



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

**INFLUENCIA DEL ÁREA DEL ÁNODO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO
EN SISTEMAS BIOELECTROQUÍMICOS MICROBIANOS**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA
(INGENIERÍA AMBIENTAL)

PRESENTA:
GAMALIEL RAMIREZ RAMIREZ

TUTOR PRINCIPAL:
DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTORAL:
DR. JUAN MANUEL MORGAN SAGASTUME, INSTITUTO DE INGENIERÍA
DRA. BIBIANA CERCADO QUEZADA, CIDETEQ

QUERÉTARO, QUERÉTARO, OCTUBRE 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Bibiana Cercado Quezada
Secretario: Dr. Iván Moreno Andrade
1er. Vocal: Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga
2do. Vocal: Dr. Juan Manuel Morgan Sagastume
3er. Vocal: Dr. Germán Buitrón Méndez

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados para el Tratamiento de Aguas Unidad de Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, Querétaro, Qro.

TUTOR DE TESIS:

DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'G. Buitrón', is written over a solid horizontal line.

FIRMA

Financiamiento

Este proyecto de investigación fue realizado gracias al financiamiento del fondo de sustentabilidad energética, SENER-CONACYT bajo el proyecto 247006 del Clúster de Biocombustibles gaseosos.

Dedicatoria

A Dios.

Por ser mi padre, confidente y mi guía, y regalarme cada maravilloso día, así como la salud y fuerza para cumplir cada una de mis metas.

A mi madre.

Por haberme forjado como la persona que son en la actualidad, así como por apoyarme en todas las metas que me propuesto, así por darme su amor y comprensión estos años de mi vida.

A mi hermana.

Gracias por su apoyo cariño y por estar en los momentos mas importantes de mi vida. Así como a mi sobrino Gabriel que vino a la familia para llenar los días de alegría.

A mi novia.

Monse por apoyarme en todo momento en este largo camino para cumplir esta meta. Gracias por tus consejos, cariño y fortaleza que me has dado .

A mi abuelita.

Que si bien ya no se encuentra aquí. Te agradezco por esos cuidados y cariños de mi infancia que me ayudaron a ser el hombre que soy ahora. Gracias

Agradecimientos

Al Dr. Germán Buitrón Méndez, por darme la oportunidad de realizar los estudios de maestría bajo su dirección, así como brindarme su apoyo durante estos dos años y todo lo aprendido de él.

A la Dra. Bibiana Cercado y al Dr. Juan Manuel Morgan, por apoyarme durante estos dos años con sus comentarios y correcciones para mejorar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Edson Estrada y al Dr. Iván Moreno, por sus comentarios y sugerencias para mejorar la redacción de la tesis.

A la maestra Gloria Moreno por su apoyo y consejos durante estos dos años que me ayudaron mucho.

Al Dr. René Cardeña por su apoyo durante estos dos años en el trabajo de laboratorio. Así como todo lo que me enseñó y sus consejos para mejorar en mi trabajo de investigación.

Al Dr. Martín, Diana, Sigrid, Sharon, la Jefa Laura y la Jefa Mitzy por brindarme su amistad y compañerismo durante mi estancia en LIPATA.

Índice General

Índice de tablas.....	V
Índice de figuras.....	VI
Nomenclatura.....	IX
Abstract.....	X
Resumen	XI
Introducción	1
1. Marco teórico	3
1.1 Biogás.....	3
1.2 Metano.....	5
1.3 Digestión anaerobia	6
1.3.1 Absorción.....	9
1.2.2 Separación por membranas	10
1.2.3 Sistema de metanización	10
1.4 Sistemas bioelectroquímicos.....	11
1.4.1 Celdas de electrosíntesis microbiana	13
1.4.1 Electrometanogénesis.....	13
1.5 Parámetros de operación en sistemas bioelectroquímicos.....	14
1.5.1 Temperatura	14
1.5.2 Sustrato	15
1.5.3 pH.....	15
1.5.4 Voltaje aplicado.....	16
1.5.5 Ánodo y cátodo	17
1.5.6 Área del ánodo.....	18
1.6 Transferencia de electrones.....	20

2. Hipótesis y objetivos	22
2.1 Hipótesis	22
2.2 Objetivo general.....	22
2.2.1 Objetivos específicos	22
2.2.2 Alcances	22
3. Metodología	23
3.1 Estrategia experimental	23
3.2. Reactores bioelectroquímicos de una cámara	24
3.3 Arranque y operación de los reactores bioelectroquímicos	27
3.4 Técnicas analíticas	31
3.4.1 Determinación de DQO	31
3.4.2 Determinación de AGV	31
3.4.3 Determinación de la composición del biogás	31
3.5 Técnicas electroquímicas.....	32
3.5.1 Cronoamperometrías y voltametría cíclica.	32
3.6 Cálculos	33
3.6.3 Eficiencia coulombica.....	34
3.6.4 Eficiencia energética	35
3.6.5 Análisis estadístico.....	35
3.8 Operación a largo plazo de la espuma de níquel	36
4 Resultados	37
4.1 Colonización de electrodos	37
4.2 Desempeño del sistema bioelectroquímicos	39
4.2.1 Composición del biogás	39
4.2.2 Producción de hidrógeno	45

