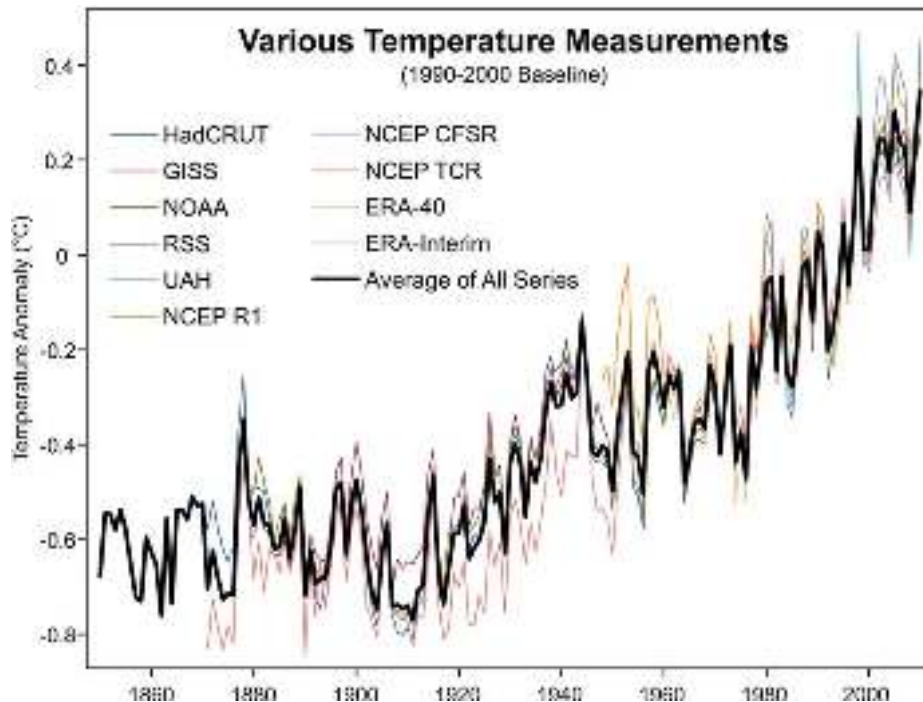


Figura 1.2 Temperaturas relativas históricas. [2]

Una vez con los usuarios finales, la quema de petróleo genera una serie de contaminantes han contribuido de manera primaria en el calentamiento global del planeta. Seis son los principales elementos que contribuyen a la contaminación del aire: compuestos orgánicos volátiles (generados por la combustión de combustibles fósiles); dióxido de sulfuro (producido por la quema de carbón); dióxido de carbono; partículas de 10 micrones o menos (humo, polvo, vapores, etcétera, producto sobre todo de la quema del diésel); partículas de 2.5 micrones o menos o PM-2.5s, similares a las anteriores pero de mayor daño a la salud humana (sobre todo a los tejidos pulmonares); y aditivos de tetraetil usualmente empleados para mejorar la eficiencia de la gasolina como combustible.

Los impactos de corto-mediano plazo de tales contaminantes o smog incluyen la contaminación de la vegetación, la filtración de contaminantes a los mantos acuíferos y de ahí al resto de la cadena alimenticia, lluvia ácida, enfermedades diversas como asma, problemas cardiovasculares, cáncer, irritación y alergias, etcétera.

## 1.2 Economía del tratamiento de aguas residuales

El agua limpia es considerada un derecho humano básico, sin embargo es negada a grandes extensiones de la población del mundo, en México se generan alrededor de 250 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales municipales. De esta cantidad se trata solamente cerca del 25% [3]; el reto por resolver es enorme.. La población urbana mundial se estima sea más de 5 mil millones para el 2030 lo que incrementará la problemática de la contaminación y tratamiento de aguas que conlleva una gran inversión en infraestructura de saneamiento.

Por mucho, la tecnología de tratamiento biológico más exitosa y ampliamente utilizada es el proceso de lodo activado, en el cual los microorganismos metabolizan los desechos orgánicos. Se estimó que se requieren 0.349 kWh de energía eléctrica por metro cúbico de aguas residuales para el proceso de lodos activados en plantas de tratamiento públicas, que representan aproximadamente 21 mil millones de kWh de consumo de energía eléctrica al año [4]. El bombeo y la aireación son los procesos predominantes de consumo de energía (21 % y 30-55% respectivamente).

El costo de la energía aumentará indudablemente a medida que se agoten los recursos basados en el carbono y es muy probable que los costos operativos de tratar las aguas residuales sería prohibitamente costoso y la huella de carbono de usar tanta energía de fuentes fósiles sería muy grande, es por ello que muchas compañías dedicadas al tratamiento de aguas residuales pretenden un cambio radical de las tecnologías hacia alternativas que no solo requieran procesos de baja energía sino también procesos de producción de energía.

Es por ello que una de las maneras en que se puede ayudar en la problemática energética es utilizar las aguas residuales, ya que contienen un alto contenido de materia orgánica que se puede utilizar como una fuente de energía para compensar el consumo de energía por procesos de tratamiento. El uso de celdas de combustible microbianas (CCM) ofrece uno de los enfoques más prometedores para la extracción de energía útil de las aguas residuales [5], [6], [7].

### **1.3 Celdas de combustible**

Son dispositivos electroquímicos que convierten directamente la energía química de una reacción en energía eléctrica. Son dispositivos análogos a las baterías comunes, debido a que poseen electrodos positivos y negativos, así como un electrolito; sin embargo las celdas de combustible pueden generar energía mientras se alimente un sustrato, lo que le permite seguir operando.

El interés práctico de las celdas de combustible vino hacia comienzos de los años sesenta, cuando el programa espacial de los estados unidos seleccionó a las celdas de combustible para proporcionar electricidad y agua a las naves espaciales Gemini y Apollo.

Se debe resaltar el hecho de que las celdas son una familia de tecnologías que usan diferentes electrolitos y que operan a diferentes temperaturas. A temperaturas mayores a los 200°C el electrolito es no acuoso y su objetivo es generar potencias mayores a 1MW. La figura 1.3 muestra las diferentes celdas de combustible.

### **1.4 Sistemas bioelectroquímicos (SBEs)**

Los son dispositivos capaces de utilizar el metabolismo biológico para facilitar la generación de energía eléctrica, combustibles o químicos finos [8],[9]. Estos dispositivos son una prometedora alternativa para la producción de formas no convencionales de energía útil, a partir del tratamiento de aguas residuales o empleando una amplia gama de materiales orgánicos; así como



para la producción de sustancias químicas. La clasificación de los SBEs se basa en el modo de operación y en el producto final obtenido en cada tipo de celda (ver Tabla 1.1).

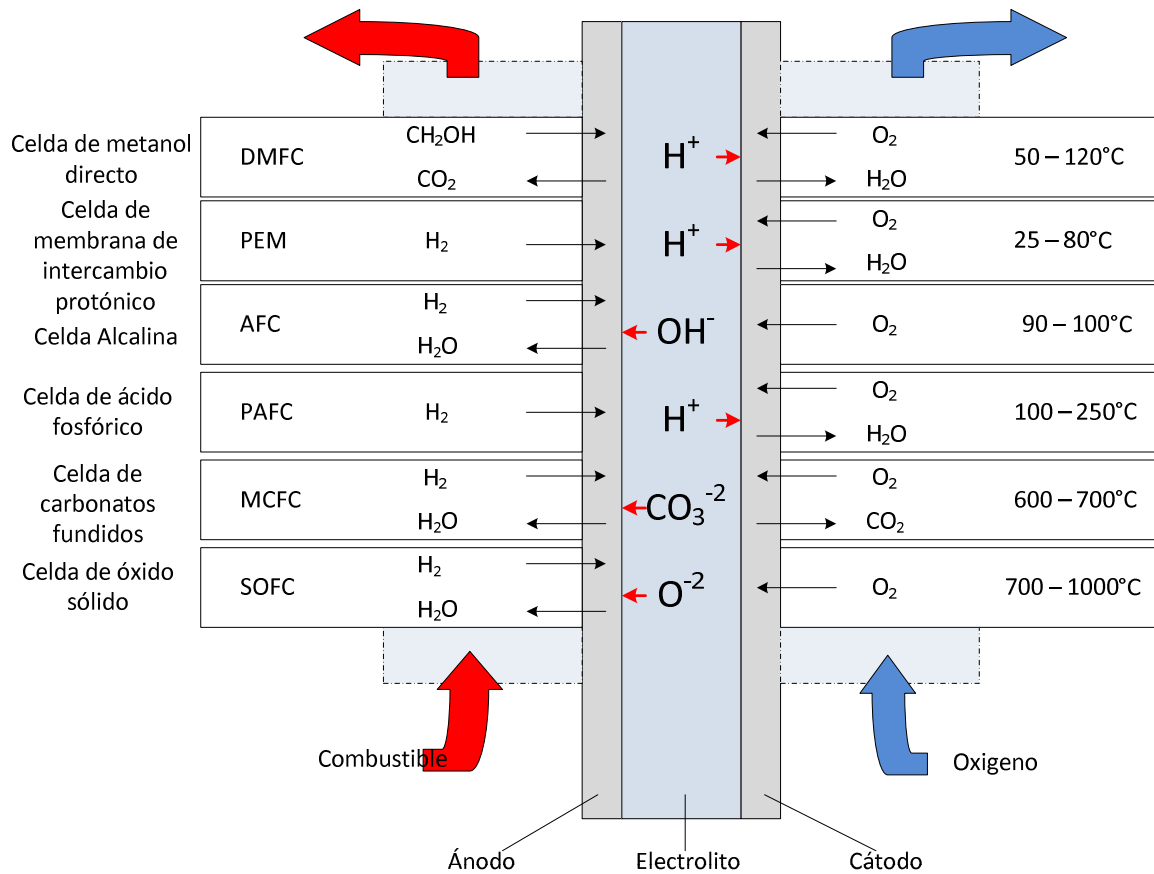


Figura 1.3 Celdas de combustible.

En el contexto de este trabajo, destacan las celdas de combustible microbianas debido a su alto potencial para reducir la carga de contaminantes de diferente naturaleza mientras se recupera electricidad directa en forma sostenible. Aunque las densidades de potencia que se obtienen con ellas son aún bajas, trabajar en su optimización es un reto científico-tecnológico de actualidad y una prometedora alternativa en la solución de dos problemas importantes a nivel mundial: i) la escasez de combustibles fósiles y su impacto sobre el cambio climático, (ii) y la disponibilidad de agua limpia de fácil acceso.

Las celdas de combustible microbianas (CCM) son tecnologías que representan el enfoque más reciente para la generación de bioelectricidad a partir de biomasa utilizando bacterias. Mientras que la primera observación de la corriente eléctrica generada por las bacterias se acredita generalmente a Potter en 1911 [10]. A principios de 1990, las pilas de combustible se hicieron de más interés y los trabajos en CCM comenzaron a aumentar [11]. Sin embargo, los experimentos que fueron llevándose a cabo requerían el uso de mediadores químicos, lo que podría llevar a los

electrones desde el interior de la célula a los electrodos exógenos. En 1999 se reconoció que los mediadores no tienen que ser adicionados [12], [13].

Tabla 1.1 Tipos de sistemas bioelectroquímicos.

Tipos de SBEs	Descripción	Referencia bibliográfica
Celda de combustible microbiana (CCM)	Se basa en el uso de la actividad microbiana para generar electricidad a partir de diferentes sustratos orgánicos.	[14]
Celda de Electrólisis microbiana (CEM)	Estos sistemas requieren suministro de electricidad para llevar a cabo reacciones electroquímicas, en las que el principal producto es el H <sub>2</sub> .	[14]
Celda de desalinación microbiana (CDM)	Es una CCM modificada con la finalidad de reducir el contenido de sales, principalmente del agua de mar.	[15]
Snorkel electroquímico microbiano (SEM)	Es básicamente una CCM en corto circuito, donde no se genera electricidad pero es posible un tratamiento optimizado de aguas residuales.	[16]
Celda de electrosíntesis microbiana (CESM)	Su enfoque es la producción de metabolitos secundarios a partir de la energía eléctrica liberada de las reacciones REDOX.	[17]

El objetivo de las celdas de combustible en general se puede mencionar que son aplicaciones "in vivo" como fuente de alimentación para marcapasos, sensores de glucosa para diabéticos, pequeñas válvulas para el control de la vejiga, etc.; otro tipo de aplicación son las denominadas "ex vivo", donde la gran mayoría busca la recuperación de energía de residuos.

# Capítulo 2

## Celda de Combustible Microbiana

### 2.1 Introducción

Las celdas de combustible microbianas (CCMs) representan un método alternativo e innovador para el tratamiento de residuos orgánicos y para la generación de electricidad en forma directa y renovable sin la necesidad de añadir sustancias químicas costosas y tóxicas si se emplean los microorganismos adecuados en el medio de trabajo [18], [19]. Los sustratos son materiales biodegradables así como aguas residuales y desechos orgánicos de las descargas municipales, industriales, agrícolas, entre otros [20]. En la figura 2.1 se muestra los datos recolectados en Scopus para el tema de celdas de combustible microbianas, donde se aprecia el interés y desarrollo que se tiene por estos dispositivos.

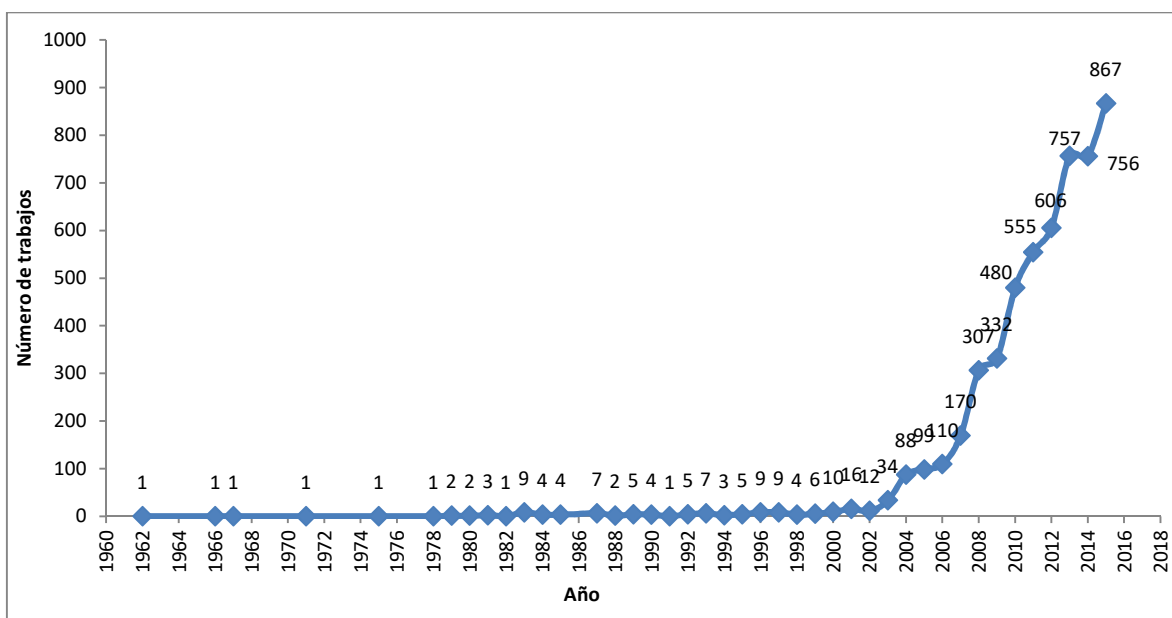


Figura 2.1 Trabajos registrados en base de datos de Scopus para celdas de combustible microbiana.

La estructura básica de un CCM se puede observar en la figura 2.2, consta de dos cámaras una catódica y una anódica, separadas por una membrana de intercambio de protones (MIP). Los microorganismos en la cámara anódica oxidan los compuestos orgánicos como parte de su metabolismo y durante este proceso generan electrones y protones. Los electrones son transferidos al ánodo y son transportados a hacia el cátodo a través de un circuito externo. Para mantener el balance de cargas, los protones generados en la reacción atraviesan una membrana

permeable a protones o un puente salino y una vez en la cámara catódica se unen con el oxígeno, para formar agua [21].

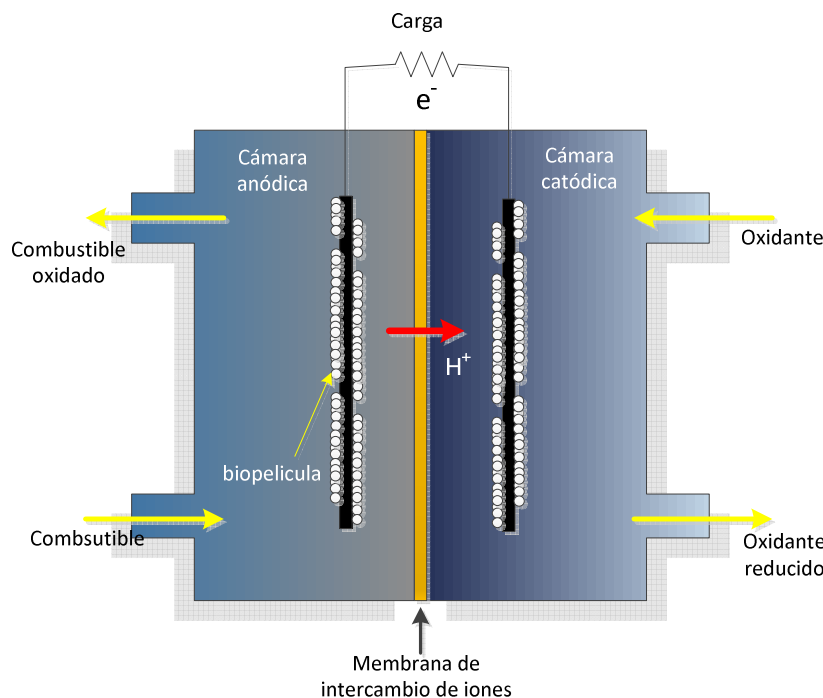


Figura 2.2 Esquema de celda de combustible microbiana de dos cámaras.

## 2.2 Microorganismos en la cámara anódica

Kiely et al. [22] discuten diversas publicaciones que caracterizan la comunidad microbiana de los sistemas bioelectroquímicos, al destacar procesos sintróficos específicos que capacitan a una biopelícula para la generación de corriente eléctrica a partir de un sustrato; la sintrofia consiste en que ciertos microorganismos hidrolizan y fermentan compuestos orgánicos complejos y otros utilizan los subproductos para la generación de corriente, estableciéndose una estructura jerárquica con microorganismos dominantes dependiendo del sustrato empleado.

Como inóculo para las CCMs se pueden emplear cultivos de una especie microbiana o cultivos mixtos (consorcios). En el primer caso, existe la posibilidad de modificar genéticamente la especie microbiana e interpretar más fácilmente los estudios con respecto a genómica y proteómica [23]. Para la especie *G. sulfurreducens* se ha investigado sobre el mecanismo de la transferencia de electrones al ánodo y su capacidad de oxidar completamente un compuesto orgánico para así contribuir más efectivamente a la producción de energía [23]; por ejemplo, esta bacteria es dominante cuando se utiliza lactato, acetato, formato, glucosa, entre otros sustratos. Mientras que para especies del género *Shewanella* los genes involucrados en la vía propuesta para la transferencia extracelular de electrones son altamente conservados [24]. Cabe resaltar que también se han empleado en la cámara anódica arqueas y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* [25],[26]. A nivel práctico es mejor emplear cultivos mixtos porque estos generan altos potenciales

y su manejo es más económico y menos exigente, por lo que se utilizan lodos anaeróbicos y otras fuentes de comunidades microbianas [27]. En los consorcios anódicos, las bacterias más comunes pertenecen a los géneros *Shewanella*, *Geobacter*, *Proteobacter* y *Pseudomonas*, se destacan las especies *S. putrefaciens*, *P. aeruginosa*, *G. sulfurreducens* y *G. metallireducens*.

En cuanto a aspectos puntuales sobre la electricidad generada por microorganismos, se afirma que como resultado de los avances de los últimos 10 años, la densidad de potencia de las CCMs incrementó en diferentes órdenes de magnitud, de 0,1 mW/m<sup>2</sup> a 4,3 W/m<sup>2</sup> [28]. Algunos de los valores de densidad de potencia representativos publicados en la literatura se pueden observar en la Tabla 2, hasta ahora los máximos valores de densidad de potencia han sido producidos con cultivos mixtos o con la especie *G. sulfurreducens*.

Tabla 2.1. Principales variables consideradas en CCMs. [29]

Características de la CCM	Bacterias	Sustrato	Tipo de electrodo	DP (mW/m <sup>2</sup> )	RI (Ω)	EC (%)	Referencia
Cámara doble, MIP Nafion 117	Lodo anaeróbico	Acetato	Papel carbón (ánodo), platino (cátodo)	7200	960	50 – 80	Oh et al. (2004)
Cámara sencilla, sin membrana	Mezcla de bacterias	Acetato, aguas residuales	Fibra de carbono	6860	235	-	Fan et al. (2008)
Cámara doble, MIP Ultrex	Lodo metanogénico, anaerobio, granular	Glucosa	Varilla de grafito, 5 mm de diámetro	4310	-	-	Rabaey et al. (2004)
Cámara doble, MIC Nafion 117	<i>Geobacter sulfurreducens</i> KN400	Acetato	Varilla de 7.1x10 <sup>-6</sup> m <sup>2</sup> (ánodo), tela de grafito 6.4516 cm <sup>2</sup> (cátodo)	3900	0.015 Ω/m <sup>2</sup>	-	Yi et al. (2009)
Cámara sencilla, MIP Nafion 115	Lodo de digestor anaeróbico	Glucosa y acetato	Filtro de carbono suspendido en varilla de grafito	3650	27	88±5.7	Borole et al. (2009)
Cámara doble, MIP Ultrex	Cultivo mixto	Glucosa	Grafito plano, 50 cm <sup>2</sup>	3600	-	89±4	Rabaey et al. (2003)

### 2.3 Mecanismo de transporte de electrones a los electrodos

En las celdas de combustible microbianas, los electrones liberados de la materia orgánica se transfieren a los electrodos. Hay cuatro mecanismos primarios propuestos para la transferencia de electrones. Transporte indirecto de electrones por productos reducidos, se da a entender que los productos reducidos de la fermentación microbiana se oxidaron abióticamente en la superficie del ánodo para proporcionar electrones (Figura 1.4a). Transporte de electrones por mediadores artificiales ([17], [30]), en este mecanismo los electrones son transportados por mediadores artificiales, a veces se hace referencia como lanzaderas de electrones y son capaces de cruzar las membranas de la célula, los mediadores son importantes en las CCMs que utilizan microorganismos tales como *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Proteus* y especies de *Bacillus* incapaces de transferir eficazmente los electrones derivados del metabolismo central al exterior de la célula (figura 1.4b), los mediadores más comunes son tionina, benzylviologen, 2,6-dichlorofenolindofenol, 2-hidroxi-1,4-naftoquinona y varias fenazinas, fenotiazinas, fenoxoazinas,

quelatos de hierro y rojo neutral; por la membrana transferencia directa de electrones ([8]) en la cual microorganismos como *shewanella oneidensis* producen sus propios mediadores para promover la transferencia extracelular de electrones (figura 1.4c), o por los denominados nanocables ([9], [10], [11]) producido por las bacterias.