4.2.2 Producción de metano	47
4.2.3 Eficiencia remoción de DQO y eficiencia coulómbica.....	52
4.2.3 Eficiencia energética	58
4.2.4 Comparación con trabajos realizados en sistemas de una cámara	61
4.3 Evaluación de la comunidad microbiana	64
4.3.1 Bioánodo.....	64
4.3.2 Biocátodo	67
4.8 Desempeño de la espuma de níquel a largo plazo	70
6. Conclusiones	72
7. Perspectivas	74
Referencias.....	75
Anexos.....	84

Índice de tablas

Tabla 1.1 Comparación procesos de electrosíntesis y electrofermentación.	15
Tabla 2.2 Tabla comparativa sistemas bioelectroquímicos con diferentes relaciones de áreas de ánodo y volumen.	21
Tabla 3.1 Áreas experimentales en las celdas.....	29
Tabla 4.1 Voltajes suministrados en los reactores.	50
Tabla 4.2 Prueba de Bonferroni con valor de $P=0.05$ para tasa de producción de metano.	51
Tabla 4.3 Prueba de Bonferroni con valor de $P= 0.05$ para rendimiento de metano los reactores.	52
Tabla 4.4 Prueba de Bonferroni con valor de $P= 0.05$ para eficiencia remoción de DQO.....	57
Tabla 4.5 Prueba de Bonferroni con valor de $P=0.05$ para eficiencia coulombica.	57
Tabla 4.6 Prueba de Bonferroni con valor de $P= 0.05$ para eficiencia energética.	59
Tabla 4.7 Comparación de los datos obtenidos este trabajo con resultados reportados en la literatura.	62

Índice de figuras

Figura 1.1 Emisiones de CO ₂ a la atmósfera en los últimos 20 años (AIE,2020)...	4
Figura 1.2 Etapas de la digestión anaerobia (Adaptado de Gujer y Zehnder, 1983)...	6
Figura 1.3 Proceso de metanización.(Götz et al., 2016).....	11
Figura 1.4 Componentes básicos de un reactor bioelectroquímico. (Logan et al., 2019).....	12
Figura 1.5 Descripción básica de una celda electrosíntesis. (Zakaria y Dhar, 2019).....	14
Figura 1.6 Transferencia de electrones directa entre microorganismos.....	200
Figura 3.1 Estrategia experimental para el estudio del efecto del área del ánodo en la producción de metano.	23
Figura 3.2 Esquema de un reactor de cámara única con todos sus componentes.....	25
Figura 3.3 Configuración de los reactores de una cámara: A) Vista lateral del reactor. B) Vista superior del reactor conectado al potencióstato.	26
Figura 3.4 A) Ánodo: Filtro de grafito; B) lodo anaerobio; C) Cátodo: Espuma de níquel.....	26
Figura 3.5 Diagrama del montaje experimental.	29
Figura 3.6 Arreglo experimental en laboratorio.....	30
Figura 4.1 Cronoamperometrías obtenidas de los reactores a) 49 m ² /m ³ b) 25.3 m ² /m ³	38
Figura 4.2 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 13.3 m ² /m ³	40
Figura 4.3 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 25.6 m ² /m ³	40

Figura 4.4 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 37.8 m ² /m ³	41
Figura 4.5 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 50.0 m ² /m ³	41
Figura 4.6 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 13.3 m ² /m ³	43
Figura 4.7 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 25.6 m ² /m ³	43
Figura 4.8 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 37.8 m ² /m ³	44
Figura 4.9 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 50 m ² /m ³	44
Figura 4.10 Tasas de producción de hidrógeno donde se evaluaron las relaciones área y volumen de reactor.....	46
Figura 4.11 Tasa de producción de hidrógeno en la etapa estable.....	46
Figura 4.12 Variación de la tasa de producción de metano en diferentes días de operación.	48
Figura 4.13 Variación del rendimiento de metano en diferentes días de operación..	48
Figura 4.14 Tasa de producción de metano etapa estable.	49
Figura 4.15 Eficiencia coulombica y eficiencia de remoción de materia orgánica en los reactores.	53
Figura 4.16 Metabolitos finales de operación de los reactores.	55
Figura 4.17 Posibles rutas metabólica de los subproductos generados en los reactores: A) Ruta de generación de isobutirato en reactores bioelectroquímicos. b)	

Posibles vías metabólicas para la reducción electroquímica microbiana para generar productos interés a partir del CO ₂ (Vassilev et al., 2018).	56
Figura 4.18 Eficiencia energética calculada a partir de flujos de metano e hidrógeno	59
Figura 4.19 Eficiencia energética global de los reactores.....	60
Figura 4.20 Comunidad de bacterias por género que creció en el ánodo.	65
Figura 4.21 Comunidad arqueas por género que crecieron en el ánodo.	66
Figura 4.22 Comunidad de bacterias por género que creció en el cátodo.	68
Figura 4.23 Comunidad de arqueas por género que creció sobre el cátodo.	69
Figura 4.24 a) Electrodo es espuma níquel nuevo. b) Espuma de níquel al día 65 de operación. c) Espuma de níquel al día 165 día de operación. d) Espuma de níquel nueva vista en un estereoscopio aumentado 20X. e) Espuma de níquel después de uso en reactor vista en estereoscopio aumentado 20X f) Espuma de níquel después tratamiento de limpieza vista en estereoscopio aumentada 20X.	70
Figura 4.25 Voltamétrías de espumas de níquel diferentes condiciones.....	71