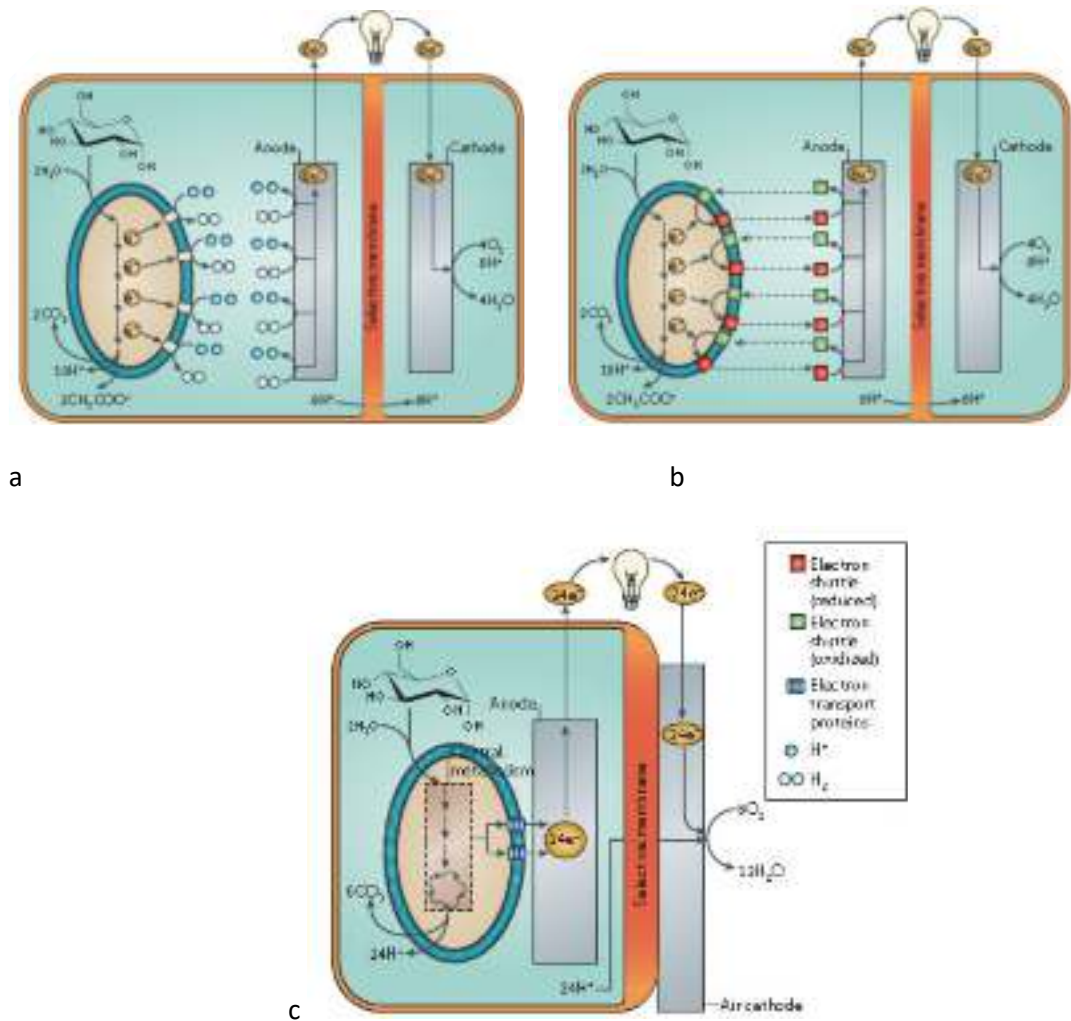


Figura 2.3. Mecanismos de transferencia de electrones. [31]

## 2.4 Arquitecturas de las celdas microbianas

Existen diferentes tipos de arquitecturas de las CCMs mostradas en la figura 5 (5a) con puente salino; 5b) cuatro CCM alimentadas en batch separadas por una membrana; 5c) cuatro CCM alimentadas en flujo continuo separadas por una membrana; 5d) CCM de tipo fotoheterotrófico; 5e) CCM con cátodo al aire; 5f) sistema de dos cámaras tipo H), cada una está en función de los objetivos que se quieren estudiar. Un diseño ampliamente utilizado y de bajo costo es la CCM de dos cámaras construida en forma de "H", que consiste por lo general de dos contenedores conectados por un tubo que contiene en su interior un separador que suele ser una membrana de intercambio de protones (MIP) como nafion o un puente salino. La clave de este diseño es elegir

una membrana que permita a los protones pasar entre las cámaras y que no acepte el paso del sustrato o del aceptor de electrones entre las cámaras. Los sistemas “H” son aceptables para la investigación de parámetros básicos tales como la producción de energía utilizando nuevos materiales o la observación de comunidades microbianas que se presentan durante la degradación de compuestos específicos, pero en general estos sistemas suelen producir bajas densidades de potencia. La cantidad de energía que se genera en estos sistemas se ve afectada por la superficie del cátodo con respecto a la del ánodo [32] y por la superficie de la membrana [33]. La densidad de potencia producida por estos sistemas suele estar limitada por la alta resistencia interna y pérdidas en los electrodos.

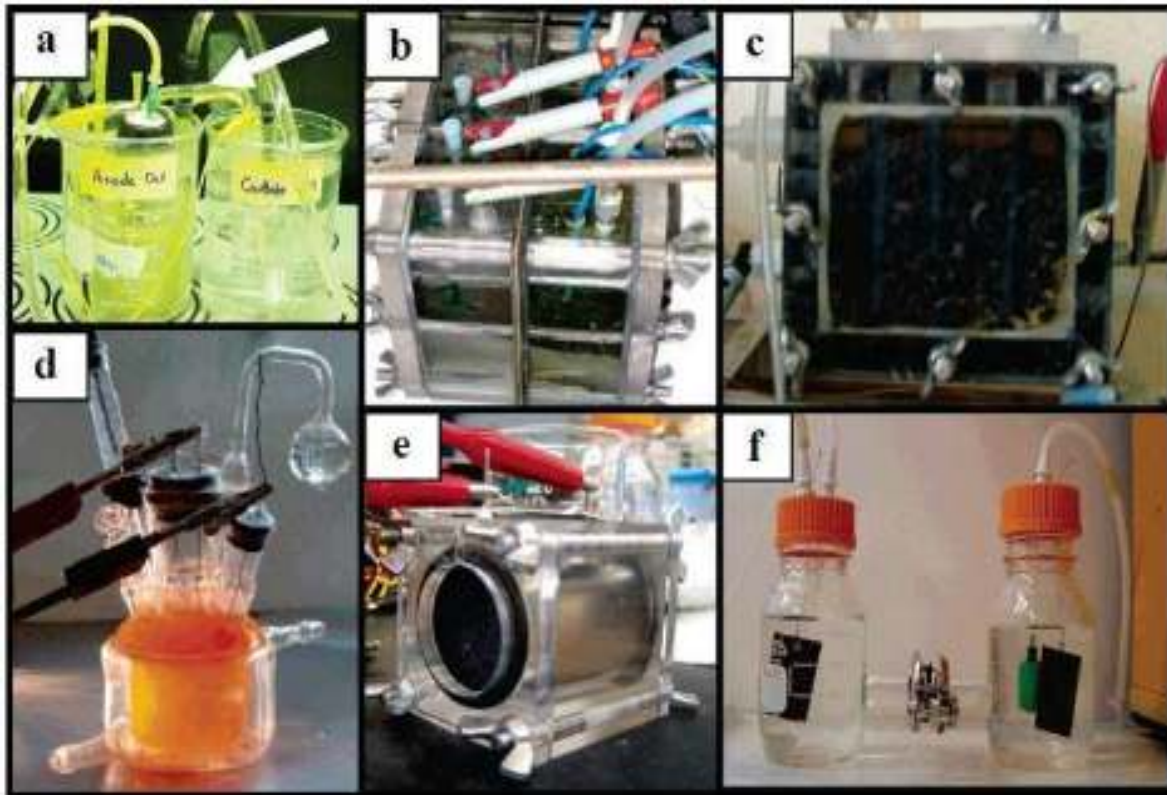


Figura 2.4. Diseños de celdas de combustible microbianas.

No es indispensable poner el cátodo en agua o en una cámara separada cuando se utiliza oxígeno en el cátodo, este se puede poner en contacto directo con el aire (ver figura 5e, 5c y 5d) ya sea en presencia o ausencia de una membrana [34]. También se han registrado densidades altas de potencia utilizando oxígeno como aceptor de electrones cuando cátodos acuosos se sustituyen con cátodos de aire. La utilización de oxígeno por las bacterias en la cámara del ánodo puede resultar en una menor eficiencia coulombica (fracción de electrones recuperados como corriente contra la recuperación máxima posible)[34].



Otras variaciones de estos diseños básicos han surgido en un esfuerzo por aumentar la generación de energía o para establecer un flujo continuo a través de la cámara del ánodo (ver figura 5c). Otra variación es el diseño de un reactor de biopelícula de flujo ascendente de lecho fijo, con el líquido fluyendo continuamente a través de ánodos porosos hacia una membrana que separa el ánodo de la cámara catódica [35]. Otros sistemas se han diseñado para parecerse a las celdas de combustible de hidrógeno, en donde una MIP se intercala entre el ánodo y el cátodo (ver figura 5c). Para aumentar el voltaje del sistema, las CCM se pueden apilar para formar celdas en serie [36].

## **2.5 Modelos matemáticos de celdas de combustible microbianas**

Diferentes modelos matemáticos se han desarrollado para explicar los diferentes fenómenos (biológicos, electro-químicos y transferencia de masa) que ocurren en el funcionamiento de las celdas. Los modelos existentes son fundamentalmente basados en balances de masas. A pesar de que muchos estudios teóricos se han publicado, no fue hasta que Zhang y Halme [37] publicaron el primer modelo matemático de una celda de combustible microbiana que predice la corriente en función de la concentración de sustrato en presencia de una carga externa (resistencia). Sin embargo este modelo es simple y por lo tanto probablemente encuentre aplicaciones limitadas.

Piciorenu [38] presentó el primer modelo de biopelícula del ánodo de una celda de combustible microbiana y trata de los bioprocesos electroquímicos que son integrados dentro de un muy detallado modelo de una biopelícula anódica. Las bacterias ánodo-respiratorias (AR) son incorporadas y su estequiometría de metabolismo incluyendo el crecimiento de biomasa es estimada usando una correlación termodinámica.

Zeng [39] presentó un modelo simple de una celda de combustible microbiana como un reactor de agitación completo en el compartimento anódico sin biopelícula. Las cinéticas son expresadas como funciones de sustrato y sobre potenciales de los electrodos. El modelo describe el sobre potencial del electrodo como una variable de estado y relaciona a la corriente con las tasas de reacción a través de un balance de carga, asumiendo una capacitancia constante del electrodo.

Hamelers presentó un modelo para describir la cinética del bio-ánodo en la cual la transferencia de electrones y la cinética de oxidación del sustrato son combinadas en un modelo minimalista.

Oh y Sloan (2008) desarrollaron un modelo en el que específicamente se enfoca en la descripción de la transferencia de electrones y protones en una biopelícula del ánodo en un electrodo. El modelo presenta una descripción detallada de la química y termodinámica de las especies importantes en el transporte de electrones y protones.

Rodríguez et al., (2007) desarrollaron un exhaustivo balance de masas basado en un modelo matemático incorporando los elementos y procesos que son importantes en una celda de combustible microbiana. El modelo incluye los volúmenes del cátodo y ánodo modelados como un



reactor de agitación completa y unidimensional biopelícula anódica modelada utilizando capas discretas.

## **2.6 Materiales empleados en electrodos anódicos**

Se sabe que la configuración geométrica y el material de los electrodos anódicos impactan el metabolismo microbiano, desde la formación de la biopelícula, hasta la oxidación directa de la fuente de carbono, así como los mecanismos de transferencia de electrones [40], [41], [42], [43]. La superficie disponible del ánodo y la distribución de los electrodos, son factores que junto con la selección y diseño de materiales, afectan la resistencia de la celda y la densidad de potencia que se genera.

Usualmente los diferentes tipos de materiales generan diferentes pérdidas y una de las más significativas para el desempeño global son las pérdidas debidas a la polarización por activación. Los electrodos que hasta ahora se han utilizado son de platino (Pt), Pt-negro, grafito y tela de carbón toray, acero inoxidable, principalmente. Los materiales con platino presentan una mayor actividad catalítica y permiten obtener mayor densidad de corriente, pero sus costos son muy elevados [27], [41]. Diferentes grupos de investigación han utilizado la modificación de electrodos como estrategia para mejorar el costo y desempeño de las celdas de combustible microbianas [19].

Hasta la fecha, los materiales fabricados a base de carbono, como la tela de carbón, papel carbón, grafito, entre otros, se han empleado como electrodos en la mayoría de las CCMs debido a su buena estabilidad en el inóculo microbiano, a su alta conductividad eléctrica, a su baja toxicidad en el medio ambiente y a su facilidad relativa de síntesis [44]. No obstante, éstos materiales poseen poca actividad electrocatalítica durante las reacciones microbianas sobre el electrodo, por lo que la modificación de los materiales a base de carbono ha sido una de las principales estrategias para mejorar el rendimiento de las celdas de combustible microbianas.

Algunos materiales compuestos de grafito que han sido utilizados incluyen metales y sus óxidos (por ejemplo:  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ni}^{2+}$ ), polímeros conductores como la polianilina sobre Pt, principalmente en los electrodos anódicos, cuya finalidad ha sido facilitar la conducción de los electrones disponibles en el medio [45].

El uso de mediadores electrónicos exógenos modificados (como el colorante rojo neutro) también han sido utilizados en las modificaciones de electrodos anódicos y se ha observado que la corriente eléctrica generada aumenta cuando se incorporan los mediadores en los electrodos anódicos, pero son muy tóxicos, a diferencia de los electrodos anódicos que se han modificado con películas delgadas de polímeros conductores ([19]) como la polianilina y el polipirrol, que debido a sus características funcionales, resultan ideales para estas aplicaciones [46].

## 2.7 Materiales de Carbono

El carbono es un elemento químico que pertenece al grupo de los no metales, de número atómico 6 y símbolo químico C. Por su configuración electrónica,  $1s^2 2s^2 2p^2$ , tiene la capacidad de formar distintos tipos de enlace dando lugar a una gran variedad de materiales con estructuras y propiedades muy diferentes. Estos pueden ser estructuralmente ordenados o desordenados, densos o porosos, conductores o aislantes.

Presentan una amplia variedad de propiedades, El amplio espectro de materiales implicados y la terminología muy variada (que frecuentemente incluye nombres derivados de la actividad industrial) hacen aconsejable establecer criterios de clasificación de estos materiales que permitan situarlos, y comparar unos con otros, dentro del conjunto global de los sólidos constituidos exclusivamente por carbono. El carbono tiene varias formas alotrópicas (figura 2.5), lo que refleja la existencia de dos o más formas estructurales moleculares o cristalinas de un elemento. Los alótropos del carbono pueden ser:

- Tridimensionales – diamante, grafito;
- Bidimensionales – grafeno;
- Monodimensionales – nanotubos;
- Cero dimensionales – fullerenos.

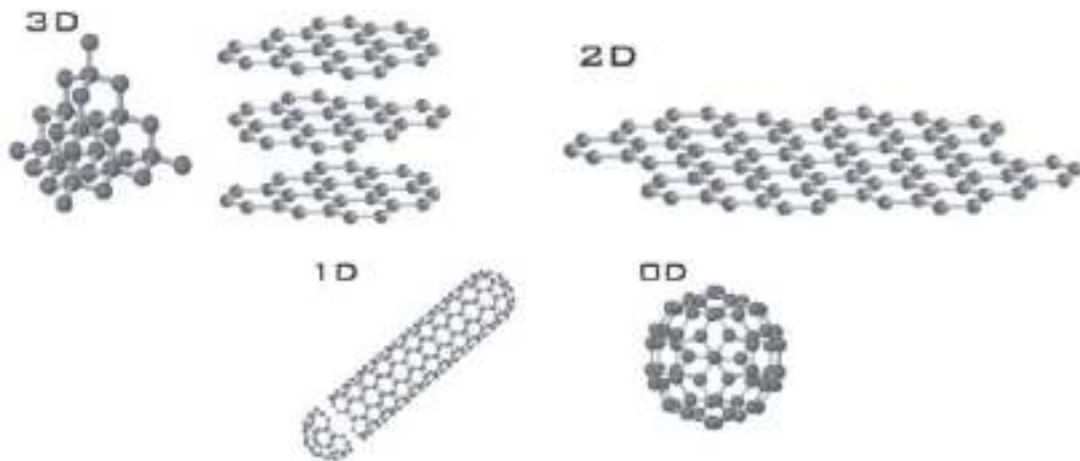


Figura 2.5 Alotropía de carbono. Diamante y grafito (3D); grafeno (2D); nanotubos (1D); fullerenos (0D)

## 2.8 Grafeno

Aunque fue sintetizado por primera vez en 2004, salto a la fama en 2010 cuando sus descubridores de origen ruso Andre Geim y Konstantin Novoselov recibieron el premio nobel de física. Las aplicaciones son tantas que ni siquiera fueron capaces de enumerarlas sus descubridores

Recientemente, el grafeno ha sido considerado como el material intrigante, atrayendo el interés científico y tecnológico de gran potencial de aplicación en diversos campos, tales como baterías de litio [47], celdas solares [48] y supercapacitores electroquímicos, por su nanoestructura única y propiedades extraordinarias como alta área superficial, excelente conductividad, sobresaliente resistencia mecánica y electrocatalítica. Dichas propiedades también están siendo atractivas en la aplicación y estudio de las celdas de combustible microbianas [43], [49]–[54]. El grafeno es una estructura nanométrica bidimensional que constituye el grafito a partir de varias capas unidas a través del plano basal por fuerzas de Van Der Waals. Consta en su morfología de varios anillos hexagonales de carbono unidos por enlaces fuertes (configuración atómica de panal de abeja). Esta estructura se explica cuando las nubes electrónicas de los átomos de carbono presentan una hibridación tipo  $sp^2$ . En esta configuración tres orbitales  $\sigma$  se distribuyen de forma trigonal plana separándose por ángulos de  $120^\circ$ . El electrón restante que queda sin hibridar en el orbital  $2p_x$ , se encontraría entonces disponible para formar enlaces  $\pi$  con otros átomos. En la realidad su conformación no sería del todo plana, si no que presentaría ondulaciones consecuencia de imperfecciones e impurezas. Sin embargo, de estas imperfecciones derivarían excelentes propiedades mecánicas, electrónicas y químicas. Para que el grafeno sea considerado como tal debe presentar una superposición máxima de diez capas. Por tanto, en función del número de capas que presente se pueden clasificar como grafeno monocapa, bicapa, tricapa y así sucesivamente. De esto dependerá en gran parte sus propiedades, aunque algunas propiedades son comunes independientemente del número de capas que éste disponga.

Algunos tipos comerciales de grafeno son:

Grafeno sobre sustrato.- creado por método CVD (carbon vapour deposition) sobre sustrato. Este tipo de grafeno consiste en láminas de una sola capa de muy alta calidad. Estas muestras presentan, por su pureza, la mayor conductividad

Grafeno en polvo.- El óxido de grafeno reducido en polvo es el material ideal para formar compositos conductivos, compositos con efecto barrera, placas solares, electrodos transparentes, nanocompositos, radiación térmica, capacitores, tintas conductivas y aplicaciones semiconductoras orgánicas.

Papers de grafeno.- Los papers de óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido son un material compuesto de grafeno apilado con gran aceptación en laboratorios y centros de investigación. Estos papers o membranas se obtienen por evaporación lenta o filtración de una solución de óxido de grafeno u óxido de grafeno reducido.

En la Tabla 2.2 podemos ver el desempeño de algunas celdas de combustible microbiana mediante el uso de electrodo de grafeno modificado. Los electrodos poseen una gran área de superficie y facilitan la adhesión bacteriana y exhiben una excelente eficiencia de transferencia de electrones.

Tabla 2.2 Desempeño de CCMs con grafeno modificado.

Sustrato	Material del ánodo	Fuente de inóculo	Tipo de celda (PEM)	Densidad de potencia (mW/m <sup>2</sup> )
Acetate	Crumpled graphene particles coated onto carbon cloth	Anaerobic sludge (wastewater treatment plant, South Shore, Milwaukee, WI, USA)	Two chambers (Uitex CMI 7000, Membranes International, Inc., Glen Rock, NJ, USA).	3600 mW/m <sup>2</sup>
Glucose	Graphene-sponge (G-S) composite and a stainless-steel	Inoculated with anolyte from a previous MFC.	Two chambers.	1570
-	Polyaniline Hybridized Three-Dimensional Graphene	Shewanella oneidensis	Two chambers (Nafion 117).	768
Glucose	Nanostructured Polyaniline/Titanium Dioxide Composite	Escherichia coli	Two chambers (Nafion 117, DuPont).	1495
Acetate	Bio-Pol nanoparticles coated to carbon cloth	Shewanella oneidensis	Two chambers (Nafion 117, DuPont).	605

Sin embargo la elaboración de los electrodos con grafeno utiliza técnicas elaboradas y costosas, por lo que en el presente trabajo se plantea utilizar un pegamento conductor a base de carbón y agua llamado Wireglue™ de Anders Products (USA), lo que permite fijar el grafeno al soporte carbonoso simplemente por contacto con el pegamento, haciendo más fácil y menos costosa la elaboración.

## 2.9 Métodos electroquímicos de interface en sistemas heterogéneos electrodo de trabajo/medio acuoso.

Cuando un electrodo de trabajo sólido entra en contacto con un medio acuoso, se da inicio a serie procesos termodinámicos y cinéticos responsables de la formación de un interfase electroquímica, la cual es la encargada de controlar los procesos de óxido/reducción que están relacionadas con la transferencia de carga y de masa en la vecindad próxima al metal. Por las características eléctricas de la interfase, esta es normalmente modelada mediante un arreglo eléctrico de elementos pasivos (resistencias, y elementos de fase constante), cuyas magnitudes definen tanto los aspectos termodinámicos como cinéticos en las reacciones de intercambio y/o transferencia de carga y masa.

Los aspectos teóricos de las técnicas electroquímicas, involucran dos parámetros; el potencial eléctrico (Voltios) y la Corriente eléctrica (Amperios)[55]. El potencial eléctrico es el parámetro concluyente de todos los aspectos termodinámicos de un sistema electroquímico y la corriente eléctrica, define los aspectos cinéticos y por ende la velocidad de intercambio de carga y especies en una interfase.

La ecuación de Butler-Volmer (Ecuación 2.1) es útil para la modelación de los mecanismos de transferencia de electrones y es a menudo junto a la difusión de mediadores de electrones a través del biofilm un método de cálculo de los perfiles de corriente y concentraciones del mediador [42].

$$I = nFk_0 \left( X_{red} e^{(1-\alpha)\frac{nF}{RT}(E-E_X^0)} - X_{ox} e^{-\alpha\frac{nF}{RT}(E-E_X^0)} \right) \quad (2.1)$$

Donde  $n$  es el número de electrones transferidos;  $I$  es la densidad de corriente ( $\text{Am}^{-2}$ );  $k_0$  es la constante estándar de velocidad heterogénea ( $\text{ms}^{-1}$ );  $X_{red}$  es la concentración de la especie reducida del par redox en la superficie del biofilm (mM);  $X_{ox}$  es la concentración de la especie oxidada del par redox en la superficie del biofilm (mM);  $\alpha$  es el coeficiente de transferencia de carga;  $F$  es la constante de Faraday ( $\text{s A mol}^{-1}$ );  $T$  es la temperatura (K);  $R$  es la constante universal de los gases ( $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ ),  $E$  es el potencial del electrodo-biofilm (V) y  $E_X^0$  es el potencial de reducción estándar del par redox (V).

La experiencia demuestra que el potencial de un electrodo afecta fuertemente la cinética de la reacción que ocurre en su superficie y es así para todos los procesos faradaicos. La diferencia de potencial interfacial puede ser usada para controlar la reactividad. La figura 2.6 muestra las contribuciones anódica y catódica y la línea continua muestra la corriente total actual.