Nomenclatura

Parámetros	Definición	Unidades
AGV	Ácidos grasos volátiles	
DQO	Demanda química de oxígeno	
E_c	Eficiencia coulombica	%
FID	Detector de ionización de flama	
J	Densidad de corriente	A/m ²
n_ϵ	Eficiencia energética	%
Q_{CH_4}	Tasa de producción de metano	mL CH ₄ /L/d
Q_{H_2}	Tasa de producción de hidrógeno	mL H ₂ /L/d
SHE	Electrodo estándar de hidrógeno	
UASB	Reactor anaerobio de flujo ascendente	
Y_{CH_4}	Rendimiento de metano	mL CH ₄ / g DQO
Y_{H_2}	Rendimiento de hidrógeno	mL H ₂ / g DQO

Abstract

Bioelectrochemical systems are a promising technology for the production of biofuels from wastewater, taking advantage of the chemical energy contained in organic matter and transforming it into electrons. Methane production is an area of interest and with potential for development through bioelectrochemical systems, due to obtaining methane purities of up to 95% in the biogas, transforming it into biomethane that could replace natural gas and take advantage of the infrastructure already installed. The objective of this work was to evaluate the influence of the anode area (with respect to the reactor volume) on the methane production in microbial bioelectrochemical reactors. Tubular reactors without a membrane were used with a working volume of 0.45 L using graphite felt as anode (projected area: 0.006, 0.012, 0.017 and 0.023 m²) and nickel foam as cathode with a projected area of 0.0053 m². The substrate used was a mixture of volatile fatty acids (57% butyric, 30% acetic acid and 13% propionic acid) simulating an acidic effluent from a hydrogen-producing dark fermentation reactor. The four ratios of anode area and reactor volume evaluated were 13.3, 25.6, 37.8 and 50 m²/m³. The four evaluated relationships presented removals of organic matter greater than 80%. The highest methane production rate was 480 mL CH₄/L/d and was obtained with the highest anode / volume ratio presented (37.9 m²/m³) but at the same time this configuration presented high internal resistances, which decreased energy efficiency at less 100%. On the other hand, the highest methane purity (89%) and the highest energy efficiency (153%) were obtained with a ratio of 25.6 m²/m³. The study of the microbial community showed the prevalence of *Geobacter* in the anode and cathode, which is a genus characterized by its electron transfer capacity, while the predominant genus of archaea on the biofilm at the anode was *Methanofollis*, known to generate methane by the hydrogenotrophic route. Therefore, it was determined that the anode / volume ratio has a significant effect on the performance of bioelectrochemical systems for methane production.

Resumen

Los sistemas bioelectroquímicos son una tecnología prometedora para la producción de biocombustibles a partir de aguas residuales, aprovechando la energía química contenida en la materia orgánica y transformándola en electrones. La producción de metano es un área de interés y con potencial de desarrollo a través de los sistemas bioelectroquímicos, debido a la obtención de purezas de metano de hasta 95% en el biogás, transformándose en biometano que podría sustituir al gas natural y aprovechar la infraestructura ya instalada. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia del área del ánodo (respecto al volumen del reactor) sobre la producción de metano en reactores bioelectroquímicos microbianos. Se emplearon reactores tubulares sin membrana con un volumen de trabajo de 0.45 L, se usaron fieltro de grafito como ánodo (área proyectada: 0.006, 0.012, 0.017 y 0.023 m²) y espuma de níquel como cátodo con un área proyectada de 0.0053 m² (esta área fue utilizada en todos los reactores). El sustrato utilizado fue una mezcla de ácidos grasos volátiles (57% ácido butírico, 30% ácido acético y 13% ácido propiónico) simulando un efluente acidogénico proveniente de un reactor de fermentación oscura productor de hidrógeno. Las cuatro relaciones área del ánodo y volumen de reactor evaluadas fueron 13.3, 25.6, 37.8 y 50 m²/m³. Las cuatro relaciones evaluadas presentaron remociones de materia orgánica superiores al 80%. La mayor tasa de producción de metano fue de 480 mL CH₄/L/d y se generó con la mayor relación ánodo/volumen evaluada (37.9 m²/m³) pero al mismo tiempo esta configuración presentó altas resistencias internas lo que disminuyó la eficiencia energética a menos del 100%. Por otro lado, la mayor pureza de metano (89%) y la mayor eficiencia energética (153%) se obtuvieron con una relación de 25.6 m²/m³. El estudio de la comunidad microbiana mostró el predominio del género *Geobacter* en el ánodo y cátodo, que es un género caracterizado por su capacidad de transferencia de electrones, mientras que el género de arqueas predominante sobre la biopelícula en el ánodo fue *Methanofollis*, conocido por generar metano por vía hidrogenotrófica. Por tanto, se determinó que la relación ánodo/volumen tiene un efecto significativo sobre el desempeño de sistemas bioelectroquímicos para la producción de metano.

Introducción

El cambio climático es la problemática ambiental que afronta la humanidad producto de las emisiones de gases de efecto invernadero, la principal fuente de emisiones de CO_2 a la atmósfera proviene de la quema de combustibles fósiles principalmente de los derivados del petróleo y gas natural para poder satisfacer la demanda energética; no obstante la agencia internacional de energía con apoyo de varios países en el año 2005 fijaron como principal objetivo reducir las emisiones de CO_2 a la atmósfera un 50% para el año 2055. El principal desafío para lograr esta meta es la búsqueda y desarrollo de nuevas tecnologías amigables con el medio ambiente, un ejemplo de esto es la Unión Europea que pretende que para el 2030 el 32% de la producción de energía provenga de energías renovables (Battista et al., 2020; Muñoz-Aguilar et al., 2018).

El biogás es un biocombustible que ha llamado la atención, ya que es el producto que se obtiene de la degradación anaerobia de residuos orgánicos (Morita y Sasaki., 2012) y principalmente el biometano que es un biogás con una pureza de 95% de metano (Gustafsson et al., 2020). El biometano se consigue al pasar el biogás a través de procesos de purificación. El biometano puede inyectarse a las redes de gas natural, así como para uso como combustible en vehículos. Sin embargo, la principal limitante para este uso es la concentración de metano y su purificación (eliminación del H_2S). Para resolver esta problemática se pueden utilizar procesos de desorción donde generalmente se utilizan grandes cantidades de agua a presión, aminas y solventes orgánicos lo que hace a estos procesos altamente contaminantes (Garcia et al. 2017.; Gong et al., 2018; Witte et al., 2018). Por todo lo anterior, se siguen desarrollando tecnologías más amigables con el medio ambiente para enriquecer el biogás como procesos de codigestión, metanización, sistemas microalga-bacteria y los sistemas bioelectroquímicos.

En los primeros estudios en sistemas bioelectroquímicos se buscaba la producción de hidrógeno y se consideraba el metano como un contaminante no deseado en la producción de este combustible, pero se concluyó que los sistemas

bioelectroquímicos de una cámara favorecen a los microorganismos hidrogenotróficos los cuales consumen el hidrógeno y dióxido de carbono para la producción de metano. Cheng et al., (2009) fueron los primeros en realizar el primer estudio para producción de metano en sistemas bioelectroquímicos de una cámara. Después de ese año se han realizado diversos estudios para optimizar la producción de metano, principalmente enfocados en el desarrollo de nuevos materiales para los electrodos, el estudio del efecto de diferentes voltajes y potenciales, temperaturas, sustratos, etc. (De Vrieze et al., 2018; Zhen et al., 2015). A pesar de ello, hay pocos estudios referentes a la relación del aumento del área del ánodo respecto al volumen de reactor y la influencia de esta relación sobre la producción de metano, la eficiencia energética y el aumento de la densidad de corriente (Sharma et al., 2014).

1. Marco teórico

1.1 Biogás

En la actualidad el 81% de la producción de energía en el mundo proviene de la quema de combustibles fósiles, mientras el resto de la energía proviene de otras fuentes, siendo la energía nuclear un 14% y 5% de fuentes renovables (AIE,2020). Entre los combustibles fósiles más utilizados encontramos el petróleo, carbono y gas licuado, esto debido a su alto poder calorífico y bajo costo a comparación de las otras fuentes, sin embargo, la alta quema de estos combustibles ha aumentado de forma alarmante las emisiones CO₂ a la atmósfera y con ello contribuyendo al cambio climático (Uddin et al., 2018).

En las dos últimas décadas se han firmado acuerdos e implementado medidas regulatorias más estrictas para disminuir las emisiones de dióxido de carbono a la atmósfera, no obstante, desde el 2001 al 2017 hubo un incremento de un 70% de las emisiones de CO₂ (Fig. 1.1) a la atmósfera, pasando de 20 mil toneladas a 34 mil toneladas emitidas. Para mitigar estas emisiones CO₂ al ambiente se está buscado la producción de energía a través de fuentes más amigables con el medio ambiente, entre estas fuentes podemos mencionar a los biocombustibles, la principal característica de ellos es que se busca producirlos a través de las aguas residuales tanto municipales como industriales. Entre los más estudiados se encuentran el biodiesel, bioetanol, biohidrógeno y el biogás (biometano). El biogás ha tomado gran relevancia en los últimos años debido a su alta versatilidad, ya que dependiendo de la concentración de metano en el biogás este puede ser utilizado para la generación de energía eléctrica, calor o como combustible para vehículos (AIE, 2020; Callegari et al., 2019).