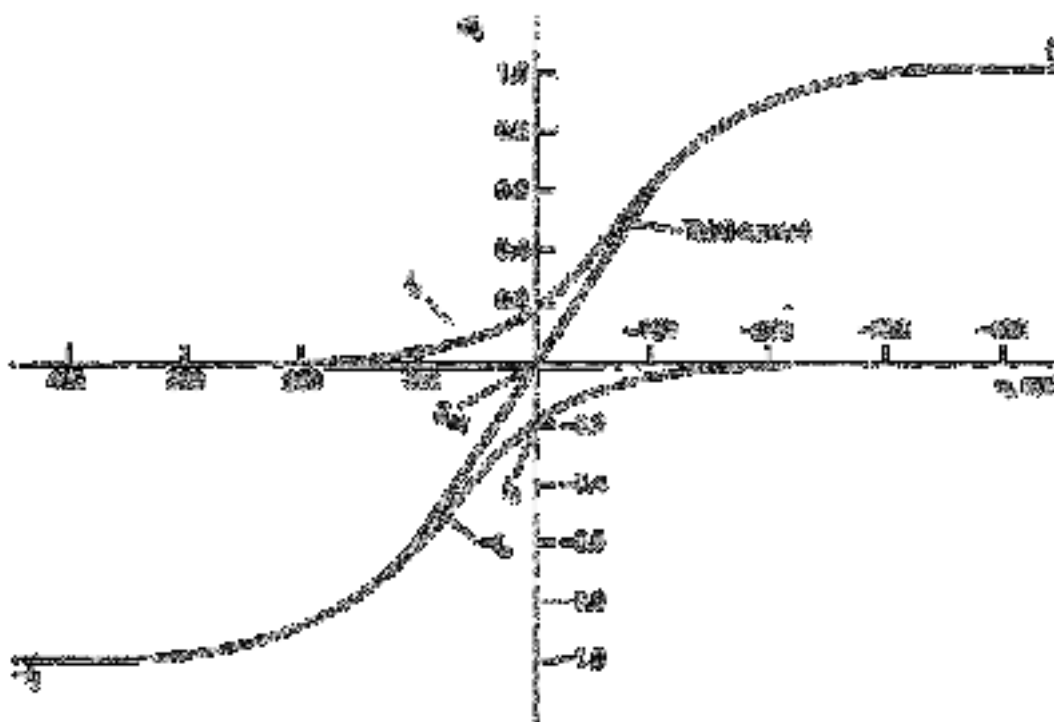


Figura 2.6. Curva corriente-sobrepotencial para el sistema  $O + e \leftrightarrow R$ ,  $\alpha = 0.5$ .

Otra ecuación utilizada para describir las curvas de polarización de un bio-ánodo es la ecuación de Nerst-Monod [42]:

$$\frac{I}{I_{\max}} = \left( \frac{1}{1 + e^{-f(E - E_{KA})}} \right) \left( \frac{S}{K_S + S} \right) \quad (2.2)$$

Donde  $I_{\max}$  es la densidad de corriente limitante ( $A \cdot m^{-2}$ );  $E_{KA}$  es el potencial al cual la corriente es la mitad de la corriente limitante (V);  $S$  es la concentración del sustrato electrodonante (mM) y  $K_S$  es la constante de saturación media de Monod para el sustrato (mM). El primer término de la ecuación describe la dependencia del potencial de la densidad de corriente y el segundo término que es de Monod describe la dependencia con el sustrato.

Las curvas de polarización representan el voltaje (tensión) en función de la corriente (densidad). Pueden ser registradas para el ánodo, el cátodo, o para toda la CCM usando un potenciostato. La figura 2.7 muestra el comportamiento de una curva de polarización de una celda tipo PEM y aunque todas siguen un mismo patrón, son diferentes para cada celda.

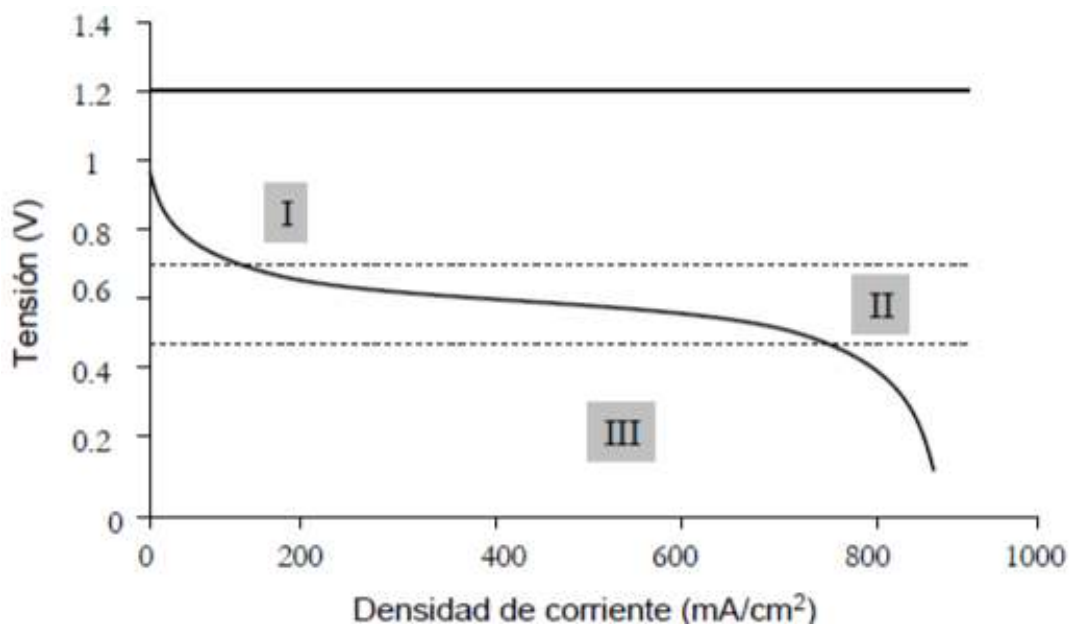


Figura 2.7 Curva de Polarización de una celda tipo PEM.

Los puntos clave que describen este comportamiento son los siguientes:

- A circuito abierto, la tensión es menor que la esperada teóricamente y se produce además una caída brusca de la tensión en cuanto empieza a suministrarse corriente. Este comportamiento es típico de las celdas tipo PEM. Los aspectos que determinan la forma de esta región son las pérdidas por activación y un fenómeno denominado crossover. Esto da lugar a la polarización por activación.

- Una vez estabilizada, la tensión va cayendo lentamente y de forma lineal, lo que sugiere que predominan las pérdidas resistivas u óhmicas denominado polarización óhmica.
- En la región III se observa cómo se produce un nuevo descenso brusco de la tensión, debido fundamentalmente a pérdidas por el transporte de masa denominado polarización de concentración.

## 2.10 Métodos de análisis

El desempeño de los electrodos está influenciado por diversos factores, lo cual se observa en los diferentes valores medidos de los siguientes parámetros: i) la diferencia de potencial ( $\Delta V$ ), ii) la densidad de corriente ( $A/m^2$ ) y iii) la densidad de potencia ( $W/m^2$ ), expresados en relación al área superficial de los electrodos empleados. Otra herramienta de gran utilidad son las curvas de polarización cíclicas que permiten obtener medidas del potencial y la intensidad de las contribuciones, picos anódicos y catódicos. Mediante los datos obtenidos de los análisis electroquímicos, es posible explicar hasta cierto grado los fenómenos que gobiernan el sistema estudiado.

### 2.10.1 Voltametría cíclica

Es una técnica que permite evaluar, asociar y establecer un mecanismo electroquímico y al mismo tiempo caracterizar superficies in situ, lo que la convierte en una técnica recurrente para caracterizar materiales. Los datos registrados corresponden a un espectro electroquímico de superficie, que se obtiene cuando se fija el potencial en un valor constante o se establece en régimen dinámico, el barrido de potencial establecido ocasiona cambios de energía en la superficie del electrodo de trabajo, medibles como corriente en función del tiempo o del potencial mismo. Las mediciones de estos cambios producen picos ( $I_p^a, I_p^c$ ) que se interpretan ya sea como reacciones de óxido-reducción o de adsorción-desorción.

La información que esta técnica puede proporcionar cuando se trabaja con curvas (corriente (I) contra potencial (E)) de sistemas reversibles, se basa en el análisis de tres características de los esquemas trazados: i) la altura de la curva, donde la aparición de una meseta indica que el sistema está gobernado por mecanismos relacionados con la transferencia de masa y es de utilidad para determinar cualquier parámetro en sistemas no complejos, como la concentración de las especies electroquímicamente activas en la superficie del electrodo, ii) la forma de la curva, que resulta útil para obtener propiedades termodinámicas debido a la dependencia que existe entre la energía libre y la extensión de la reacción en el equilibrio termodinámico bajo las condiciones de trabajo dadas, entre éstas propiedades podemos mencionar el potencial estándar, la magnitud de la energía libre de la reacción y las constantes de equilibrio, y iii) la posición de la curva, cuyo análisis es esencial cuando se precisa verificar la existencia de reversibilidad en un sistema dado.

### **2.10.2 Difracción de rayos-X (DRX)**

Con esta técnica se busca la identificación de la estructura cristalina de los materiales y de la concentración de un elemento de interés en las muestras. Los rayos-X son difractados (dispersados) o reflejados de una manera determinada según la estructura cristalina del material. Los ángulos y la intensidad de las difracciones y reflexiones se interpretan por comparación con una base de datos de referencia (base de datos JCPDS, *Joint Committee for Powder Diffraction Sources*) de la ICDD (*International Center for Diffraction Data*). La cristalinidad e identificación de las fases pertenecientes a los sólidos sintetizados se observan con la ayuda de un difractómetro de rayos [56]. Los materiales producen picos de difracción cuyas anchuras se relacionan con el tamaño de los cristales. Los materiales con cristales muy desarrollados producen picos bien definidos, y los menores a 1  $\mu\text{m}$  generan picos de difracción anchos y hasta domos.

### **2.10.3 Microanálisis por Sonda de Electrones (EDS)**

El microscopio electrónico de barrido (SEM, de Scanning Electron Microscopy) es uno de los instrumentos más versátiles para el examen y análisis de características microestructurales de sólidos; proporciona información morfológica y topográfica de la superficie de los mismos. Una de las razones de ello es su alta resolución (de 20 a 50  $\text{\AA}$ ). Otra característica importante es la apariencia tridimensional de la imagen de la muestra, resultado de su gran profundidad de foco (aproximadamente entre 100 y 1000 veces mayor que la de un microscopio óptico a la misma magnificación). La gran profundidad de campo disponible en el SEM permite la obtención de imágenes estereoscópicas. Actualmente se han desarrollado equipos que permiten la evaluación cuantitativa de la topografía superficial haciendo uso de la estereoscopía.

Las muestras que conducen la electricidad son las más fáciles de estudiar, ya que la libre circulación de los electrones a tierra permite minimizar los problemas asociados con la acumulación de carga. Las muestras no conductoras necesitan una cubierta conductora para evitar carga eléctrica y daño por radiación. Metalizados de Au o de Au/Pd son los más frecuentes por ser estos materiales muy buenos conductores del calor y la electricidad.

### **2.10.4 Área Superficial Específica ( $S_{\text{BET}}$ )**

El área superficial de un material es una propiedad de importancia fundamental para el control de velocidad de interacción química entre sólidos y gases o líquidos. La magnitud de esta área determina, por ejemplo, cuán rápido se quema un sólido, cuán pronto se disuelve un polvo dentro de un solvente, cuán satisfactoriamente un catalizador promueve una reacción química, o cuán efectivamente elimina un contaminante.

El método BET desarrollado por Brunauer, Emmet y Teller [57] es reconocido mundialmente como estándar. Se basa en la técnica desarrollada por Langmuir, extendida a la formación de multicapas



y presupone que el calor de adsorción de la monocapa es distinto al de las otras capas, pero todas las siguientes capas presentan el mismo calor de adsorción. La fisisorción se produce cuando un gas no polar, generalmente nitrógeno, se pone en contacto con un sólido desgasificado, originándose fuerzas de Van der Waals que pueden ser de tipo London o de tipo dipolo - dipolo, con energías que van de 1 a 5 KJ/mol. Al ponerse en contacto el gas con la superficie del sólido se produce un equilibrio entre las moléculas adsorbidas y las moléculas en fase gaseosa, que depende de la presión del gas y de la temperatura. La relación entre las moléculas adsorbidas y la presión a temperatura constante se puede recoger en una isoterma de adsorción. Estas isotermas, que nos informan directamente del volumen adsorbido a una determinada presión nos permiten también calcular el área superficial del sólido, el tamaño de poro y su distribución.

# Capítulo 3

## Metodología

### 3.1 Diseño de celda de combustible microbiana.

Se realizó una revisión bibliográfica de los diversos diseños de CCMs, a grandes rasgos una CCM típicamente está compuesta por dos cámaras, una anaeróbica y otra aeróbica en medio de las cuales hay un separador (electrolito). La cámara anaeróbica contiene sustratos orgánicos que al oxidarse por acción de los microorganismos, generan electrones, protones y  $\text{CO}_2$ . En cada una de las cámaras se coloca un electrodo, el ánodo en la cámara anaeróbica y el cátodo en la cámara aeróbica [27], una vez los electrones se liberan en la cámara anódica, éstos son captados por el ánodo y posteriormente transferidos hacia el cátodo mediante un circuito externo. Simultáneamente, en la cámara anódica se generan protones que migran hacia la cámara catódica a través del separador (electrolito), donde se combinan con el oxígeno del aire para reducirse a agua con los electrones que captan directamente del cátodo, debido a que esta reacción no está catalizada por microorganismos el cátodo se refiere como abiótico normalmente. También se ha trabajado con celdas de una sola cámara que utilizan un cátodo poroso expuesto directamente al aire con lo que se reducen los costos [27]. La siguiente figura 3.1 y 3.2 muestra algunos diseños generales de celdas de dos y una sola cámara.

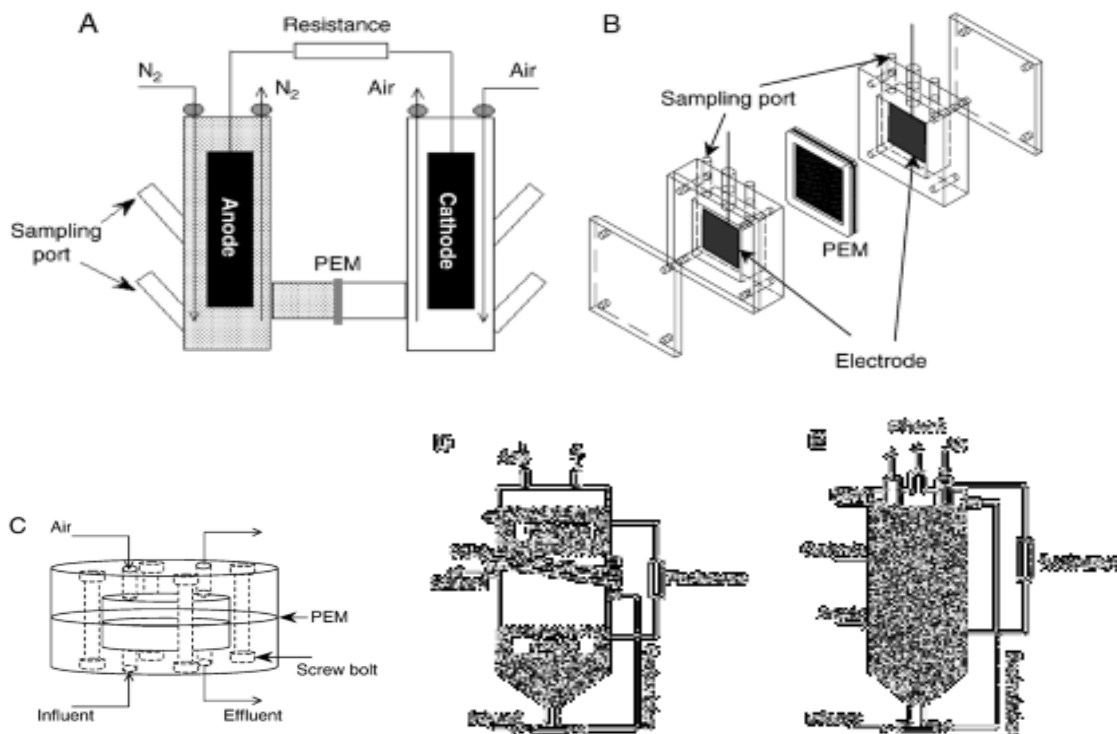


Figura 3.1 Tipos de CCM de dos cámaras. [27]

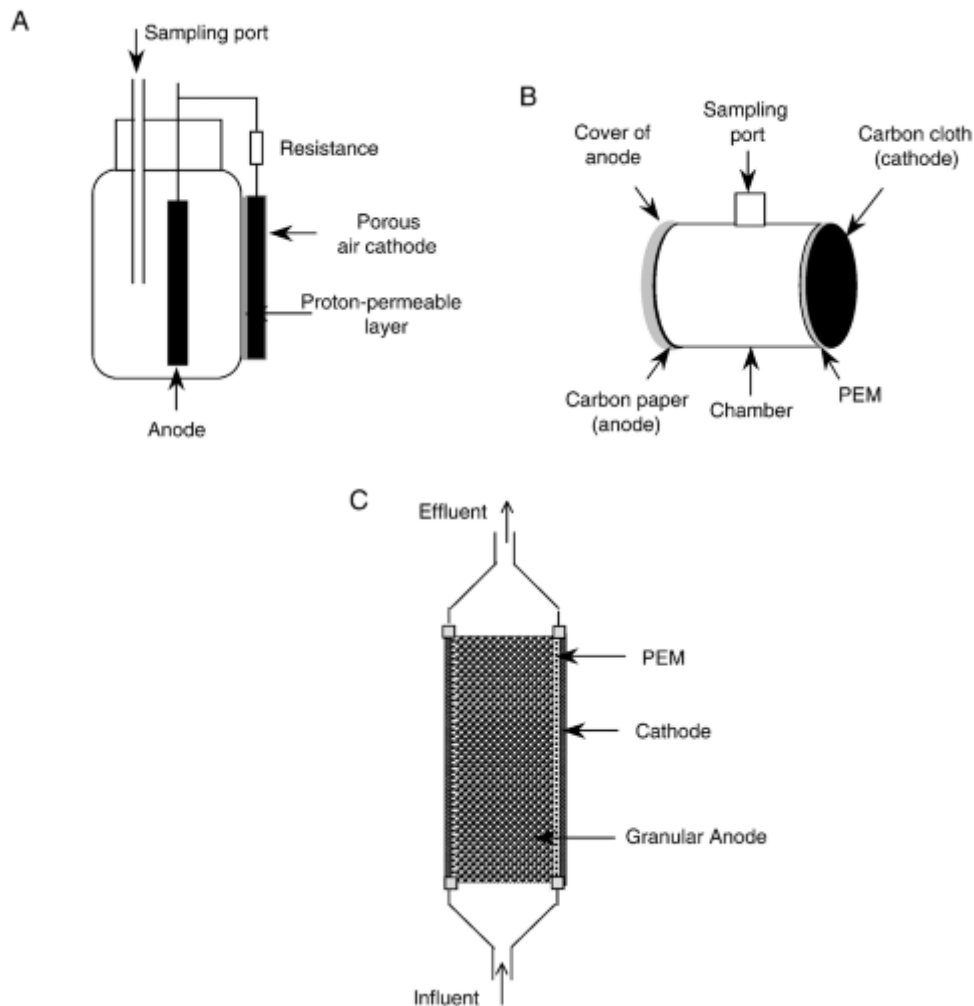


Figura 3.2 Tipos de CCM de una sola cámara. [27]

En la literatura es mencionado también que las celdas tipo H son las más ampliamente utilizadas y son recomendadas cuando se llevará a cabo la prueba de nuevos materiales, por lo que se realizó el diseño de una celda de acrílico de 3mm de espesor con una capacidad en cada cámara de  $351\text{cm}^3$ , con la posibilidad de desacoplar las cámaras y utilizarse como una mono celda en futuras investigaciones; se pretende usar una membrana nafion (La membrana Nafion 117 tiene un espesor de 256 micrones. La temperatura máxima de operación de la membrana es de  $80^\circ\text{C}$  y debido a la columna de tipo teflón de la membrana, esta tiene una gran estabilidad y fuerza.) de 45mm de diámetro la cual es colocada durante el ensamble de los compartimentos que cuentan con un orificio en una de las caras laterales.

Cuenta con 4 espárragos que permitirán el sellado entre ambos compartimentos, cabe destacar que para evitar el daño a los compartimentos se añadió una brida de presión elaborada de igual manera con acrílico, la cual permite que la presión ejercida se distribuya más homogéneamente sobre los compartimentos para ánodo y cátodo.

## 3.2 Caracterización de grafeno en polvo

Para la caracterización del grafeno en polvo (composición conocida) adquirido en ID-nano Investigación y desarrollo de nanomateriales S.A de C.V se llevará a cabo los siguientes análisis:

- Microscopia electrónica de barrido (SEM) en un equipo Hitachi S5500 FE-SEM/EDS para el estudio de la morfología y estructura.
- Determinación de área superficial y de tamaño de poro.
- Análisis de difracción de rayos-X en un difractometro Rigaku Ultima IV para la determinación de la estructura cristalina.

### 3.2.1 SEM de GRAFENO

Las técnicas de microscopía electrónica se basan en la interacción de un haz de electrones de alta energía con la materia. Al incidir un haz focalizado de electrones sobre un material, parte de los electrones se absorben o se transmiten, pero otros dan lugar a la producción de diversas radiaciones que dan información acerca de la microestructura de la zona localizada de la muestra y de su composición.

Se secó 1g de grafeno a una temperatura de 100°C durante una hora, posteriormente se llevó a un desecador hasta temperatura ambiente. Posteriormente se colocó una pequeña cantidad en un soporte fijándolo con tinta de carbono conductora para por ultimo tomar las micrografías en el SEM haciendo varias tomas a diferentes aumentos.

### 3.2.2 Análisis de difracción de rayos X

El estudio de las distintas líneas que aparecen en un diagrama de difracción de rayos X, es uno de los mejores métodos para obtener información cualitativa y cuantitativa de las fases presentes en un material policristalino. Uno de los aspectos más interesantes de esta técnica es su carácter no destructivo, lo que permite la recuperación de la muestra analizada para otros estudios. Para que ocurra la difracción de los rayos X por los cristales, debe satisfacerse la ley de Bragg.

$$n\lambda=2d\sin\theta \quad (3.1)$$

Donde  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación incidente,  $d$  es el espaciado interplanar,  $n$  un número entero y  $\theta$  el ángulo que forma el haz incidente y el plano de reflexión. En el método de polvo se varía este ángulo y se registra el haz difractado de aquellos planos que cumplen la ecuación 3.1. En el difractograma de rayos X se representa la intensidad del haz difractado frente al ángulo que forma el haz incidente y el haz difractado ( $2\theta$ ). Este difractograma es característico del material y sirve para su identificación.

### 3.3.3 Área superficial específica

En el estudio de la textura de un sólido hay que considerar dos aspectos: el área superficial y la porosidad. Al poner en contacto un gas sobre la superficie de un sólido, se produce un proceso de adsorción que puede ser de tipo químico (quimisorción) o físico (fisorción). La diferencia fundamental entre ambos tipos es, que en el caso de la fisorción, la especie adsorbida

permanece inalterada. La cantidad de gas adsorbido sobre la superficie de un material a una temperatura dada para distintas presiones relativas de gas se conoce como isoterma de adsorción. Las isotermas de adsorción son muy útiles para caracterizar sólidos porosos. La superficie específica se define como el número de metros cuadrados que ocuparía la proyección del recubrimiento de poros de un gramo de sólido. El modelo en el cual se basa la teoría, el método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) es el más utilizado como procedimiento estándar para la determinación del área superficial de materiales porosos. La idea central del método BET consiste en que, conocida la cantidad de gas adsorbido necesario para formar una monocapa y el área que ocupa una de estas moléculas adsorbidas, es posible estimar el área del sólido.

Las medidas de adsorción de nitrógeno se realizaron a la temperatura del nitrógeno líquido (77K, -196°C), utilizando un equipo automático de adsorción-desorción de gases. Previamente a las medidas, todas las muestras se desgasificaron a 0.1 Pa y una temperatura moderada. Las isotermas de adsorción obtenidas muestran a cantidad de N<sub>2</sub> adsorbido en función de la presión relativa (P/P<sub>0</sub>). El cálculo del área superficial realizado por el equipo se hizo utilizando el método BET.

### **3.3 Caracterización de soporte**

Se adquieren dos materiales posibles para el soporte, uno de ellos es “QUÍMICA TF”, una soldadura en frío hecha a base de aluminio en pasta (> 4%) con la cual se pretende tener la facilidad de moldear los electrodos de formas definidas a temperatura ambiente y que tenga la conductividad adecuada para favorecer la transferencia de electrones del grafeno al soporte. El segundo material adquirido es un pegamento conductor hecho a base de carbón y agua llamado Wireglue™ de Anders Products (USA) (ver figura 4.8) con una densidad de 0.6g/cm<sup>3</sup> con un rango de temperatura de servicio de -29 a 93°C, el cual es usado para sustituir la soldadura en circuitos electrónicos de corriente directa y alterna el cual en su publicidad menciona que también ha sido utilizado en el acoplamiento de celdas solares y que no presenta efectos tóxicos dada su formulación, con resistencia a la corrosión y de fácil aplicación.