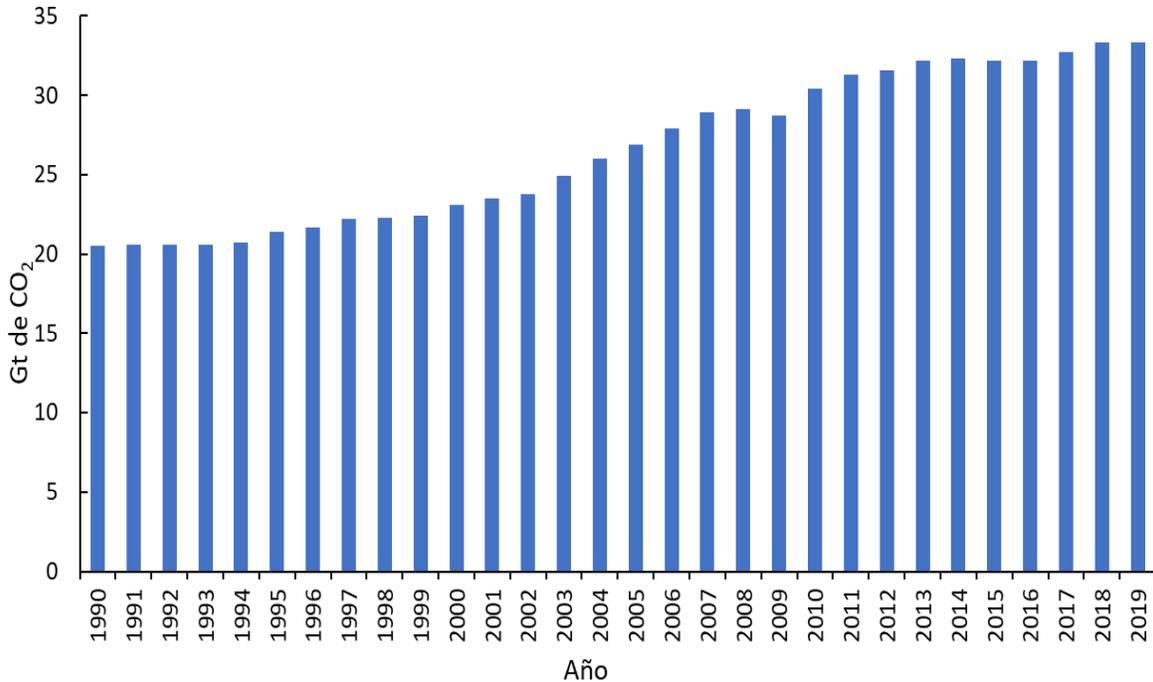


Figura 1.1 Emisiones de CO₂ a la atmósfera en los últimos 20 años (AIE, 2020).

El biogás es el producto de la degradación de materia orgánica a través de la digestión anaerobia, generalmente este biogás está compuesto de metano, dióxido de carbono y otros gases traza; no obstante, para su utilización se necesita aumentar la concentración de metano en el biogás, así como la eliminación de los compuestos traza dañinos como el ácido sulfhídrico y los siloxanos (Seman et al., 2019). Un ejemplo de la aplicación del biogás como fuente de energía es España que busca aumentar la producción del biogás a través la codigestión de los residuos como el estiércol de cerdo y residuos orgánicos, para así cumplir su meta que para el año 2020 donde el 20% de su energía generada provenga de fuentes renovables (Wang et al., 2018).

1.2 Metano

El metano está compuesto por un átomo de carbono y cuatro átomos de hidrógeno, por lo que se encuentra clasificado en la familia de los hidrocarburos siendo un alcano. Asimismo, el metano es un compuesto químicamente estable que en presencia de ácidos como el ácido sulfúrico o ácido nítrico no genera compuestos tóxicos, en tanto que otros combustibles gaseosos como el hidrógeno en presencia de estos ácidos si forma subproductos dañinos y altamente explosivos (Macy, 2005). Las tecnologías actuales para producir metano presentan tasas de producción constantes, a diferencia de otras fuentes de energías renovables. Un ejemplo es la energía eólica y solar que su producción depende del estado del tiempo, lo que genera grandes fluctuaciones en las tasas de generación eléctrica (Witte et al., 2018).

La producción de metano se puede dar de forma abiótica y biológica, en la primera forma es a través de la reacción de Sabatier (Ec. 1.1), que consiste en utilizar dos corrientes una CO_2 y la otra H_2 que al entrar un reactor a altas temperaturas, presiones y un catalizador metálico (generalmente platino o níquel) se genera el metano, si bien se obtiene una corriente de gas con una concentración 100% metano, su uso es limitado debido a la alta demanda de energía que se necesita para producirlo (Gustafsson et al., 2020).



La segunda forma de producir metano y la más utilizada es mediante digestión anaerobia donde se obtiene en mezcla de gases denominada biogás, esta mezcla puede contener entre el 40% y 70% de metano, este contenido se verá influenciado por la complejidad de sustrato utilizado en el proceso (Adnan et al., 2019; Aryal et al., 2018). Un biogás con una pureza de metano del 50% puede ser utilizado en motores de ciclo combinado para producir electricidad y calor, a pesar de ello, sus eficiencias energéticas son bajas (da Costa et al., 2020).

1.3 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico de degradación de la materia orgánica en ausencia de oxígeno (Kougias y Angelidaki., 2018) en el cual se obtiene como producto final biogás. El biogás es una mezcla de gases principalmente metano, dióxido de carbono y trazas de hidrógeno y ácido sulfhídrico. La digestión anaerobia se divide en cuatro etapas: la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, esta última etapa se puede realizar por dos rutas diferentes (Fig. 1.2).

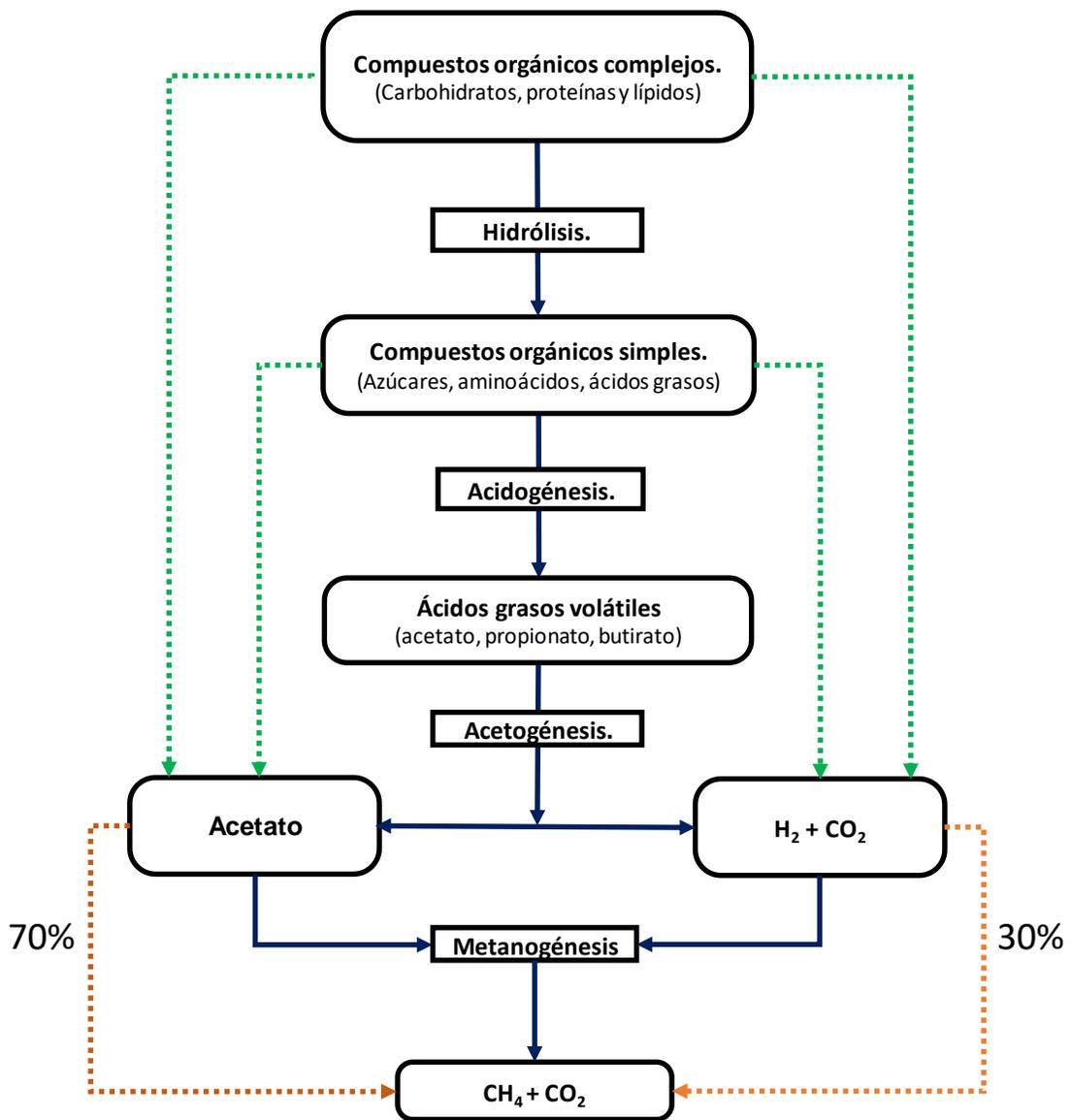
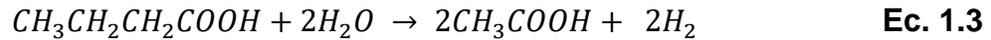


Figura 1.2 Etapas de la digestión anaerobia (Adaptado de Gujer y Zehnder, 1983).