#### **3.3.1 SEM soporte**

Se impregno una pequeña cantidad del material en un soporte, se dejó secar por un lapso de 30 minutos para por último tomar las micrografías en el SEM haciendo varias tomas a diferentes aumentos. Dada la conductividad esperada del material se espera obtener imágenes oscuras.

#### **3.3.2 Determinación de conductividad**

En los materiales y dispositivos óhmicos la resistencia es constante a lo largo de un amplio intervalo de diferencias de potencial y la relación entre la corriente eléctrica, I y la diferencia de potencial  $\Delta V$  es lineal. La pendiente de una gráfica  $I = f(\Delta V)$  es el inverso de la resistencia, ver figura 3.3.

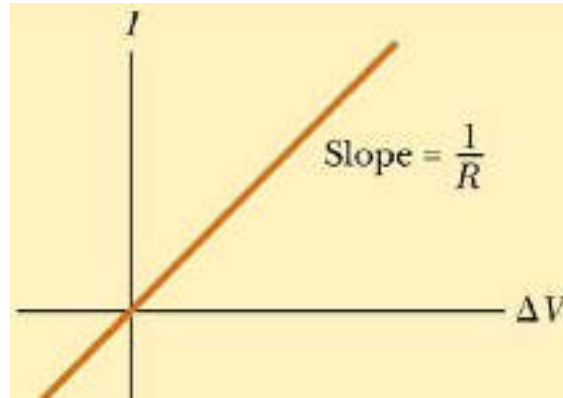


Figura 3.3 Gráfica de  $\Delta V$  contra  $I$ .

Cuando se considera un conductor de longitud  $L$  (en cm), área de sección transversal  $A$  (en  $\text{cm}^2$ ), por el que pasa una corriente  $i$  perpendicular al área  $A$  su resistencia eléctrica,  $R$ , puede expresarse a través de la propiedad intrínseca del conductor conocida como resistencia específica o resistividad (ohm-cm), ver figura 3.4.

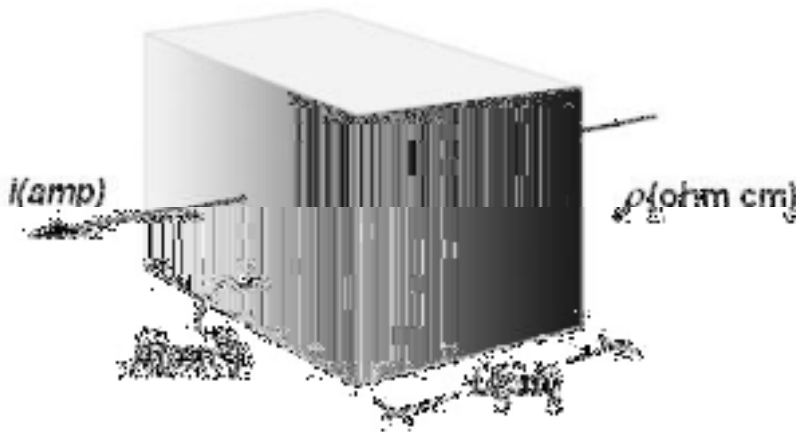


Figura 3.4 Conductividad en un sólido.

Así:

$$R = \rho \frac{L}{A} \quad (3.2)$$

Por otra parte, al inverso de la resistencia se le denomina conductancia y en forma similar, al inverso de la resistividad, conductancia específica o conductividad ( $\sigma$ ) en ( $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ):

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (3.3)$$

Para la determinación de la resistencia (R) se grafican valores de voltaje contra corriente y se procede a realizar una regresión lineal, determinar la pendiente y mediante su inverso determinar la resistencia. Así mismo con las dimensiones de la película formada sobre vidrios Corning, se determina la resistividad y posteriormente con su inverso la conductividad. Cabe mencionar que para realizar la medición se utilizó pintura de plata (Dupont) en los extremos de la película formada para una adecuada medición.

La determinación de la conductividad por el método de Kelvin el cual elimina la contribución de la resistencia del cableado y los potenciales de contacto (figura 3.5), para la medición del espesor t se utiliza un micrómetro.

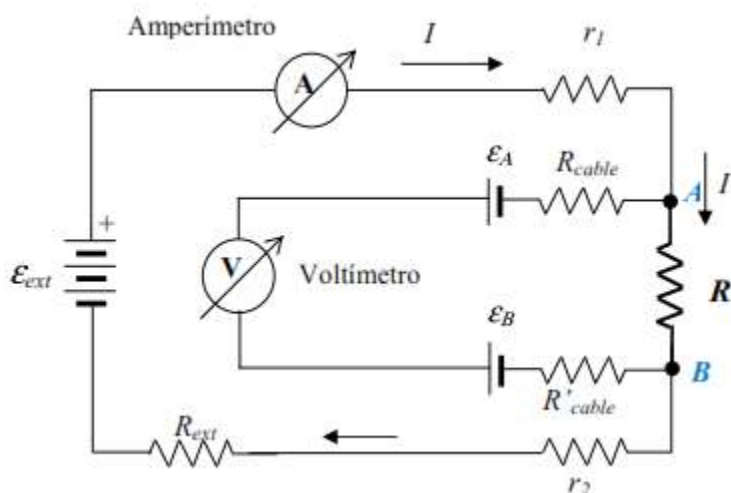


Figura 3.5 Esquema del método de Kelvin.

Las siguientes ecuaciones muestran el cálculo de la conductividad

$$\rho = \frac{\pi V}{\ln 2 I} t = \quad (3.4)$$

$$\frac{1}{\rho} = \sigma \quad (3.5)$$

### 3.3.3 Estabilidad electroquímica de soporte

Para el análisis de estabilidad electroquímica se utilizó un potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N y una celda electroquímica formada de tres electrodos: electrodo de trabajo, electrodo de referencia (Ag/AgCl /KCl saturado) y electrodo auxiliar (barra de grafito). Se llevó a la reacción reversible del Ferrocianuro de Potasio (ver ecuación electroquímica 3.6) en disolución acuosa de cloruro de potasio (sistema 10 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$ , 1M KCl), mediante voltamperometría cíclica. El barrido se inicia en dirección negativa respecto al OCP (0.33 V vs. Ag/AgCl /KCl saturado)).



### 3.4 Caracterización de ánodo

Se elaboró un electrodo sin grafeno el cual es un tubo de vidrio de 5mm de diámetro interior donde se introduce el soporte wireglue/plata conectándolo interiormente a un alambre de cobre para su conexión al circuito, el tubo de vidrio evita el contacto del cobre con las soluciones a emplear, posteriormente se añadieron 5mg de grafeno en polvo al soporte en el extremo del tubo, para después llevarlo a secado en horno a 100°C durante 20 min.

#### 3.4.1 Determinación de área electroactiva

El área real de un electrodo puede ser varias veces mayor que el área geométrica y el cociente entre ambas se denomina factor de rugosidad ( $R=A_{real}/A_{geométrica}$ ). El área real de un electrodo se puede determinar por voltamperometría cíclica y es un valor relativo (no absoluto) ya que se calcula a partir de la carga transferida (número de e-) en una determinada reacción electroquímica.

En el método utilizado el área del electrodo A es suficientemente pequeña y el volumen V de la disolución suficientemente grande de forma que el paso de la corriente no altera las concentraciones en el seno de la disolución. En electroquímica, la ecuación de Cottrell describe el cambio en la corriente eléctrica con respecto al tiempo en un experimento de potencial controlado, como la cronoamperometría. Específicamente, describe la respuesta actual cuando el potencial es una función escalonada. Fue derivado por Frederick Gardner Cottrell en 1903. La ecuación de Cottrell describe el caso de un electrodo que es plano pero también puede derivarse para geometrías esféricas, cilíndricas y rectangulares utilizando el operador de Laplace correspondiente y las condiciones de contorno en conjunto con la segunda ley de Fick de difusión.

$$i = \frac{nFAc\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t}} \quad (3.7)$$

donde, i es la corriente, en Amperios, n número de electrones (para reducir / oxidar una molécula de analito), F constante de Faraday, 96,485 C/mol, A área del electrodo (plano) en cm<sup>2</sup>, c concentración inicial del reducible analito en mol / cm<sup>3</sup>, D coeficiente de difusión en cm<sup>2</sup> / s, t tiempo en segundos.

Para determinar el área electroactiva, fue necesario determinar primero el coeficiente de difusión de ferrocianuro de potasio (1X10<sup>-6</sup> mol/cm<sup>3</sup>) mediante el uso de una celda electroquímica formada por tres electrodos: electrodo de trabajo (platino / área de 0.031416 cm<sup>2</sup>), electrodo de referencia (Ag/AgCl/KCl saturado) y un electrodo auxiliar (varilla de grafito). Primero se realizó una voltametría cíclica en una ventana de potencial de -0.3 a 0.9 V comenzando en el potencial de circuito abierto. Luego se realizó una cronoamperometría de la siguiente manera: 5 s con potencial de circuito abierto, 30 s para la oxidación a partir de 0,3 V y 30 s para la reducción a partir de -0,3 V. Esto se repitió con el electrodo de trabajo (pintura de grafeno / wireglue / pintura de plata), el electrodo de referencia (Ag / AgCl / KCl saturado) y el electrodo auxiliar (barra de grafito). Para la



determinación electroquímica, se utilizó una reacción reversible de ferrocianuro potásico (ecuación 3.6) y una solución de cloruro de potasio (electrolito de soporte).

### **3.5 Operación de la celda de combustible microbiana**

#### **3.5.1 Inoculación de ánodo.**

Previo a la puesta en marcha de la CCM, se llevó a cabo la inoculación para la formación de la biopelícula en el ánodo (crecimiento microbiano en ánodo), para ello los biocatalizadores empleados en la generación de energía se obtuvieron a partir de un inóculo mixto entérico previamente estabilizado en un reactor anaerobio de manto de lodos anaerobio, ubicado en el IMTA, el lodo se mantiene mediante una fuente de carbono de acetato el cual es usado como una fuente no fermentable [58], a una temperatura de 36°C, a un pH entre 6 y 6.5, retención hidráulica de 24 horas. Se llevó a cabo la inoculación del electrodo elaborado de 5mm de diámetro usando una técnica pasiva introduciendo en solución el ánodo con agua residual sintética (ARS) con la siguiente composición (por litro): 4g glucosa; 310mg NH<sub>4</sub>Cl; 130mg KCl; 4,97g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; y 2,75g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O [59].

#### **3.5.2 Preparación de Membrana de Nafion 117**

1. Purificación de la membrana en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% a 85° C durante 30 minutos
2. Lavado de las membranas en H<sub>2</sub>O desionizada a 100° C durante 30 minutos (repetir este paso)
3. Protonación durante 1 hora en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 M a 85° C
4. Se deja reposar las membranas durante 48 hs en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M para asegurar una adecuada protonación.
5. Lavado de las membranas en H<sub>2</sub>O desionizada a 100° C durante 30 minutos (repetir este paso).
6. Se almacenan las membranas en H<sub>2</sub>O desionizada.

#### **3.5.3 Adquisición de datos para monitoreo de celda**

Para la adquisición de datos de la celda de combustible desarrollada se adquirió Duinomite que es una computadora Maximite compatible con Basic (ver figura 3.6), con características de pin out y un layout similar a Arduino. La tarjeta DuinoMite permite programar en lenguaje BASIC, posee una interfaz VGA y PS/2 para conectar un teclado de manera que se pueda desarrollar y escribir código en BASIC sin la necesidad de usar un computador. Luego se puede guardar ese código en una tarjeta de memoria SD y ejecutarlo al inicio de la misma mediante un código principal Autoexec.bas. El programa elaborado permite que tomen medidas cada 30 segundos tomando lectura de la diferencia de potencial en Volts 200 veces y entregando el promedio de estas 200 mediciones que son monitoreadas en tiempo real mediante una pantalla que puede ser conectada a Duinomite y mediante la gráfica programada ver el histórico de las mediciones. También a través de la tarjeta SD se obtienen los datos de las mediciones en un archivo .txt y posteriormente ser analizados. La tarjeta duinomite tiene un rango de medición de 0 a 3.3 volts y su resolución es de 0.806 mV.

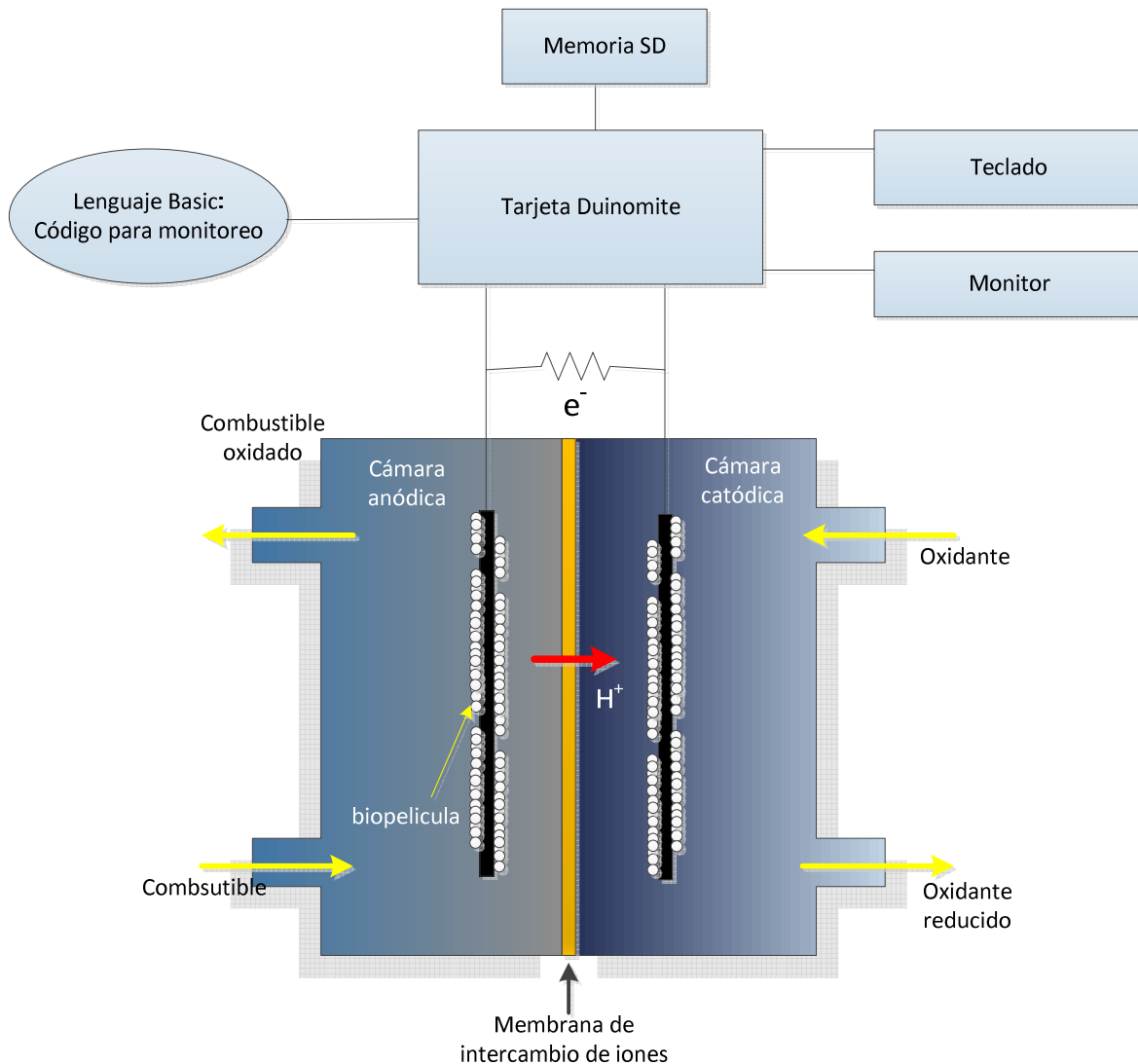


Figura 3.6 Sistema para monitoreo de celda de combustible microbiana

### 3.5.4 Curva de polarización

Para comenzar a generar la curva de polarización para la CCM fue necesario operar la CCM en circuito abierto durante poco más de 1h con el ánodo elaborado inmerso en el ARS previamente descrita y como cátodo una varilla de grafito inmersa en agua. Una vez logrado el estado estable del voltaje a circuito abierto se hizo variar la resistencia externa ( $R_{ext}$ ) desde un valor de 5000  $\Omega$  hasta 3700  $\Omega$  y viceversa. Al finalizar la variación del voltaje en función de una  $R_{ext}$ , nuevamente se operó la CCM en circuito abierto con lo cual se logró corroborar el estado estacionario del sistema y también que las condiciones en que se obtuvo la curva de polarización fueron adecuadas. Es sabido que en la obtención de curvas de polarización al utilizar periodos largos de operación con alimentación en lote, la concentración del sustrato varía de tal forma que el procedimiento de caracterización no es válido debido a la demanda de sustrato que ocurre en el ánodo.

### 3.5.5 Monitoreo de celda de combustible microbiana

Se preparó la celda de combustible microbiana con 290 ml de ARS previamente mencionada como anolito, 290 ml de agua como catolito, el ánodo elaborado (5mm de diámetro) grafeno/wireglue/pintura de plata ya inoculado fue introducido en la cámara anódica y previo a su cierre fue burbujeado N<sub>2</sub> para mantener un medio anóxico, como cátodo se trabajó una varilla de grafito. Las cámaras fueron separadas por una membrana de nafión 117 previamente activada; para el circuito externo se conectó una resistencia de 4 kΩ y poder cuantificar la corriente producida a partir de la medición del potencial entre los electrodos. El monitoreo se llevó a cabo mediante mediciones de densidad de potencia generados por la CCM, utilizando el sistema de adquisición de datos antes referido en la computadora DUINOMITE durante 500 horas. La corriente (I) en amperios se obtuvo como

$$I = V \times R^{-1} = Q \times t^{-1} \quad (3.8)$$

donde V es el voltaje (voltios). La potencia (P; vatios) de la celda se midió como

$$P = I \times V \quad (3.9)$$

y la producción de energía se midió en joules (J) empleando la expresión

$$E = P \times t \quad (3.10)$$

Las eficiencias se expresan con base en la eficiencia coulombica experimental respecto a la teórica y variando de acuerdo al sustrato empleado en la CCM [18]. La eficiencia coulombica (E<sub>c</sub>) se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera como electricidad y se calcula con:

$$E_c = \frac{C_p}{C_{Ti}} \times 100\% \quad (3.11)$$

Donde C<sub>p</sub> es el total de coulombs calculados por la integración de la corriente en el tiempo transcurrido y C<sub>Ti</sub> es la cantidad teórica de coulombs determinada con:

$$C_{Ti} = \frac{F \cdot (DQO_i - DQO_f) \cdot v \cdot b_{DQO}}{M_{DQO}} \quad (3.12)$$

Donde F es la constante de Faraday (96 485 Coulombs/mol e<sup>-</sup>), b<sub>DQO</sub> es el número de moles de electrones producidos por la DQO (4 mol e<sup>-</sup> por mol de DQO), DQO<sub>i</sub> y DQO<sub>f</sub> es la demanda química de oxígeno al inicio y fin respectivamente (g/l), v es el volumen del líquido en el compartimiento del ánodo y M<sub>DQO</sub> es el peso molecular de la DQO (32 g/mol). [41]

# Capítulo 4

## Resultados

### 4.1 Desarrollo de celda de combustible microbiana de cámara doble

Las celdas de combustible microbianas son sistemas electroquímicos porque necesitan de dos electrodos, un ánodo y un cátodo para que sea posible el transporte y la recuperación de electricidad a través de un circuito externo, donde la principal fuerza motriz en la generación de potencia (Watts), es la diferencia de potencial (Volts) entre el ánodo y el cátodo, junto con la tasa de flujo de electrones (Amperes). Los sistemas "H" son aceptables para la investigación de parámetros básicos tales como la producción de energía utilizando nuevos materiales o la observación de comunidades microbianas que se presentan durante la degradación de compuestos específicos, pero en general estos sistemas suelen producir bajas densidades de potencia. La cantidad de energía que se genera en estos sistemas se ve afectada por la superficie del cátodo con respecto a la del ánodo [32] y por la superficie de la membrana [33]. La densidad de potencia producida por estos sistemas suele estar limitada por la alta resistencia interna y pérdidas en los electrodos. Dado lo anterior se muestra el diseño de la celda de doble cámara utilizada en el presente trabajo, la cual puede también adaptarse como celda de una cámara para estudios posteriores. Dicha celda está construida de acrílico cristal de 3mm de espesor, las figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4 muestran a detalle la celda elaborada.

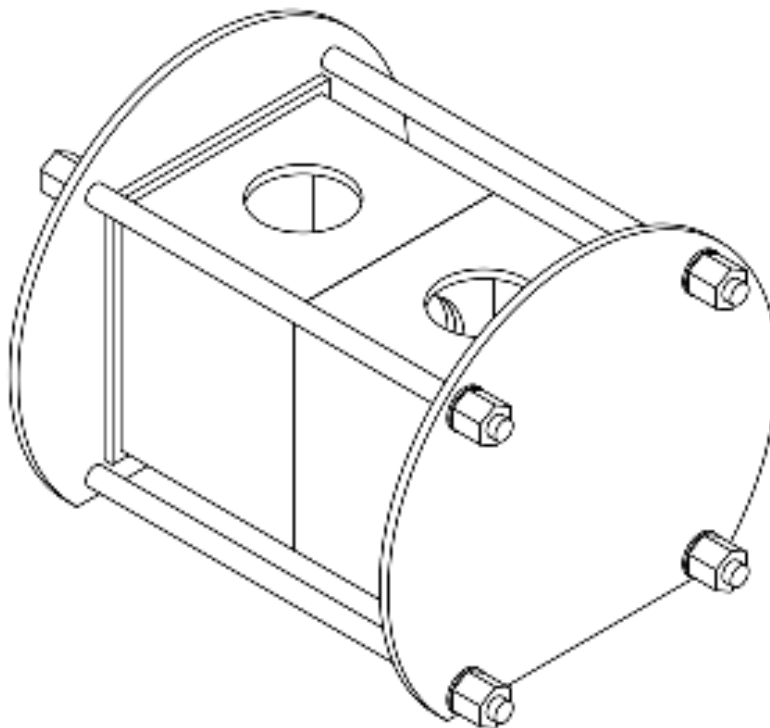


Figura 4.1 Celda de combustible microbiana elaborada.

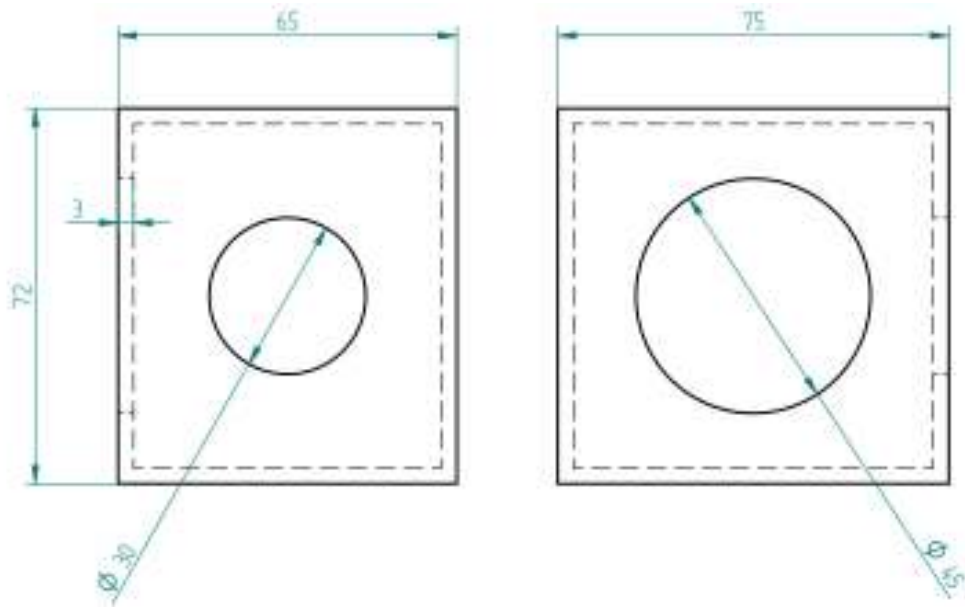


Figura 4.2 Cara superior (izquierda), cara unión (derecha) de compartimentos para ánodo y cátodo.