En la hidrólisis los compuestos orgánicos complejos y de gran peso molecular como proteínas, lípidos y carbohidratos son solubilizados por bacterias hidrolíticas a través de exoenzimas y los transforma en polímeros de cadena más cortas como aminoácidos, ácidos grasos, así como la producción de algunos monosacáridos (Jiraprasertwong et al., 2019). Se ha demostrado que la hidrólisis es un factor limitante en la etapa metanogénica, debido que durante la degradación de las proteínas hay liberación de amoniacó que en cantidades adecuadas actúa como un compuesto buffer, en cambio en cantidades altas pueden inhibir la etapa metanogénica (Almeida et al., 2011; Peng et al., 2018). La velocidad de reacción de esta etapa puede ser de horas hasta días, esto dependerá principalmente de la complejidad del sustrato a degradar. Posteriormente, en la acidogénesis las bacterias anaerobias estrictas y facultativas degradan los compuestos de la hidrólisis a través de una fermentación, formando metabolitos solubles como ácidos orgánicos de cadena corta (ácido acético, propiónico y butírico principalmente) y gases como el dióxido de carbono e hidrógeno (Molino et al., 2013; Zhang et al., 2014). La acumulación de estos ácidos en el medio puede provocar caídas de pH (acidificación) y con ello generar una inhibición en la etapa metanogénica. Se ha reportado que la presión del hidrógeno durante esta etapa puede influenciar el tipo de ácidos grasos que se generan al final de la fermentación (Parra Huertas, 2015).

Durante la acetogénesis el hidrógeno y ácido acético son consumidos por las arqueas metanogénicas, mientras otros compuestos como etanol, ácido butírico, y propiónico, entre otros no pueden ser utilizados por las arqueas y deben ser transformados en compuestos más simples como el acetato (COO_3^-) para su asimilación, esto por acción de bacterias acetogénicas. Las bacterias más conocidas de este grupo son *Syntrophobacter wolinii* (degrada el propionato) y *Sytrophomonos wolfei* (degrada el butirato) (da Costa et al., 2020). Las reacciones que pueden llevarse a cabo por estas bacterias son las siguientes:



Casi al finalizar esta etapa la mayoría de las bacterias anaerobias han degradado la materia orgánica que se encuentra en el medio y con ello se han generado metabolitos que serán aprovechados en la siguiente etapa (Mao et al., 2015).

La metanogénesis es la última etapa de la digestión anaerobia y es donde se genera el metano a partir del ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno que fueron generados en las etapas anteriores; es la etapa más crítica debido a que las reacciones bioquímicas son más lentas en comparación a las otras etapas, además la acumulación de amoníaco y caídas de pH (<6) pueden inhibir el proceso. La metanogénesis es producto de microorganismos denominados arqueas metanogénicas, por ejemplo, *Methanosaeta concilii* y *Metanobrevibacter arboriphilus*. La producción de metano puede ocurrir por dos vías, la primera a través de la ruta acetoclástica que utiliza el acetato (Ec. 1.6), mientras la segunda ruta es la hidrogenotrófica a través de la reducción del CO₂ e H₂ (Ec. 1.7) (Adnan et al., 2019; Mao et al., 2015; Park, Lee, Shi, et al., 2018).



Se ha demostrado que aproximadamente el 70% del metano producido en los digestores anaerobios proviene de la ruta acetoclástica, a pesar de que la mayoría de los microorganismos metanogénicos son capaces de utilizar el H₂ como aceptor de electrones, mientras solo dos géneros utilizan estrictamente la ruta acetoclástica.

Es importante mencionar que para emplear el metano presente en el biogás en automóviles y su inyección a líneas de distribución de gas natural, este debe

presentar concentraciones del 95% de metano, por lo que actualmente se están desarrollando nuevas tecnologías que permitan alcanzar estos estándares (Gustafsson et al., 2020). Algunos de los procesos tecnológicos que se emplean para enriquecer el biogás son: absorción, separación por membranas, sistemas de metanización y sistemas bioelectroquímicos.

1.3.1 Absorción

Es la técnica más utilizada para la purificación y enriquecimiento del biogás ya que es fácil de implementar y relativamente económica. Este sistema se basa en la mayor solubilidad del CO_2 y H_2S en el agua que el CH_4 . El proceso se lleva a través de una columna rellena de un empaque para aumentar la superficie de contacto entre el líquido y el biogás, se realiza a altas presiones (1000- 2000 kPa) y a contra corriente para mejorar la eficiencia de la transferencia líquido-gas en el sistema, donde por la parte superior sale un biogás con una concentración entre 95 y 98% de metano, mientras por la parte inferior sale con el líquido saturado de CO_2 y H_2S (Wang et al., 2018)). La recuperación del agua generalmente se hace a través de una columna de desorción donde se inyecta aire para remover los compuestos, sin embargo, se puede generar azufre elemental que provoca problemas de taponamiento (Ryckebosch et al., 2011). La principal desventaja de este sistema es que se requieren columnas de alto volumen para mayor eficiencia, así como la contaminación de altos volúmenes de agua. En años recientes la utilización del agua ha sido sustituida por otros líquidos más eficientes como las aminas y los disolventes orgánicos, en donde en las aminas se aprovechan las propiedades ácidas del CO_2 y H_2S para remover estos dos compuestos a condiciones ambientales (Axelsson et al., 2012), mientras que los solventes se aprovechan para solubilizar el CO_2 . No obstante, la regeneración de estos líquidos requiere temperaturas mayores a 100°C y algunos de estos químicos son altamente corrosivos por lo que los reactores requieren ser fabricados con aceros de alto nivel, generando altos costos de operación (Garcia et al., 2017; Gong et al., 2018).