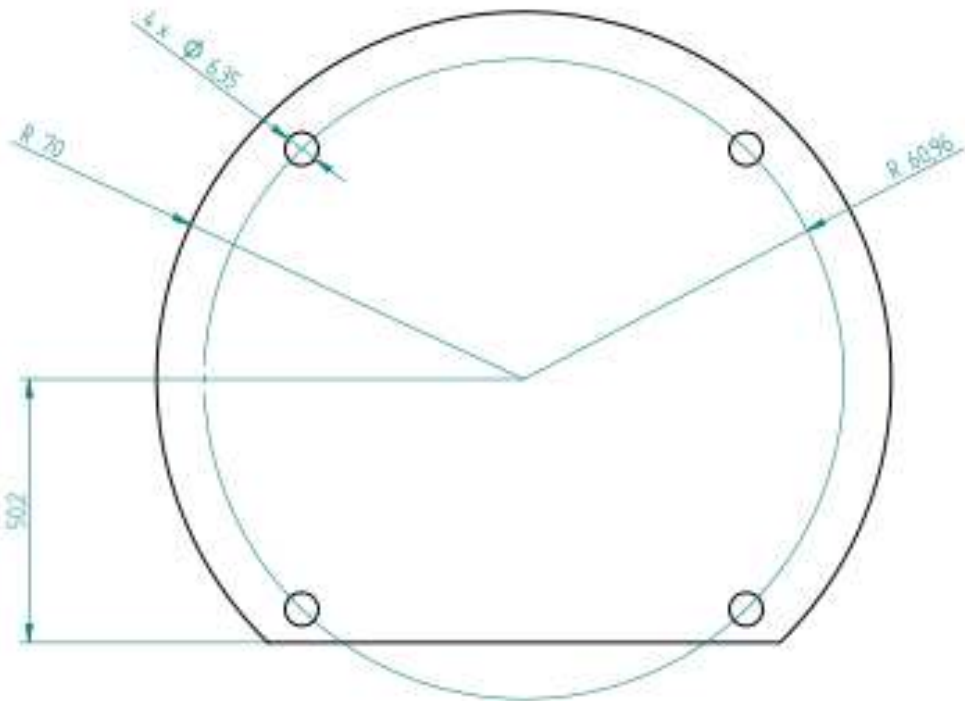


Figura 4.3 Brida de presión.

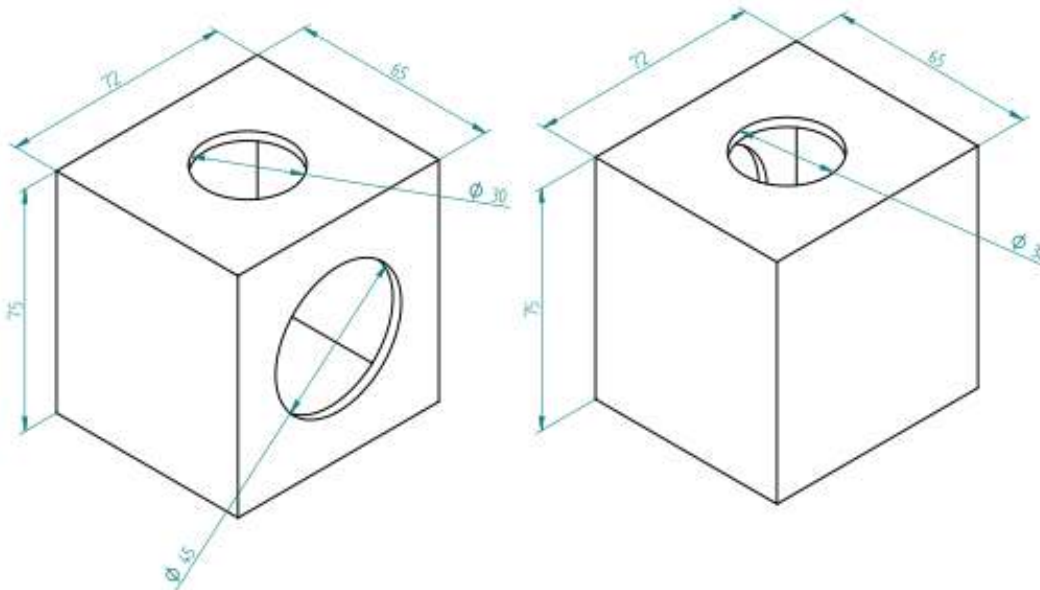


Figura 4.4 Vistas de compartimentos de la celda de combustible elaborada.

Cada compartimento es independiente, se pretende usar una membrana nafion de 45mm de diámetro la cual es colocada durante el ensamble de los compartimentos que cuentan con un orificio en una de las caras laterales. Cuenta con 4 espárragos que permitirán el sellado entre ambos compartimentos, cabe destacar que para evitar el daño a los compartimentos se añadió una brida de presión elaborada de igual manera con acrílico, la cual permite que la presión ejercida se distribuya más homogéneamente sobre los compartimentos para ánodo y cátodo. Dicha celda fue elaborada en talleres del IER.

#### 4.2 Caracterización de grafeno en polvo para elaboración de electrodo anódico

Para los materiales anódicos se espera tengan las siguientes propiedades: alta conductividad eléctrica, biocompatibilidad, estabilidad química y ante la corrosión, gran área superficial, resistencia mecánica y dureza adecuada [41]. En el ánodo los electrodos de carbón son las más ampliamente usados, incluyendo las barras de grafito, cepillos de fibras de grafito, tela de carbón, papel carbón y carbón vítreo reticulado. La Tabla 4.1 [60] muestra algunas características.

También se han utilizado materiales nanométricos como los nanotubos de carbono que tiene alta área superficial ( $1300 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ), que en combinación con polímeros conductivos como la polianilina ha incrementado la eficiencia con respecto a los materiales tradicionalmente usados [49]–[52], [61]–[71], sin embargo se observa que los métodos usados requieren de equipo costoso y el uso de solventes para la formación de tintas, así como la misma fabricación de dichos materiales son factores que limitan su uso en las celdas microbianas, es por ello que en este trabajo se empleó un

Tabla 4.1 Comparación de las características de materiales de carbón tradicionales.

<b>Materiales del ánodo</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Barra de grafito	Buena conductividad eléctrica y estabilidad química. Relativamente económico y fácil de conseguir.	Dificultad para incrementar el área superficial.
Cepillos de fibras de grafito	Alta área superficial específica y fácil de producir.	Se atasca
Tela de carbón	Alta porosidad relativa	Cara
Papel carbón	De fácil contacto con los cables	Frágil
Filtro de carbón	Gran apertura	Gran resistencia
Carbón vítreo reticulado	Alta conductividad eléctrica y plasticidad	Frágil

método de elaboración del electrodo anódico que no requiera de equipos costosos sin sacrificar buena conductividad eléctrica y alta área superficial utilizando materiales que ya existen en el mercado y que se puedan elaborar compositos a utilizar en el ánodo y probarlos en una celda de combustible de doble cámara.

Actualmente el grafeno se puede adquirir en lámina, sobre un sustrato, papers de grafeno y grafeno en polvo, este último se utiliza en aplicaciones que requieren un material como composito, además de que su obtención es sencilla y no requiere de equipos tan sofisticados como los otros mencionados. El proceso de producción de grafeno en polvo básicamente parte del grafito como materia prima. En el desarrollo del trabajo se adquirió grafeno en polvo, tiene el siguiente análisis elemental por energía de dispersión de rayos X (EDX):

Tabla 4.2 Composición química de grafeno

<b>ELEMENTO QUÍMICO</b>	<b>% EN PESO</b>	<b>% ATÓMICO</b>
C (K)	87	91
O (K)	9	7
S (K)	4	2

#### 4.2.1 SEM Grafeno

En la figura 4.5 se muestra la micrografía de SEM del grafeno en polvo, se observan las hojas de un tamaño aproximado de 1µm de ancho en promedio, se aprecian agregados de hojas de grafeno lo

que es denominado grafeno multicapa, esto debido al método de reducción química del grafeno adquirido. El grafeno en polvo tiene facilidad, rapidez de aplicación, reducido peso ( $0.005 \text{ g/cm}^3$ ) y su alta adherencia debido a su superficie arenosa.

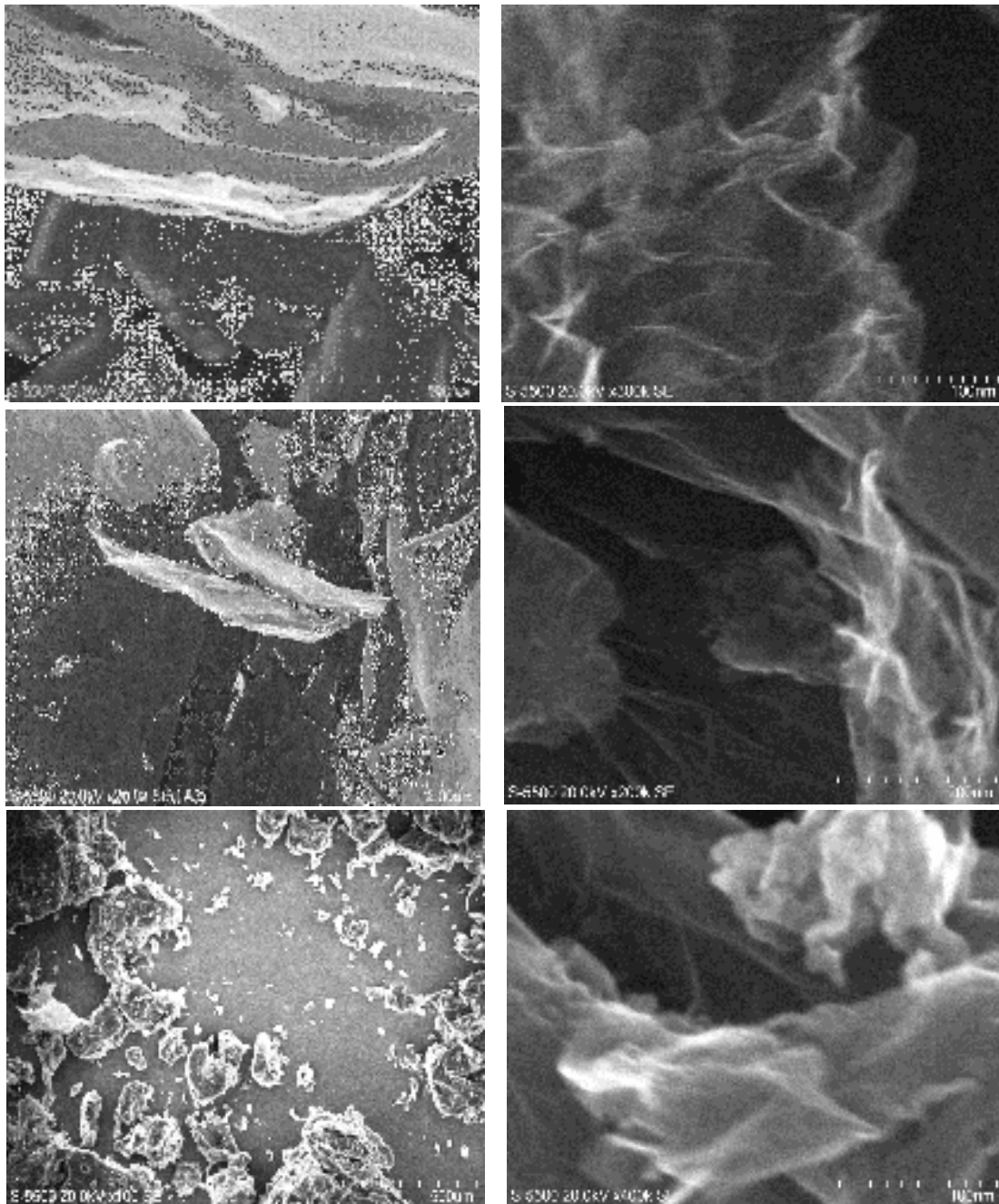


Figura 4.5 Micrografía SEM grafeno en polvo.

Los materiales gráfenicos reducidos se distinguen por la aparición de estructuras finas y arrugadas en forma de escamas separadas, dependiendo el procedimiento de producción, el grafeno puede obtenerse como una mezcla de monocapas, bicapas y multicapas (3 a 10 capas) en forma de



hojuelas u hojas planas [72]. En la figura 4.5 también se aprecia lo que es denominado grafeno corrugado que en trabajos como en el de Li Xiao y colaboradores [65] ha permitido una generación de corriente alta de  $3.3\text{W/m}^3$  comparada con  $0.3\text{W/m}^3$  obtenida en las mismas condiciones del experimento, concluyen que es debido a una mayor área superficial del grafeno corrugado y la alta conductividad del mismo.

#### 4.2.2 Análisis de difracción de rayos X

Los análisis de Difracción de rayos-X se realizaron en un Difractómetro Rigaku Ultima IV, obteniéndose un sistema cristalino Trigonal con un tamaño de cristal de  $3\text{nm}$  y  $26.03^\circ 2\theta$  (ver figura 4.6) que corresponde a un espaciamiento de  $3.38\text{Å}$  y que puede ser atribuido al alto grado de exfoliación [73].

Este análisis mostró en el Difractograma que no aparece un pico entre  $10$  y  $20$  en  $2\theta$ , esto indicaría la presencia de óxido de grafeno debido a una incompleta reducción del mismo. El Grafito tiene un pico característico en  $26.37$ , cuando se acerca el XRD del grafeno al del grafito quiere decir que estructuralmente es ordenado y se está acercando a las estructuras del mismo, es decir, esta señal indica la presencia de una estructura hexagonal típica en materiales carbonosos.

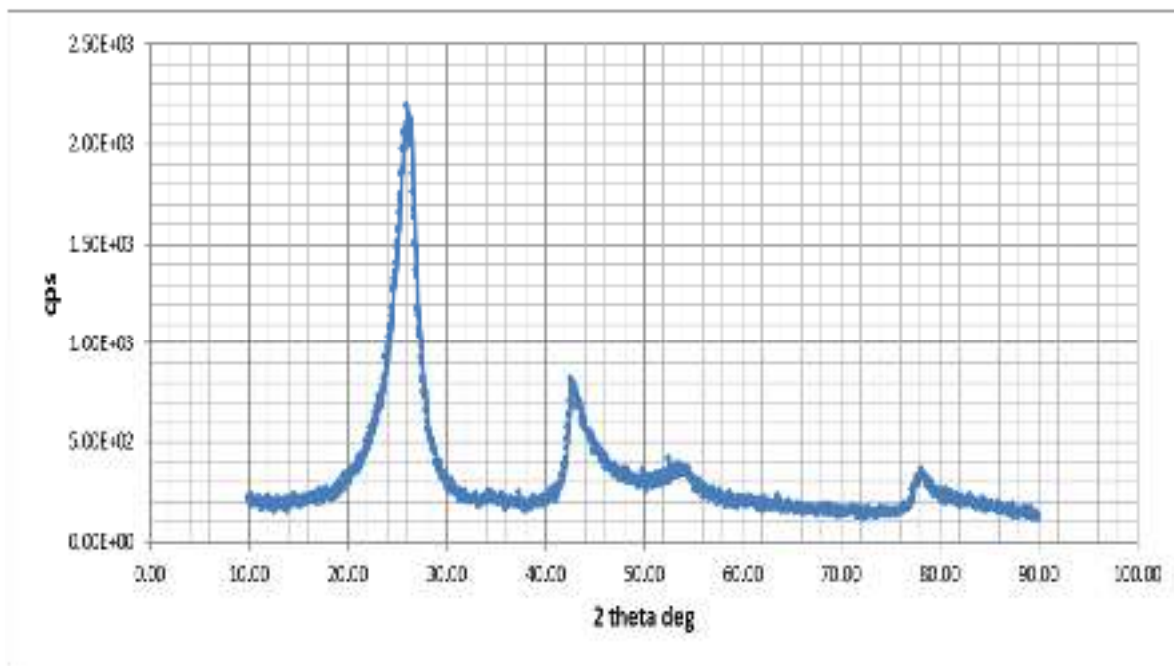


Figura 4.6 Difractograma de muestra de grafeno.

#### 4.2.3 Área superficial específica

El análisis del área superficial específica se realizó en un baño de nitrógeno líquido y nitrógeno gaseoso (Ultra alta pureza 99.999 %INFRA) como adsorbato, previamente las muestras fueron desgasificadas a  $120^\circ\text{C}$  durante 16 horas. Los resultados se muestran en la figura 4.7.

La medición de adsorción/desorción de Nitrógeno presenta una isoterma tipo V de acuerdo a la clasificación de la IUPAC 2015 [74], presenta un fenómeno de histéresis a altas presiones  $P/P_0$ , lo que indica una estructura mesoporosa del grafeno. El área superficial específica obtenida con la ecuación BET es de  $910.482 \text{ m}^2/\text{g}$  y con la ecuación BJH es de  $432.38 \text{ m}^2/\text{g}$ .

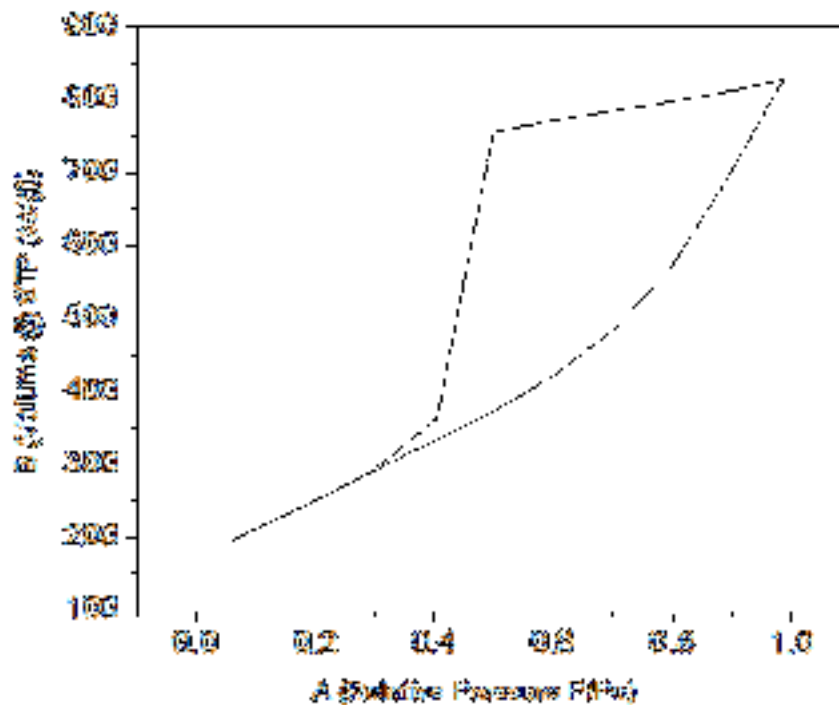


Figura 4.7 Isoterma adsorción/desorción de  $\text{N}_2$ .

### 4.3 Caracterización de soporte

Se trabajó en la búsqueda de un soporte para albergar grafeno a utilizar en el ánodo, que pudiese manipular para generar la geometría a utilizar; se busca plantear una nueva forma de elaborar un electrodo utilizando materiales ya existentes, de fácil acceso que no requieran de equipo costoso o condiciones como temperatura y reactivos peligrosos para su fabricación.

Se adquieren dos materiales posibles para el soporte, uno de ellos es “ QUÍMICA TF”, una soldadura en frío hecha a base de aluminio en pasta (> 4%) con la cual se pretende tener la facilidad de moldear los electrodos de formas definidas a temperatura ambiente y que por el aluminio tuvieran la conductividad adecuada para favorecer la transferencia de electrones del grafeno al soporte, sin embargo al tratar de tomar mediciones mediante el método basado en la ley de Ohm, se observa que el material es resistivo y no se pueden tomar lecturas de conductividad.

El segundo material adquirido es un pegamento conductor hecho a base de carbón y agua llamado Wireglue™ de Anders Products (USA) (ver figura 4.8) con una densidad de  $0.6 \text{ g}/\text{cm}^3$  con un rango de temperatura de servicio de  $-29$  a  $93^\circ\text{C}$ , el cual es usado para sustituir la soldadura en circuitos electrónicos de corriente directa y alterna el cual en su publicidad menciona que también

ha sido utilizado en el acoplamiento de celdas solares y que no presenta efectos tóxicos dada su formulación, con resistencia a la corrosión y de fácil aplicación.



Figura 4.8 Publicidad de pegamento wireglue.

### 4.3.1 SEM WIREGLUE

La micrografía del pegamento conductor se ve oscura dada la conductividad del pegamento, se aprecian sin embargo pequeñas partículas de carbono, las más grandes de alrededor de los 0.59µm.

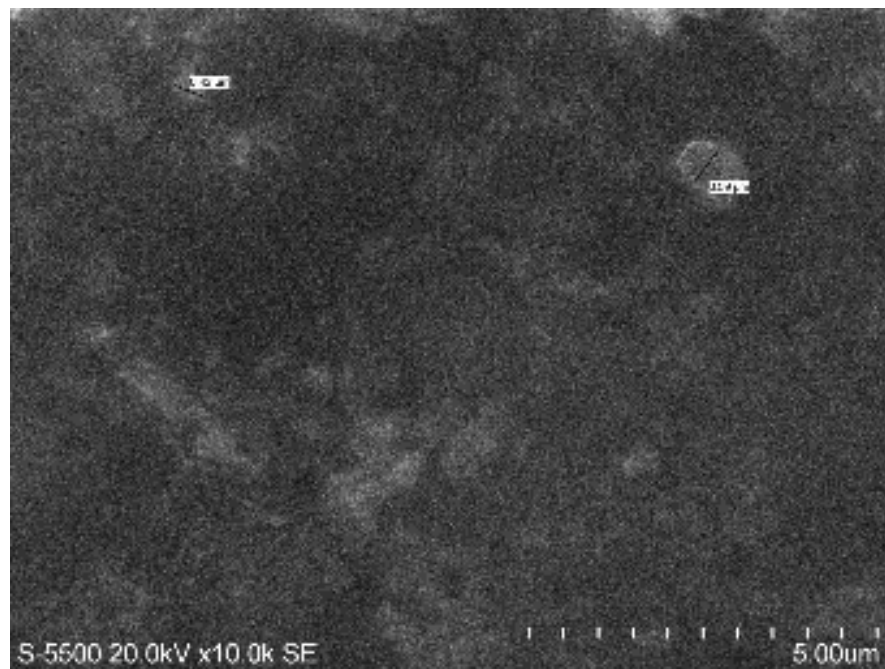


Figura 4.9 Micrografía SEM “Wireglue”.

### 4.3.2 Determinación de conductividad y estabilidad electroquímica

Para el estudio como soporte de Wireglue se utilizó el método basado en la ley de Ohm el cual consiste en la determinación de la resistividad del material que se ensaya. La figura 4.10 presenta un esquema del montaje experimental, y que consta de fuente de alimentación, amperímetro y polímetro.

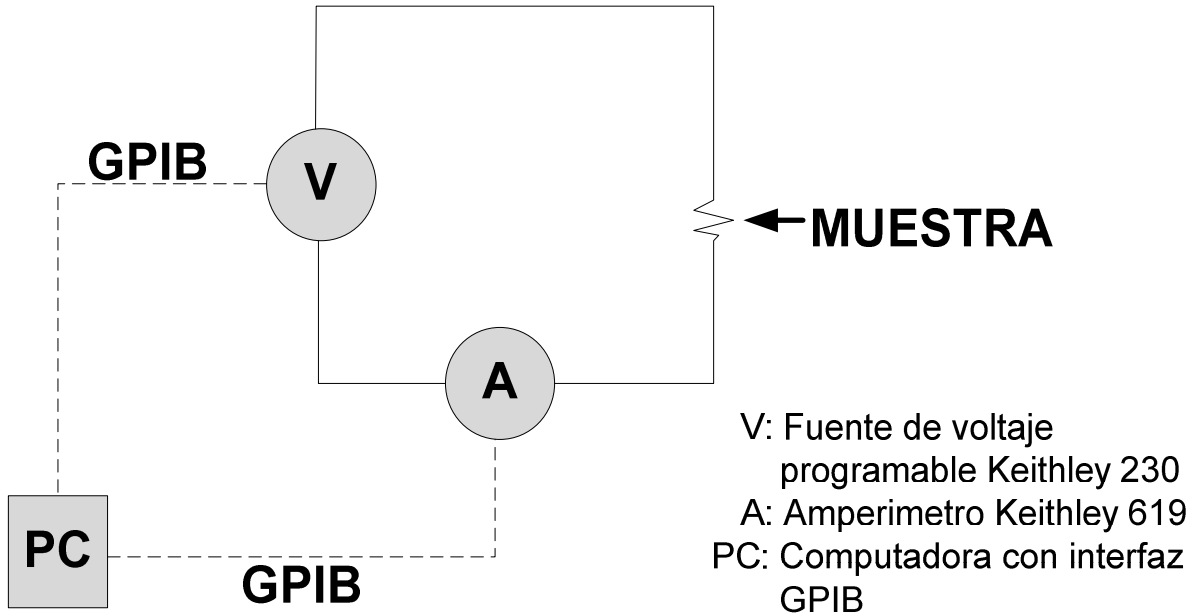


Figura 4.10 Equipo para la determinación de resistividades por procedimiento de Ohm.

Las probetas trabajadas fueron planas, por razones de precisión y sensibilidad del instrumental la longitud es mayor que la sección por la que pasa el flujo eléctrico; se realizó la medición del pegamento tal como se recibió, posteriormente fueron realizadas mezclas de grafeno-wireglue en tres diferentes proporciones, dichas mezclas fueron dispersadas (2.4cm de longitud) en vidrio Corning (2.5cm de ancho) ver figura 4.11.



Figura 4.11 Preparación de muestra para determinación de conductividad.

Se determinó la resistencia mediante el análisis de los datos de voltaje-corriente obtenidos, posteriormente se calculó la resistividad utilizando el espesor, largo, ancho y el área perpendicular al flujo de corriente de la mezcla dispersada en el vidrio Corning y por último se obtuvo la conductividad del compuesto grafeno-wireglue.

La tabla 4.3 muestra el detalle de las mezclas preparadas, así como el espesor de probeta, área transversal de flujo de corriente, y longitud de las probetas dispersadas en vidrio Corning.

Tabla 4.3 Datos de probetas.

Probeta	Wireglue (g)	Grafeno (mg)	Espesor de probeta (m)	Área transversal de flujo (m <sup>2</sup> )	Longitud de probeta (m)
1	2	-	$2.1 \times 10^{-4}$	$5.25 \times 10^{-6}$	0.024
2	2	100	$2.1 \times 10^{-4}$	$5.25 \times 10^{-6}$	0.024
3	2	137	$3.1 \times 10^{-4}$	$7.75 \times 10^{-6}$	0.024
4	2	198	$3.1 \times 10^{-4}$	$7.75 \times 10^{-6}$	0.024

Se puede observar en la tabla que al agregar más grafeno al pegamento conductor el espesor de la probeta no pudo mantenerse debido a la aglomeración del grafeno. La figura 4.12 se muestran los datos (probeta 4) de voltaje en volts (eje x) – corriente en amperes (eje y), así mismo se muestra sobrepuesto el ajuste realizado por mínimos cuadrados, el coeficiente de  $R^2$  fue de 1.

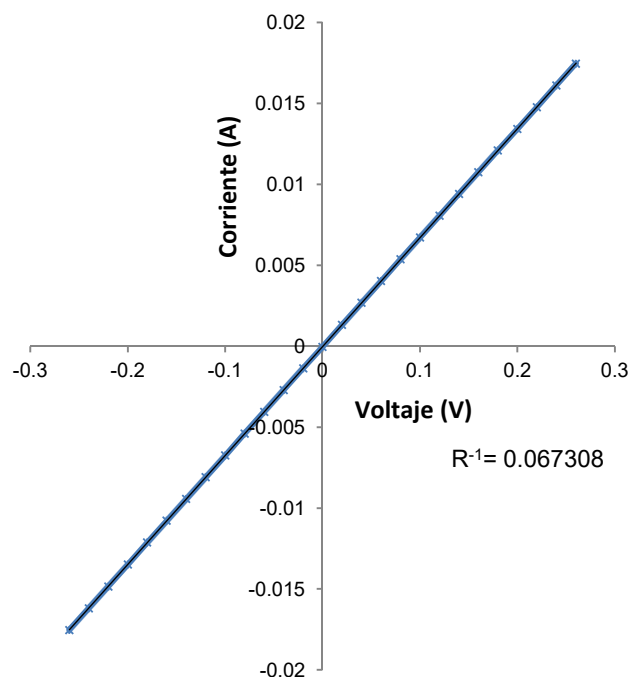


Figura 4.12 Gráfico datos voltaje vs corriente de probeta 4.

Se puede observar que el comportamiento es óhmico dado el comportamiento lineal, por lo que el inverso de la pendiente es la resistencia. La pendiente obtenida fue de 0.00176112.

La tabla 4.4 muestra los valores obtenidos de todas las mediciones realizadas, el coeficiente de regresión, la resistividad en base a la geometría de las probetas y la conductividad determinada. Se puede decir en este análisis que a mayor pendiente menor resistividad y por ende mayor conductividad obtenida. Como se ha mencionado en otros trabajos [69], los nanomateriales mejoran las propiedades en los materiales, en este caso, la conductividad del pegamento se modificó de 8.051 a 208.397  $\text{ohm}^{-1} \text{m}^{-1}$ , con una cantidad de 298mg. Dos probetas (3 y 4) mostraron las conductividades más altas, por lo que se realizó un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas. Es importante recalcar que esta mezcla propuesta no ha sido evaluada, de ahí su estudio y se espera pueda ser una alternativa diferente a los ánodos comúnmente usados. También se espera sea una propuesta nueva en la elaboración de electrodos dado que se evitaría el uso de solventes o técnicas más sofisticadas y costosas.

Tabla 4.4 Resultados obtenidos de conductividad en probetas.

Probeta	Pendiente	Coefficiente de regresión	Resistencia (Ohm)	Resistividad (ohm m)	Conductividad ( $\text{ohm}^{-1} \text{m}^{-1}$ )
1	0.00176112	0.9999	567.8205	0.124	8.051
2	0.00781253	0.9999	127.9951	0.028	35.716
3	0.0644564	0.9999	15.4335	$5.008 \times 10^{-3}$	200.698
4	0.0673084	0.9999	14.857	$4.799 \times 10^{-3}$	208.397

Se puede observar que la conductividad de wireglue fue mejorada al agregar grafeno en polvo. Las probetas 3 y 4 tuvieron una conductividad mucho mayor a las otras dos.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) entre las probetas 3 y 4 para determinar si existen diferencias significativas entre las medias, la siguiente tabla muestra el análisis.

Tabla 4.5 ANOVA de Probetas 3 Y 4

FUENTE VAR	SUM CUAD	GL	CUAD MED	F0	Fprueba
TRATAMIENTOS	96.4645607	1	96.4645607	584.011935	7.70864742
ERROR	0.66070267	4	0.16517567		
TOTAL	97.1252633	5			

El ANOVA muestra que si existe diferencia significativa entre las probetas 3 y 4 con un error del 5% (alfa), por lo que se pretende utilizar la probeta 4 como soporte carbonoso para la elaboración del ánodo de la celda microbiana.

Para analizar la estabilidad electroquímica se utilizó la reacción reversible del Ferrocianuro de Potasio (ver ecuación electroquímica 4.1) en disolución acuosa de cloruro de potasio (sistema 10 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$ , 1M KCl), mediante voltamperometría cíclica. El barrido se inicia en dirección negativa respecto al OCP (0.33 V vs. Ag/AgCl /KCl saturado)).



El electrodo de trabajo (ver figura 4.13) de 5mm de diámetro interior fue en primera instancia el composito grafeno (98 mg)/wireglue (2g). Se puede apreciar que el alambre acoplado está recubierto con un tubo de vidrio para evitar la corrosión del mismo en la fase de operación.



Figura 4.13 Electrodo de trabajo grafeno/wireglue.

En la figura 4.14 se muestra el voltamperograma obtenido a una velocidad de barrido de 0.1V/s. Esto se realizó en un potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT302N.

Se puede observar en el voltamperograma que el soporte no favorece el proceso faradaico, apreciándose un comportamiento más capacitivo dada la forma del voltamperograma, aunque si

se aprecia la formación de los picos de oxidación y reducción característicos de la reacción electroquímica Ferrocianuro de Potasio.

Dado este comportamiento capacitivo se decide modificar el soporte pensando en mejorar la conductividad, estabilidad electroquímica y omitiendo el grafeno en el soporte, evitando el consumo del mismo, mejor será añadido en el área de contacto con la biopelícula donde cumple la función de albergar a los microorganismos y permitir recibir los electrones eficientemente mejorándose su conductividad.

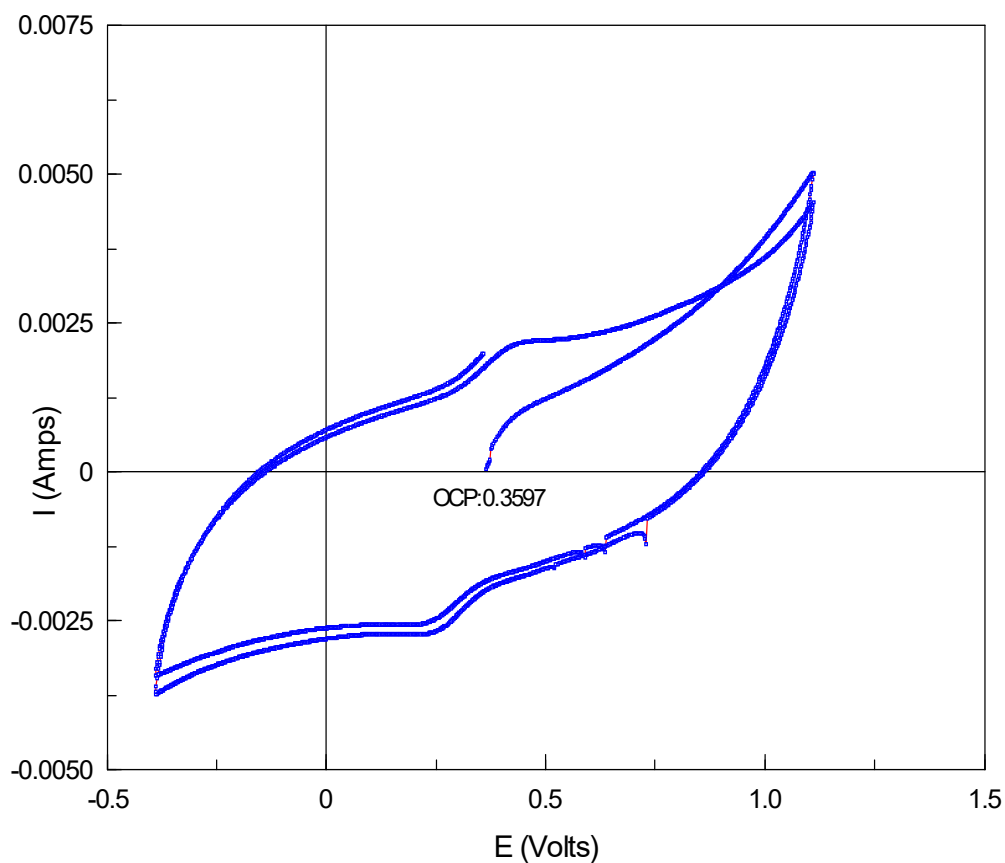


Figura 4.14 Voltamperograma del par  $[\text{Fe}(\text{CN}_6^{3-})]/[\text{Fe}(\text{CN}_6^{4-})]$  con electrodo de trabajo grafeno/wireglue.

#### 4.3.3 Modificación de soporte (conductividad y estabilidad electroquímica)

La modificación del pegamento consistió en preparar un compuesto 1:1 de wireglue/pintura de plata marca DuPont. Dada la baja resistencia de la mezcla formada se tuvo que utilizar el método de Kelvin o de cuatro puntos. Dos de las puntas se utilizaron para la fuente de voltaje programable



Keithley 2400 y las otras dos se utilizaron para medir el voltaje, la figura 4.15 lo muestra esquemáticamente.

El uso de las cuatro puntas elimina los errores de medición debido a la resistencia de la punta, la resistencia de propagación en cada contacto, y la resistencia de contacto entre cada punta de metal y la del material semiconductor. Para ello se utiliza las cuatro puntas igualmente espaciadas dentro del contacto con el material de resistencia desconocida.

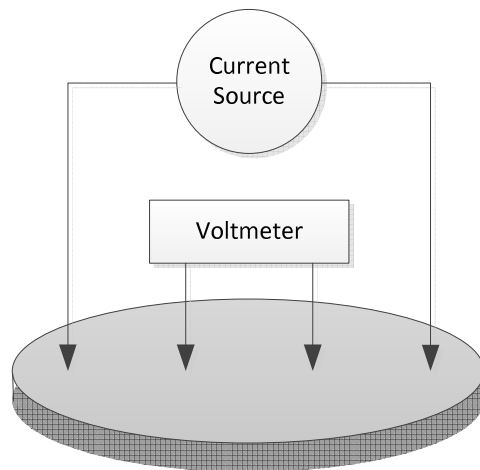


Figura 4.15 Arreglo de puntas en método Kelvin.

La tabla 4.6 muestra el detalle de los experimentos, espesor de probeta, área transversal de flujo de corriente, y longitud de las probetas dispersadas en vidrio Corning entre otras.

Tabla 4.6 Resultados comparativos de conductividades obtenidas.

Probeta	Wireglue	Pintura de plata	Espesor de probeta (m)	Área transversal de flujo (m <sup>2</sup> )	Longitud de probeta (m)	Resistencia (Ohm)	Resistividad (ohm m)	Conductividad (ohm <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> )
1	si	no	2.1 x 10 <sup>-4</sup>	5.25 x 10 <sup>-6</sup>	0.024	567.8205	0.124	8.051
2	si	no	3.1 x 10 <sup>-4</sup>	7.75 x 10 <sup>-6</sup>	0.024	14.857	4.799 X 10 <sup>-3</sup>	208.397
3	si	si	0.000365	-	0.024	0.0039	0.000645	1550.387597

Se puede observar en la tabla que la conductividad del pegamento wireglue fue mejorada con la pintura de plata, formando un composito estable y al cual se le agrego el grafeno en la cara encargada de albergar a los microorganismos a utilizar en la celda microbiana. Esta modificación permitió no utilizar el grafeno en el soporte.

Por otra parte si son comparados los datos de conductividad del wireglue y del wireglue/pintura de plata con datos de conductividad de polímeros conductores como es el caso de la polianilina (PANI) con un valor de  $0.33 \text{ ohm}^{-1} \text{ m}^{-1}$  [75], que son de los más usados actualmente en las celdas de combustible microbiana, la diferencia es apreciable.

En la figura 4.16 se aprecia la SEM realizada al soporte impregnado con grafeno. Estas formaciones son reportadas como grafenos corrugados [69] y han permitido mejorar el desempeño en las celdas de combustible microbianas al incrementar el área superficial. El soporte puede observarse homogéneo al fondo.

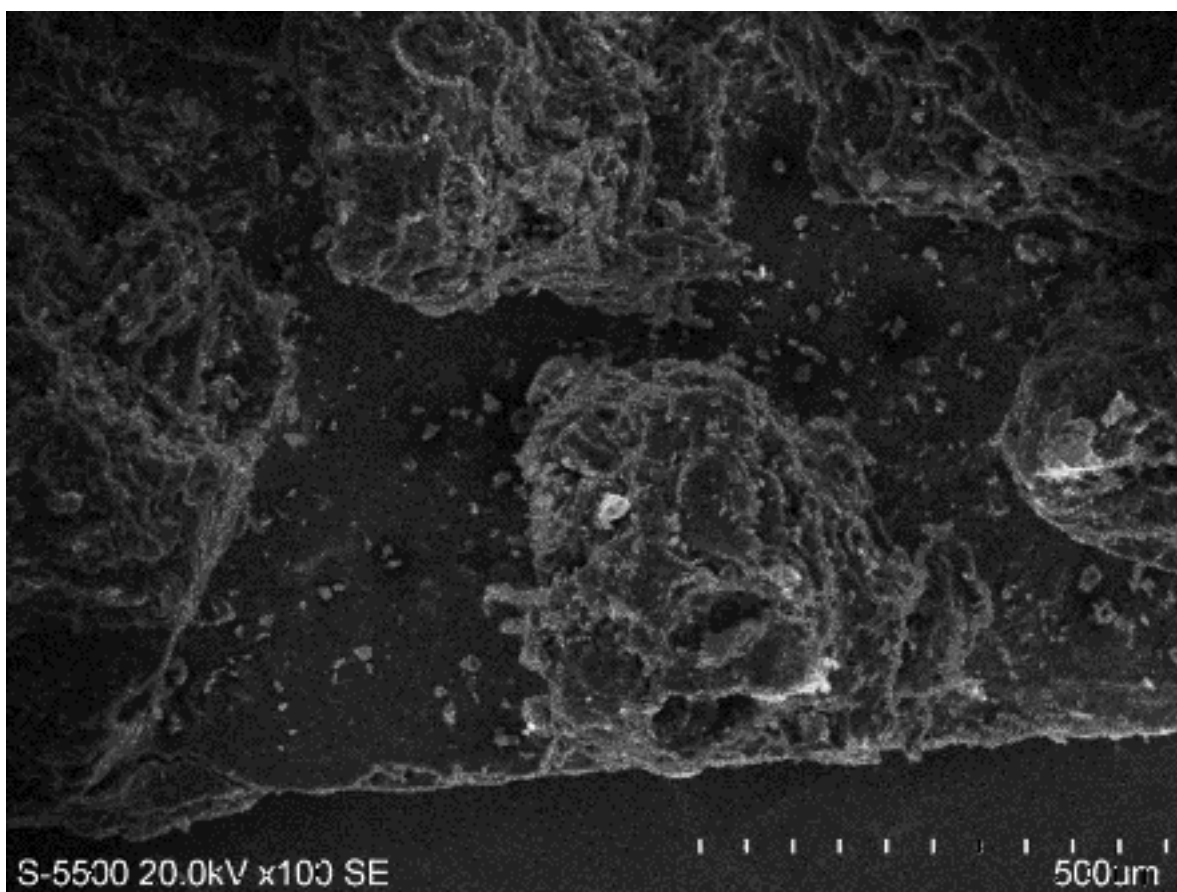


Figura 4.16 Micrografía SEM grafeno en polvo/soporte.

En la figura 4.17 se muestra el voltamperograma obtenidos a una velocidad de barrido de  $0.1 \text{ V/s}$  para el soporte.

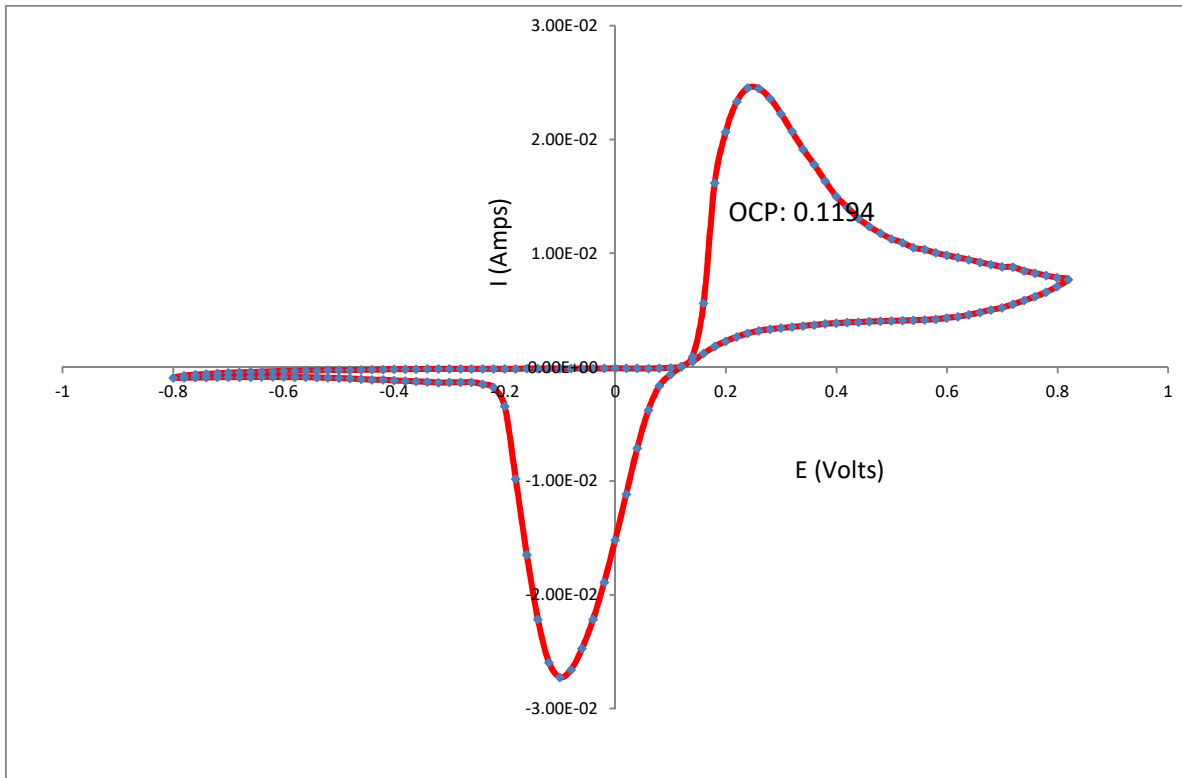


Figura 4.17 Voltamperograma del par  $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]/[\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$  con electrodo de trabajo wireglue/pintura de plata.

Se puede observar un comportamiento faradaico (transferencia de carga) donde los picos de oxidación y reducción se muestran claramente, lo que indica que el soporte es adecuado para su uso, complementando el análisis de conductividad realizado por el método de kelvin. Al realizar las mediciones se determinó el potencial a circuito abierto (OCP por sus siglas en inglés), de donde se iniciaba la voltamperometría. Dichos valores se encuentran en la gráfica correspondiente.

En la figura 4.18 se aprecia un corrimiento del potencial de reducción de -0.1 a -0.06 y de 0.2394 a 0.2375 en el pico anódico. Pero de igual manera se observa bien definida la respuesta a la reacción electroquímica de ferrocianuro, concluyendo que el electrodo es apto para continuar con las pruebas y verificar su adecuado comportamiento como ánodo en una celda de combustible microbiana.

Para verificar que los electrodos tenían un adecuado comportamiento frente a variaciones de pH, fueron sumergidos en soluciones amortiguadoras de pH 4 y 9 a temperatura de 40°C. No se observó modificación, ni desprendimiento del soporte o del grafeno impregnado. En realidad en las pruebas de la CCM no se permitirán variaciones pH tan bruscas, dado que eso significaría afectar a la biopelícula.

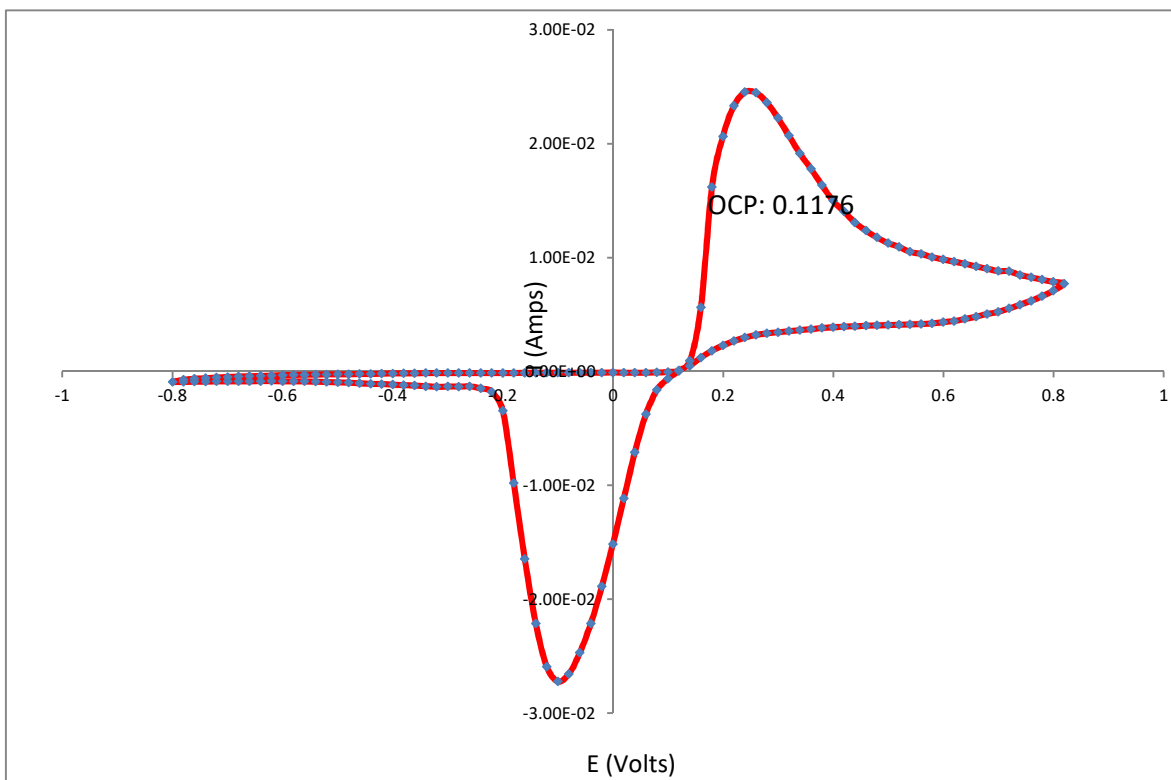


Figura 4.18 Voltamperograma del par  $[\text{Fe}(\text{CN}_6^{3-})]/[\text{Fe}(\text{CN}_6^{4-})]$  con electrodo de trabajo wireglue/pintura de plata/grafeno.

En los voltamperogramas antes mostrados puede observarse que los picos de corriente catódica y anódica tienen casi la misma magnitud, mostrando que la reacción del par ferricianuro/ferrocianuro es reversible. Los voltajes son similares en ambas gráficas y las pequeñas diferencias se deben a las características de los electrodos de trabajo.

#### 4.3.2 Determinación de área electroactiva

Para determinar el área electroactiva fue necesario determinar primero el coeficiente de difusión de ferrocianuro de potasio ( $1 \times 10^{-6}$  mol /  $\text{cm}^3$ ) mediante el uso de una celda electroquímica construida a partir de tres electrodos: electrodo de trabajo (área de platino /  $0.031416 \text{ cm}^2$ ), electrodo de referencia (Ag/ AgCl / KCl saturado) y un electrodo auxiliar (varilla de grafito). Primero se realizó una voltametría cíclica en una ventana de potencial de -0,3 a 0,9 V comenzando en el potencial de circuito abierto. Luego se realizó una cronoamperometría de la siguiente manera: 5s con potencial de circuito abierto, 30s para la oxidación comenzando a 0.3V y 30s para la reducción comenzando a -0.3V. Esto se repitió con un electrodo de trabajo (grafeno / wireglue / pintura de plata), un electrodo de referencia (Ag / AgCl / KCl saturado) y un electrodo auxiliar (varilla de grafito). Para la determinación electroquímica se usó la reacción reversible de ferrocianuro de potasio y una solución de cloruro de potasio (electrolito de soporte). La reacción reversible utilizada fue la mostrada en la ecuación 4.1.

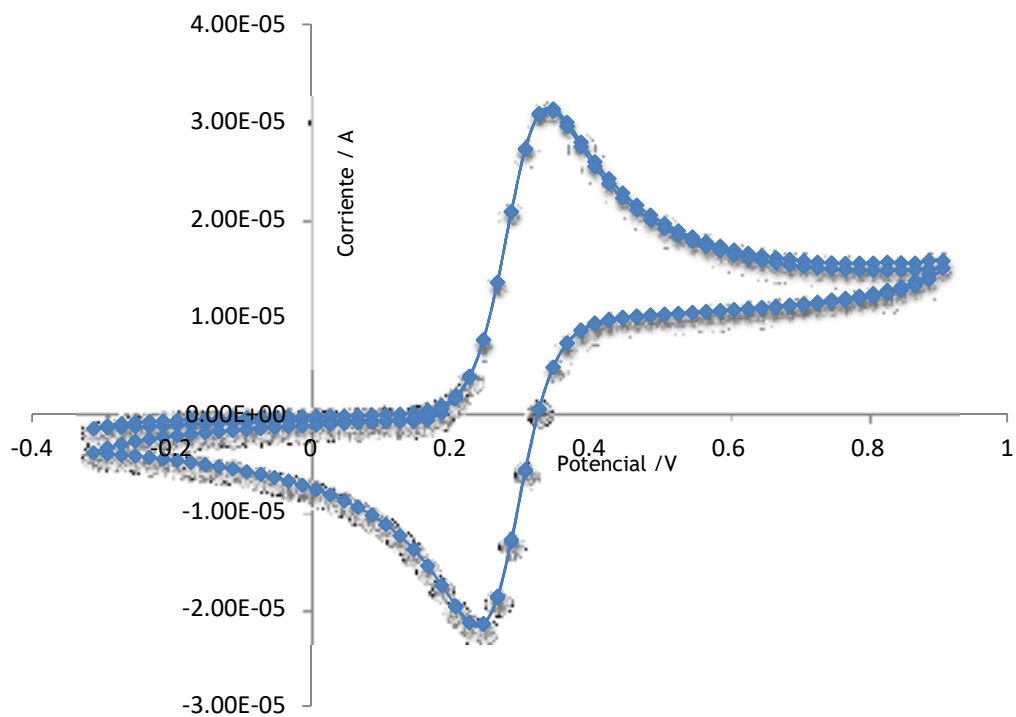


Figura 4.19 Voltamperograma del par  $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]/[\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$ .

La Fig. 4.20 muestra el ajuste de los datos a la ecuación de Cottrell, el coeficiente de difusión de ferrocianuro de potasio y la superficie electroactiva para el electrodo preparado.

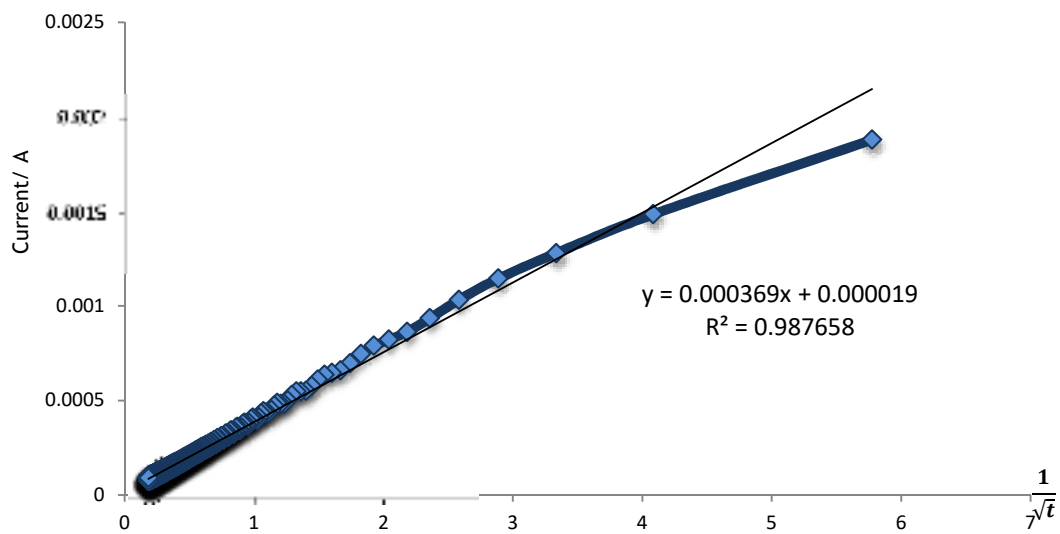


Figura 4.20 Ajuste de los datos a la ecuación de Cottrell.

La Tabla que se muestra a continuación da los resultados obtenidos en la determinación del área electroactiva para el electrodo de grafeno / wireglue / pintura plata con el análisis de ecuación de Cottrell.

Tabla 4.7 Resultados obtenidos para área electroactiva.

Datos	
n	1.0000000
F	96484.5561000
A	0.3555720
D	0.0003634
c	0.0000010

A partir de los datos obtenidos en la cronoamperometría junto con el uso de la ecuación de Cottrell, se permitió la determinación de la superficie electroactiva del electrodo de grafeno / wireglue / silver preparado (0,3555 cm<sup>2</sup>). Este trabajo es parte de la caracterización del electrodo.

#### 4.4 Electrodo de trabajo en celda de combustible microbiana

##### 4.4.1 Adquisición de datos para monitoreo de celda

Para la adquisición de datos de la celda de combustible desarrollada se adquirió Duinomite que es una computadora Maximite compatible con Basic ver figura 4.21, con características de pin out y un layout similar a Arduino. La tarjeta DuinoMite permite programar en lenguaje BASIC, posee una interfaz VGA y PS/2 para conectar un teclado de manera que se pueda desarrollar y escribir código en BASIC sin la necesidad de usar un computador. Luego se puede guardar ese código en una tarjeta de memoria SD y ejecutarlo al inicio de la misma mediante un código principal Autoexec.bas. El programa elaborado permite que tomen medidas cada 30 segundos tomando lectura de la diferencia de potencial en Volts 200 veces y entregando el promedio de estas 200 mediciones.

```

Drive "b:"
nombre$="datos3.dat"
Open nombre$ For append As #1
SetPin 1,ain
SetPin 2,ain
SetPin 3,ain
periodo=30 'periodo de medicion en segundos
ttotal=500 ' tiempo de monitoreo en horas
n=ttotal*3600/periodo' numero de mediciones
xmin=0 : xmax=ttotal : ymin=0 : ymax=3.3 ' escala para graficar
pxi=40 : pxf=90 : pyi=30 : pyf=90 ' seccion de pantalla ( en %) para graficar
veces=200 'cada medicion es el promedio de veces mediciones
xx=MM.HRes/100 : yy=MM.VRes/100
Cls
' Programa Poncho2.bas

```

```

Print "comienza la medicion ",ttotal, " horas"
box
For k=1 To n
s1=0 : s2=0 : s3=0
For j=1 To veces
s1=s1+Pin(1) : s2=s2+Pin(2) : s3=s3+Pin(3)
Next j
y1=s1/veces : y2=s2/veces : y3=s3/veces
x=k*periodo/3600
y4=y2
Print @(0,400) " "
Print @(0,400) k,x,y1,y2
Print #1, k,x,y1,y2
Close #1
Open nombre$ For append As #1
If k=1 Then
Line (u(x),v(y1))-(u(x),v(y1))
Else
Line (u(xa),v(ya))-(u(x),v(y1))
EndIf
xa=x : ya=y1
If k=1 Then
Line (u(x),v(y4))-(u(x),v(y4))
Else
Line (u(xa),v(yb))-(u(x),v(y4))
EndIf
xa=x : yb=y4
Pause periodo*1000
Next k
Close #1
End
Sub box
'xx=MM.HRes/100 : yy=MM.VRes/100
Line (pxi*xx,pyf*yy)-(pxf*xx,pyi*yy),B
Line (pxi*xx,(100-pyi)*yy)-(pxi*xx,(100-pyi)*yy)
Line -(pxi*xx,(100-pyf)*yy)
Line -(pxf*xx,(100-pyf)*yy)
Line -(pxf*xx,(100-pyi)*yy)
Line -(pxi*xx,(100-pyi)*yy)
End Sub
Function u(x)
u=((pxf-pxi)*(x-xmin)/(xmax-xmin)+pxi)*xx
End Function
Function v(x)
v=((pyi-pyf)*(x-ymin)/(ymax-ymin)+100-pyi)*yy
End Function

```

Especificaciones de Hardware de Duinomite son:

- PIC32MX795F512H processor running at 80Mhz with 128KB RAM and 512KB Flash
- Linear power regulator, require EXACTLY 5V to the DC POWER JACK
- USB Device DuinoMite-Mini can take power from USB also, there is 3 way jumper which selects which source is used the DC POWER JACK or the USB
- mini SD card socket
- UEXT connector, GPIO connector, PS2 Keyboard connector, VGA connector, Commercial temperature operation -0+70C, Noise immunity, ICSP programming connector for programming and debugging, 32,768 KHz low frequency crystal allow implementation of RTC and low power modes.

## DUINOMITE-MINI



Figura 4.21 Minicomputadora Duinomite para adquisición de datos.

El sistema de monitoreo permitió el monitoreo en línea de la celda de combustible microbiana de forma precisa y segura dado que se toma la lectura 200 veces (escala  $\mu$ ) y las promedia cada 30 segundos.

### **4.4.2 Monitoreo celda de combustible microbiana**

Los biocatalizadores empleados en la generación de energía se obtuvieron a partir de un inóculo mixto entérico previamente estabilizado en un reactor anaerobio de manto de lodos anaerobio, ubicado en el IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua), el lodo se mantiene mediante una fuente de carbono de acetato el cual es usado como una fuente no fermentable [58]. El hecho



de trabajar con el manto de lodos anaerobios es la facilidad de obtenerlos en plantas de tratamientos y que contienen una variedad de comunidades bacterianas que contienen cepas electroquímicamente activas [76].

Se realizó la determinación de DQO mediante la norma NMX-AA-030-SCFI-2001 [77] método espectrofotométrico, análisis por triplicado. Para la determinación de la DQO del agua sintética utilizada se determinó la curva la cual se construyó utilizando diluciones de la solución patrón de biftalato de potasio (500mg O<sub>2</sub>/l, DQO) a un volumen de 100ml con agua desionizada. La siguiente tabla muestra los 10 puntos utilizados para generar la curva de calibración. Los análisis se llevaron a cabo por triplicado para cada punto. La tabla siguiente muestra los datos obtenidos y la figura 4.22 muestra la regresión lineal realizada.

Tabla 4.8 Datos de absorbancia para curva DQO

DQO	Absorbancia (421 nm)			Desviación estándar
	1	2	3	
10	0.0069	0.0068	0.0069	0.00006
20	0.011	0.0105	0.01	0.00050
30	0.0151	0.015	0.0149	0.00010
40	0.0212	0.0231	0.0191	0.00200
50	0.023	0.022	0.021	0.00100
60	0.0272	0.0273	0.0273	0.00006
70	0.031	0.0321	0.0319	0.00059
80	0.0349	0.035	0.0351	0.00010
90	0.0396	0.0391	0.0392	0.00026
100	0.043	0.042	0.0401	0.00147
200	0.086	0.086	0.084	0.00115
300	0.1152	0.1144	0.1101	0.00274
500	0.2071	0.2069	0.207	0.00010

El resultado obtenido para el ARS por triplicado es de 90.2538, 90.2508 y 90.2530, el promedio fue de 90.2525 mg de DQO. La solución se maneja a temperatura ambiente.

En la experimentación orientada a la determinación de curva de polarización, que permita definir las prestaciones de la celda con el uso de un ánodo formado por un compuesto wireglue/pintura de plata/grafeno en polvo de 5mm de diámetro ( $1.963 \times 10^{-5} \text{ m}^2$ ). Se llevó a cabo la inoculación del electrodo polvo de grafeno/wireglue/pintura de plata de 5mm de diámetro usando una técnica pasiva [78], introduciendo en solución el ánodo con agua residual sintética y lodo anaerobio durante 10 días en ausencia de oxígeno, posteriormente se puso en marcha una celda de combustible microbiana, como anolito se trabajó el agua residual sintética descrita anteriormente y se introdujo el electrodo con la biopelícula formada, se operó con N<sub>2</sub> para desplazar el O<sub>2</sub> presente previo al cierre del ánodo.

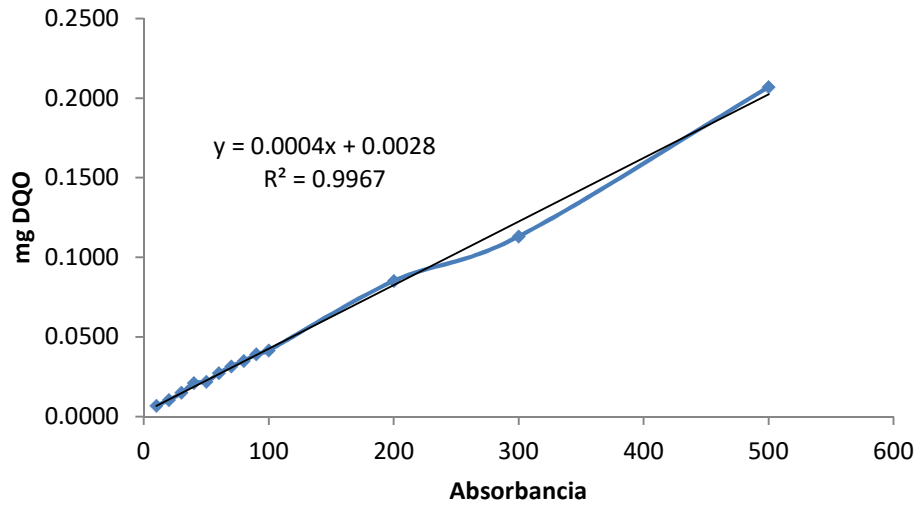


Figura 4.22 Curva de calibración DQO

Como cátodo se empleó una barra de grafito. Para realizar la curva de polarización se dejó operar a circuito abierto durante 2 días para permitir la aclimatación de los microorganismos. Se graficaron los voltajes registrados cada 2 minutos cuando la resistencia externa se varió desde  $5000 \Omega$  hasta  $3700 \Omega$ , pasando por varias resistencias externas intermedias. La siguiente gráfica muestra los resultados obtenidos de los promedios de 5 curvas trazadas.

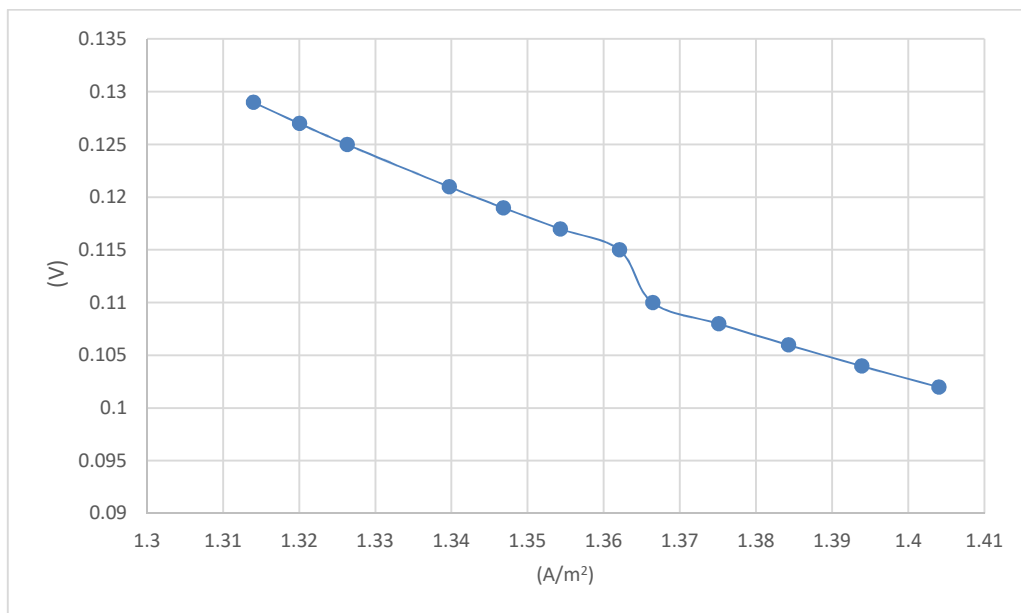


Figura 4.23 Curva de polarización.

La tensión a circuito abierto fue de 218 mV, la resistencia se trabajó en ese intervalo debido a que si bajaba más la resistencia, la tensión tendía a cero, es decir un fenómeno conocido como sobrepaso, el cual es una disminución no esperada y repentina de la corriente eléctrica. Al emplearse resistencias externas pequeñas, la demanda de electrones llega a exceder la velocidad con la cual los electrones pueden ser suministrados por los microorganismos (debido a que el circuito se vuelve más conductivo) y como consecuencia el anolito carece de electrones e iones. Otro análisis [79] de la resistencia anódica, concluye que el sobrepaso de voltaje se debe a la resistencia de los microorganismos ánodo-respiratorios al empleo de sustrato y a la resistencia a la transferencia de electrones hacia el ánodo. Para realizar el monitoreo de la celda de combustible microbiana y determinar la eficiencia Coulombica se trabaja a una resistencia de 4000  $\Omega$  y evitar el fenómeno de sobrepaso.

La figura 4.24 muestra el monitoreo durante 500 horas.

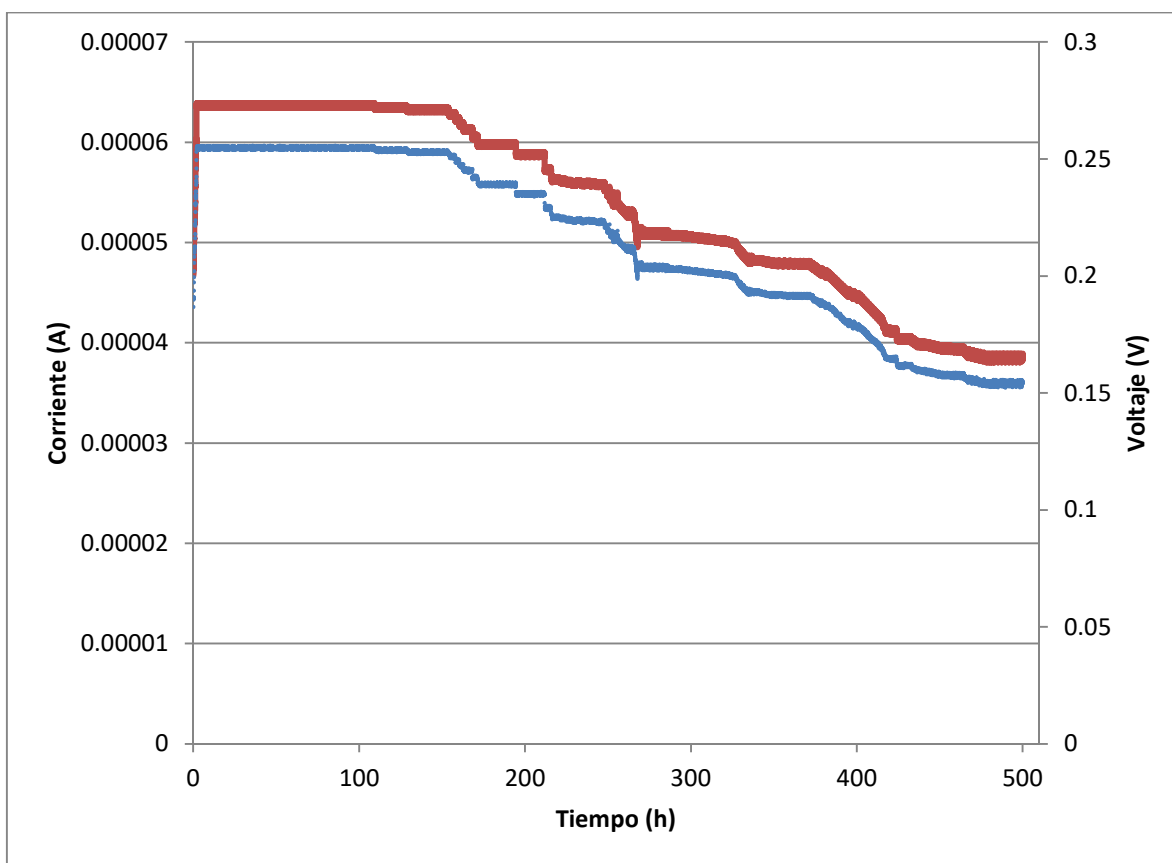


Figura 4.24 Monitoreo Celda de Combustible

Se obtuvo un valor de 255mV, manteniendo estable la lectura alrededor de este valor por 4 días, posteriormente empezó a descender el valor de manera suave pero sostenida, con lapsos cortos de un día estables. Para el valor máximo se tiene una potencia normalizada a el área del ánodo

( $1.963 \times 10^{-5} \text{ m}^2$ ) de  $0.83 \text{ W/m}^2$ . Cabe destacar que los valores reportados para los voltajes medidos se encuentran en el rango de 0.3 a 0.7 V [80]. Como una forma de comparar los resultados obtenidos se muestra la figura 4.25 del artículo “Microbial fuel cell as new technology for bioelectricity generation: A review”

**Table 1** Effect of different anodes on MFC performances.

Substrate	Anode	Bacteria	System configuration	Maximum power density ( $\text{mW/m}^2$ )	Refs.
Glucose	Carbon paper	<i>Geobacter</i> SPP (Firmicutes)	Two-chamber	$40.3 \pm 3.9$	[50,41]
Glucose	Graphite	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Two-chamber	16	[19]
Acetate	Carbon paper	<i>G. sulfurreducens</i>	Two-chamber	$48.4 \pm 0.3$	[50,41]
Lactate	Carbon paper	<i>Geobacter</i> SPP	Two-chamber	$52 \pm 4.7$	[50,41]
Ethanol	—	<i>Beijerinca bacterium</i>	Two-chamber	$40 \pm 2$	[36,42]
Cysteine	Carbon paper	<i>Grammaproteo</i> and <i>rhodospirillum</i> (KMM3586)	Two-chamber	36	[51,43]
Marine sediment reached in acetate	Graphite	<i>Dehaloproton bacterium</i>	Two-chamber	14	[52,44]
Marine sediment	Noncorroding graphite	<i>Dissulfotomum</i> SPP and ...	Two-chamber	25.4, 26.6	[53,45]
Sewage sludge	Graphite with $\text{Mn}^{2+}$	<i>Escherichia coli</i>	Single chamber	91	[54,46]
Sewage sludge	Graphite with neutral red (NR)	<i>Escherichia coli</i>	Single chamber	152	[51,46]
Sewage sludge	Platinum and polyaniline-co-modified	<i>Escherichia coli</i>	Single chamber	600	[55,47]
Glucose	Composite electrode (graphite/PTE)	<i>Escherichia coli</i>	Single chamber	760	[28,48]
Glucose	Teflon treated carbon fiber paper	Electrochemically active bacteria	Two-chamber (H-type MFC)	15.2	[16]
Lactose	“	“	“	17.2	[13]
Cellulose	Non-wet-proof carbon paper	Cellulose degrading bacteria	“	188	[56,49]
Glucose	Graphite plates	Mixed culture	2-chamber air-cathode MFC	283	[810]
Glucose	Carbon paper with PPY-CNTs	<i>Escherichia coli</i>	DCMFC	228	[8,49]

Figura 4.25 Desempeño de CCM

El resultado obtenido en este trabajo se encuentra alrededor de los  $800 \text{ mW/m}^2$ , destacando que se trabajó con un ánodo no utilizado en alguna otra investigación, no se utilizó aireación mecánica en la cámara del cátodo, así como el uso de cepas puras para un estudio que permita obtener mejores resultados, dejando como principal aportación la propuesta de un electrodo elaborado con un procedimiento sencillo a partir de la combinación de materiales que si bien ya existen en el mercado no se habían unido para su uso en las celdas de combustible microbianas.

La DQO final fue de 4.8748 mg de DQO, con el dato inicial de DQO, la integración de la curva (tiempo vs corriente) y usando la ecuación 3.11 se obtuvo una eficiencia Coulombica promedio de 32.55%

# Capítulo 5

## Conclusiones

Dados los resultados obtenidos de la caracterización de los materiales propuestos, de la caracterización del electrodo a operarse como ánodo en una CCM y de los datos obtenidos al operar la CCM en un periodo de 500 horas se llegó a las siguientes conclusiones:

- El grafeno adquirido en ID-nano Investigación y desarrollo de nanomateriales S.A de C.V (0.005 g cm<sup>-3</sup>) presenta agregados de hojas de grafeno lo que es denominado grafeno multicapa, esto debido al método de reducción química del grafeno utilizado, su superficie arenosa permitió su fácil manipulación al impregnarlo al soporte. El análisis de difracción de rayos X definió un sistema cristalino trigonal con un tamaño de cristal de 3nm y 26.03 °2θ que corresponde a un espaciamiento de 3.38 Å y que puede ser atribuido al alto grado de exfoliación. Permitted identificar una estructura ordenada cercana al grafito (estructura hexagonal).
- El análisis del área superficial presenta una isoterma tipo V de acuerdo a la clasificación de la IUPAC 2015, presenta un fenómeno de histéresis a altas presiones P/Po, lo que indica una estructura mesoporosa del grafeno. El área superficial específica obtenida con la ecuación BET es de 910.482 m<sup>2</sup>/g que nos permitió obtener resultados satisfactorios dada la comparación con otros trabajos reportados.
- Las micrografías permitieron identificar que las capas de grafeno presentan lo denominado grafeno corrugado con hojas de un tamaño aproximado de 1µm de ancho en promedio.
- La caracterización del soporte grafeno/wireglue/pintura de plata da como resultado una conductividad de 1550.39 (ohm<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>) que favorece la transferencia de carga esto observado en los voltamperogramas del par [Fe(CN<sub>6</sub><sup>3-</sup>)]/[Fe(CN<sub>6</sub><sup>4-</sup>)], estable en medios con pH en un rango de 4 y 9 y temperaturas de hasta 40°C al no observarse desprendimientos ni modificar su desempeño.
- Se determinó un área electroactiva de 0.3555 cm<sup>2</sup> utilizando la ecuación de Cottrell.
- El desarrollo del programa en lenguaje Basic para la adquisición de datos de diferencia de potencial en la computadora Duinomite permitió el adecuado monitoreo de la celda de combustible microbiana.

- La curva de polarización permitió observar un fenómeno denominado como sobrepaso, el cual es una disminución no esperada y repentina de la corriente eléctrica por debajo de los 3700  $\Omega$ . De la curva se decidió seleccionar la operación de la CCM con una resistencia de 4000  $\Omega$ .
- El monitoreo durante 500 horas obtuvo un valor máximo de 255mV, manteniendo estable la lectura alrededor de este valor por 4 días, posteriormente empezó a descender el valor de manera suave pero sostenida, con lapsos cortos de un día estables. Para el valor máximo se tiene una potencia normalizada a el área del ánodo ( $1.963 \times 10^{-5} \text{ m}^2$ ) de 0.83 W/m<sup>2</sup>. Cabe destacar que los valores reportados para los voltajes medidos se encuentran en el rango de 0.3 a 0.7 V.
- La eficiencia Coulombica promedio obtenida en la operación durante 500 horas fue de 32.55% para el ciclo batch.

# Bibliografía

- [1] G. Carlo and D. Ramos, "PETRÓLEO, MEDIO AMBIENTE, CAMBIO CLIMÁTICO Y SEGURIDAD: MACONDO, OTRA ADVERTENCIA MÁS," vol. 30, 2011.
- [2] J. S. W. R. F. Keeling, S.C Piper, A.F. BollenBacher, "No Title," *CDIAC*, 2018.
- [3] G. Buitrón and J. Pérez, "Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos," *Rev. Espec. en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 14, no. 1, pp. 5–11, 2011.
- [4] T. Report, "Water & Sustainability (Volume 4): U.S. Electricity Consumption for Water Supply & Treatment - The Next Half Century," vol. 4, no. Volume 4.
- [5] P. T. Dávalos, "Celdas de combustible microbianas : energía limpia para el futuro," vol. 2017, 2017.
- [6] Z. Ge, L. Wu, F. Zhang, and Z. He, "Energy extraction from a large-scale microbial fuel cell system treating municipal wastewater," *J. Power Sources*, vol. 297, pp. 260–264, 2015.
- [7] Y.-R. He, X. Xiao, W.-W. Li, P.-J. Cai, S.-J. Yuan, F.-F. Yan, M.-X. He, G.-P. Sheng, Z.-H. Tong, and H.-Q. Yu, "Electricity generation from dissolved organic matter in polluted lake water using a microbial fuel cell (MFC)," *Biochem. Eng. J.*, vol. 71, no. 0, p. -, 2012.
- [8] U. Schroder, "Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 9, no. 21, p. 2619, 2007.
- [9] D. Pant, A. Singh, G. Van Bogaert, Y. A. Gallego, L. Diels, and K. Vanbroekhoven, "An introduction to the life cycle assessment (LCA) of bioelectrochemical systems (BES) for sustainable energy and product generation: Relevance and key aspects," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 15, no. 2, pp. 1305–1313, 2011.
- [10] M. C. Potter, "Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds," *R. Soc.*, vol. 84, no. 571, 1911.
- [11] R. M. Allen and H. P. Bennetto, "Microbial fuel cells: Electricity production from carbohydrates," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 39, no. 1, pp. 27–40, 1993.
- [12] B. H. Kim, T. Ikeda, H. S. Park, H. J. Kim, M. S. Hyun, K. Kano, K. Takagi, and H. Tatsumi, "Electrochemical activity of an Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors," *Biotechnol. Tech.*, vol. 13, no. 7, pp. 475–478, 1999.
- [13] H. J. Kim, H. S. Park, M. S. Hyun, I. S. Chang, M. Kim, and B. H. Kim, "A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 30, no. 2, pp. 145–152, 2002.
- [14] U. Schroder, "Fuel Cells - Exploratory Fuel Cells: Microbial Fuel Cells," *Encycl. Electrochem. power sources*, pp. 206–216, 2009.

- [15] K. S. Jacobson, D. M. Drew, and Z. He, "Efficient salt removal in a continuously operated upflow microbial desalination cell with an air cathode," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 376–380, 2011.
- [16] B. Erable and A. Bergel, "First air-tolerant effective stainless steel microbial anode obtained from a natural marine biofilm.," *Bioresour. Technol.*, vol. 100, no. 13, pp. 3302–7, 2009.
- [17] K. Rabaey, P. Girguis, and L. K. Nielsen, "Metabolic and practical considerations on microbial electrosynthesis," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 22, no. 3, pp. 371–377, 2011.
- [18] K. Rabaey and W. Verstraete, "Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation," *Trends Biotechnol.*, vol. 23, no. 6, pp. 291–298, 2005.
- [19] K. Watanabe, "Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy," *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 106, no. 6, pp. 528–536, 2008.
- [20] P. Clauwaert, P. Aelterman, T. H. Pham, L. De Schampheleire, M. Carballa, K. Rabaey, and W. Verstraete, "Minimizing losses in bio-electrochemical systems: the road to applications," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 79, no. 6, pp. 901–913, 2008.
- [21] B. E. Logan, "Logan 2009," *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 7, pp. 375–381, 2009.
- [22] P. D. Kiely, J. M. Regan, and B. E. Logan, "The electric picnic: synergistic requirements for exoelectrogenic microbial communities.," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 22, no. 3, pp. 378–85, Jun. 2011.
- [23] D. R. Lovley, "The microbe electric: conversion of organic matter to electricity," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 19, no. 6, pp. 564–571, 2008.
- [24] L. A. Fitzgerald, E. R. Petersen, D. H. Leary, L. J. Nadeau, C. M. Soto, R. I. Ray, B. J. Little, B. R. Ringeisen, G. R. Johnson, G. J. Vora, and J. C. Biffinger, "Shewanella frigidimarina microbial fuel cells and the influence of divalent cations on current output," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 40, no. 1, pp. 102–109, 2013.
- [25] X. C. Abrevaya, N. Sacco, P. J. D. Mauas, and E. Cortez, "Archaea-based microbial fuel cell operating at high ionic strength conditions," *Extremophiles*, vol. 15, no. 6, pp. 633–642, 2011.
- [26] M. Rahimnejad, A. A. Ghoreyshi, G. D. Najafpour, H. Younesi, and M. Shakeri, "A novel microbial fuel cell stack for continuous production of clean energy," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 37, no. 7, pp. 5992–6000, Apr. 2012.
- [27] Z. Du, H. Li, and T. Gu, "A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy," *Biotechnol. Adv.*, vol. 25, no. 5, pp. 464–482, 2007.
- [28] V. G. Debabov, "Electricity from microorganisms," *Mikrobiologiya*, vol. 77, no. 2, pp. 149–157, 2008.
- [29] D. M. Revelo, N. H. Hurtado, and J. O. Ruiz, "Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica," *Inf. tecnológica*, vol. 24, no. 6, pp. 7–8, 2013.



- [30] K. P. Nevin, B. Kim, R. H. Glaven, J. P. Johnson, T. L. Woodard, R. J. Didonato, S. F. Covalla, A. E. Franks, A. Liu, R. Derek, and B. A. Methe, "Anode Biofilm Transcriptomics Reveals Outer Surface Components Essential for High Density Current Production in *Geobacter sulfurreducens* Fuel Cells," vol. 4, no. 5, 2009.
- [31] L. V. Reddy, S. P. Kumar, and Y. Wee, "Microbial Fuel Cells ( MFCs ) - a novel source of energy for new millennium," *Curr. Res. Technol. Educ. Top. Appl. Microbiol. Microb. Biotechnol.*, vol. 2, pp. 956–964, 2010.
- [32] S. T. Oh, J. R. Kim, G. C. Premier, T. H. Lee, C. Kim, and W. T. Sloan, "Sustainable wastewater treatment: How might microbial fuel cells contribute," *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 6, pp. 871–881, 2010.
- [33] S. E. Oh and B. E. Logan, "Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 70, no. 2, pp. 162–169, 2006.
- [34] H. Liu and B. E. Logan, "Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 38, no. 14, pp. 4040–4046, 2004.
- [35] Z. He, S. D. Minteer, and L. T. Angenent, "Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 14, pp. 5262–5267, 2005.
- [36] P. Aelterman, K. Rabaey, and W. Verstraete, "Continuous Electricity Generation at High Voltages and Currents Using Stacked Microbial Fuel Cells," vol. 40, no. 10, pp. 3388–3394, 2006.
- [37] X. C. Zhang and A. Halme, "Modelling of a microbial fuel cell process," *Biotechnol. Lett.*, vol. 17, no. 8, pp. 809–814, 1995.
- [38] C. Picioreanu, K. P. Katuri, I. M. Head, M. C. M. Van Loosdrecht, and K. Scott, "Mathematical model for microbial fuel cells with anodic biofilms and anaerobic digestion," *Water Sci. Technol.*, vol. 57, no. 7, pp. 965–971, 2008.
- [39] Y. Zeng, Y. F. Choo, B.-H. Kim, and P. Wu, "Modelling and simulation of two-chamber microbial fuel cell," *J. Power Sources*, vol. 195, no. April 2016, pp. 79–89, 2010.
- [40] S. Ci, P. Cai, Z. Wen, and J. Li, "Graphene-based electrode materials for microbial fuel cells," *Sci. China Mater.*, vol. 58, no. 6, pp. 496–509, 2015.
- [41] B. E. Logan, B. Hamelers, R. Rozendal, U. Schröder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete, and K. Rabaey, "Microbial fuel cells: Methodology and technology," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 17, pp. 5181–5192, 2006.
- [42] A. Manuscript and I. Proximity, "Electrochemically active biofilms facts and fiction. A review," vol. 4, no. 164, pp. 789–812, 2011.
- [43] R. Paper, "Electrode materials for microbial fuel cells : nanomaterial approach," *Mater. Renew. Sustain. Energy*, pp. 1–11, 2015.

- [44] A. P. Borole, C. Y. Hamilton, T. A. Vishnivetskaya, D. Leak, C. Andras, J. Morrell-Falvey, M. Keller, and B. Davison, "Integrating engineering design improvements with exoelectrogen enrichment process to increase power output from microbial fuel cells," *J. Power Sources*, vol. 191, no. 2, pp. 520–527, 2009.
- [45] Y. Yuan, J. Ahmed, L. Zhou, B. Zhao, and S. Kim, "Biosensors and Bioelectronics Carbon nanoparticles-assisted mediator-less microbial fuel cells using *Proteus vulgaris*," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 27, no. 1, pp. 106–112, 2011.
- [46] W. K. Maser, R. Sainz, M. T. Martínez, and A. M. Benito, "Electroactive polymer-carbon nanotube composites : smart organic materials for optoelectronic applications," vol. 4, no. 2, pp. 187–192, 2008.
- [47] A. Magrez, S. Kasas, and N. Pasquier, "Cellular Toxicity of Carbon-Based Nanomaterials."
- [48] E. Yoo, J. Kim, E. Hosono, H. Zhou, T. Kudo, and I. Honma, "Large Reversible Li Storage of Graphene Nanosheet Families for Use in Rechargeable Lithium Ion Batteries 2008," pp. 13–18, 2008.
- [49] Y. Zhang, G. Mo, X. Li, W. Zhang, J. Zhang, J. Ye, X. Huang, and C. Yu, "A graphene modified anode to improve the performance of microbial fuel cells," *J. Power Sources*, vol. 196, no. 13, pp. 5402–5407, 2011.
- [50] Y. Yuan, S. Zhou, B. Zhao, L. Zhuang, and Y. Wang, "Bioresource Technology Microbially-reduced graphene scaffolds to facilitate extracellular electron transfer in microbial fuel cells," *Bioresour. Technol.*, vol. 116, pp. 453–458, 2012.
- [51] J. Wei, P. Liang, and X. Huang, "Bioresource Technology Recent progress in electrodes for microbial fuel cells," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 20, pp. 9335–9344, 2011.
- [52] L. Xiao, J. Damien, J. Luo, H. Dong, J. Huang, and Z. He, "Crumpled graphene particles for microbial fuel cell electrodes," *J. Power Sources*, vol. 208, pp. 187–192, 2012.
- [53] J. Liu, Y. Qiao, C. X. Guo, S. Lim, H. Song, and C. M. Li, "Graphene/carbon cloth anode for high-performance mediatorless microbial fuel cells," *Bioresour. Technol.*, vol. 114, pp. 275–280, 2012.
- [54] Y. Zhang, G. Mo, X. Li, and J. Ye, "Iron tetrasulfophthalocyanine functionalized graphene as a platinum-free cathodic catalyst for efficient oxygen reduction in microbial fuel cells," *J. Power Sources*, vol. 197, pp. 93–96, 2012.
- [55] E. Vera, "Uso de métodos electroquímicos como herramientas para evaluar parámetros de interfase en sistemas heterogéneos metal/medio acuoso," *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias*, vol. 34, no. 131, pp. 241–251, 2010.
- [56] J. R. Connolly, "Introduction to X-ray Powder Diffraction," *Eps400-002*, pp. 1–9, 2007.
- [57] P. H. Emmett, "Citation Classics," no. 35, p. 1977, 1977.
- [58] D. Pant, G. Van Bogaert, L. Diels, and K. Vanbroekhoven, "A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 6, pp. 1533–1543, 2010.

- [59] D. R. L. A. E. J. P. PHILLIPS, "Novel Mode of Microbial Energy Metabolism : Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese," vol. 54, no. 6, pp. 1472–1480, 1988.
- [60] M. Zhou, M. Chi, J. Luo, H. He, and T. Jin, "An overview of electrode materials in microbial fuel cells," *J. Power Sources*, vol. 196, no. 10, pp. 4427–4435, 2011.
- [61] G. Mohanakrishna, S. K. Mohan, and S. V. Mohan, "Carbon based nanotubes and nanopowder as impregnated electrode structures for enhanced power generation : Evaluation with real field wastewater," *Appl. Energy*, vol. 95, pp. 31–37, 2012.
- [62] Y. Qiao, C. Ming, S. Bao, and Q. Bao, "Carbon nanotube / polyaniline composite as anode material for microbial fuel cells," vol. 170, pp. 79–84, 2007.
- [63] J. Luo, H. D. Jang, T. Sun, L. Xiao, Z. He, A. P. Katsoulidis, M. G. Kanatzidis, J. M. Gibson, and J. Huang, "Compression and aggregation-resistant particles of crumpled soft sheets," *ACS Nano*, vol. 5, no. 11, pp. 8943–8949, 2011.
- [64] G. Gnana, C. J. Kirubaharan, S. Udhayakumar, C. Karthikeyan, and K. S. Nahm, "Conductive Polymer / Graphene Supported Platinum Nanoparticles as Anode Catalysts for the Extended Power Generation of Microbial Fuel Cells," 2014.
- [65] L. Xiao, J. Damien, J. Luo, H. D. Jang, J. Huang, and Z. He, "Crumpled graphene particles for microbial fuel cell electrodes," *J. Power Sources*, vol. 208, pp. 187–192, 2012.
- [66] C. Li, L. Zhang, L. Ding, H. Ren, and H. Cui, "Effect of conductive polymers coated anode on the performance of microbial fuel cells (MFCs) and its biodiversity analysis," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 10, pp. 4169–4176, 2011.
- [67] S. Ci, Z. Wen, J. Chen, and Z. He, "Electrochemistry Communications Decorating anode with bamboo-like nitrogen-doped carbon nanotubes for microbial fuel cells," *Electrochem. commun.*, vol. 14, no. 1, pp. 71–74, 2012.
- [68] X. Quan, B. Sun, and H. Xu, "Electrochimica Acta Anode decoration with biogenic Pd nanoparticles improved power generation in microbial fuel cells," *Electrochim. Acta*, vol. 182, pp. 815–820, 2015.
- [69] R. Paper, "Electrode materials for microbial fuel cells : nanomaterial approach," *Mater. Renew. Sustain. Energy*, vol. 4, no. 4, pp. 1–11, 2015.
- [70] S. M. Paek, E. Yoo, and I. Honma, "Enhanced cyclic performance and lithium storage capacity of SnO<sub>2</sub>/graphene nanoporous electrodes with three-dimensionally delaminated flexible structure," *Nano Lett.*, vol. 9, no. 1, pp. 72–75, 2009.
- [71] Y. Goto, N. Yoshida, Y. Umeyama, T. Yamada, R. Tero, and A. Hiraishi, "Enhancement of Electricity Production by Graphene Oxide in Soil Microbial Fuel Cells and Plant Microbial Fuel Cells," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 3, no. April, pp. 1–8, 2015.
- [72] B. Andonovic, A. Ademi, A. Grozdanov, P. Paunovi, and A. T. Dimitrov, "Enhanced model for determining the number of graphene layers and their distribution from X-ray diffraction data," pp. 2113–2122, 2015.

- [73] A. Shalaby, D. Nihtianova, P. Markov, and A. D. Staneva, "Structural analysis of reduced graphene oxide by transmission electron microscopy," *Bulg. Chem. Commun*, vol. 47, no. 1, pp. 291–295, 2015.
- [74] M. Thommes, K. Kaneko, A. V Neimark, J. P. Olivier, F. Rodriguez-reinoso, J. Rouquerol, and K. S. W. Sing, "Physisorption of gases , with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution ( IUPAC Technical Report )," vol. 87, pp. 1051–1069, 2015.
- [75] S. M. Reda and S. M. Al-ghannam, "Synthesis and Electrical Properties of Polyaniline Composite with Silver Nanoparticles," vol. 2012, no. June, pp. 75–81, 2012.
- [76] J. Rae, K. Booki, and M. Bruce, "Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production," pp. 23–30, 2005.
- [77] Secretaria de Economia de Unidos Mexicanos, "Análisis De Agua - Determinación De La Demanda Química De Oxígeno En Aguas Naturales , Residuales Y Residuales Tratadas - Método De Prueba ( Cancela a La Nmx-Aa-030-1981 ) Water Analisis - Determination for Chemical Oxygen Demand in Natural , Wastewaters ," 2001.
- [78] P. N. Kim BH, Park HS, Kim HJ, Kim GT, Chang IS, Lee J, "Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell.," *Appl Micro- biol Biotechnol*, vol. 63, pp. 672–681, 2004.
- [79] G. J. LeropoulosI, Winfield J, "Effects of flow-rate, inoculum and time on the internal resistance of microbial fuel cell.," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, pp. 3520–3525, 2010.
- [80] B. E. B. Logan, *Microbial fuel cells*. 2008.