1.2.2 Separación por membranas

La separación por membranas se fundamenta en la propiedad de permeabilidad selectiva que permite separar al biogás en sus diferentes componentes (Ryckebosch et al., 2011). Este proceso se puede clasificar en dos tipos: separación gas-gas (también denominada seca) y separación líquido-gas (denominada húmeda), esta última, para mayor eficiencia requiere la recirculación del biogás en el sistema provocando pérdidas de metano en el proceso (Axelsson et al., 2012; Kougias y Angelidaki, 2018). El grado de eficiencia de remoción del CO₂ en el sistema dependerá en gran medida del material de la membrana, su porosidad, la resistencia mecánica y la hidrofobicidad de la superficie del material (Kougias y Angelidaki, 2018; Zhou et al., 2017). Por otra parte, un problema de este sistema es que las membranas son sensibles a la presencia de ácido sulfhídrico presente en el biogás, por lo que se requieren tratamientos previos para la eliminación del H₂S y con ello elevando los costos de operación (Axelsson et al., 2012). Otros inconvenientes son la vida media de la membrana que es de apenas 5 años y la facilidad con la que puede dañarse por una mala operación (Žák et al., 2018; Zhou et al., 2017).

1.2.3 Sistema de metanización

Este proceso consiste en utilizar dos flujos de gases, la primera corriente es del biogás proveniente de la digestión anaerobia que previamente fue purificado y la segunda corriente es hidrógeno proveniente generalmente de una electrólisis del agua, estos gases serán introducidos en un reactor biológico enriquecido con arqueas hidrogenotróficas donde el CO₂ y el hidrógeno serán consumidos por estos microorganismos y con ello aumentar el contenido del metano (Fig. 1.3). Este biogás puede necesitar un proceso de purificación extra para ser introducido en las redes de gas natural, por ejemplo, en Alemania y Suiza, se requieren que el biogás contenga concentraciones inferiores de 2% H₂ para su uso (Götz et al., 2016; Witte et al., 2018).

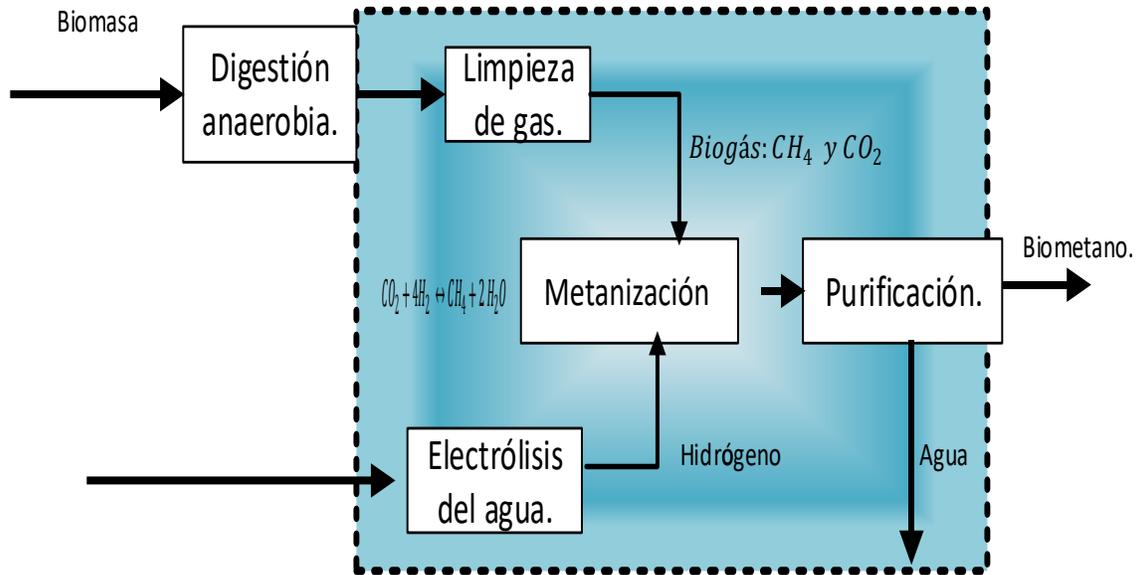


Figura 1.3 Proceso de metanización.(Götz et al., 2016).

1.4 Sistemas bioelectroquímicos

Los sistemas bioelectroquímicos (SBE) se basan en la capacidad de algunas especies de microorganismos para la transferencia de electrones obtenidos de la oxidación de materia orgánica (Parra Huertas, 2015). El sistema consiste en un par de electrodos, el ánodo donde se forma una biopelícula que oxida la materia orgánica generando electrones y protones, donde los primeros viajarán del ánodo hacia el cátodo. El ánodo y cátodo pueden estar separados por una membrana de intercambio iónico (Fig. 1.4) (Mathuriya y Yakhmi, 2016; Zhang y Angelidaki, 2014). Los SBE tienen la capacidad de tratar aguas residuales, remover metales pesados, recuperar nutrientes, así como la posibilidad de producir biocombustibles como el biohidrógeno, butanol y metano (Martinez y Alvarez, 2018).

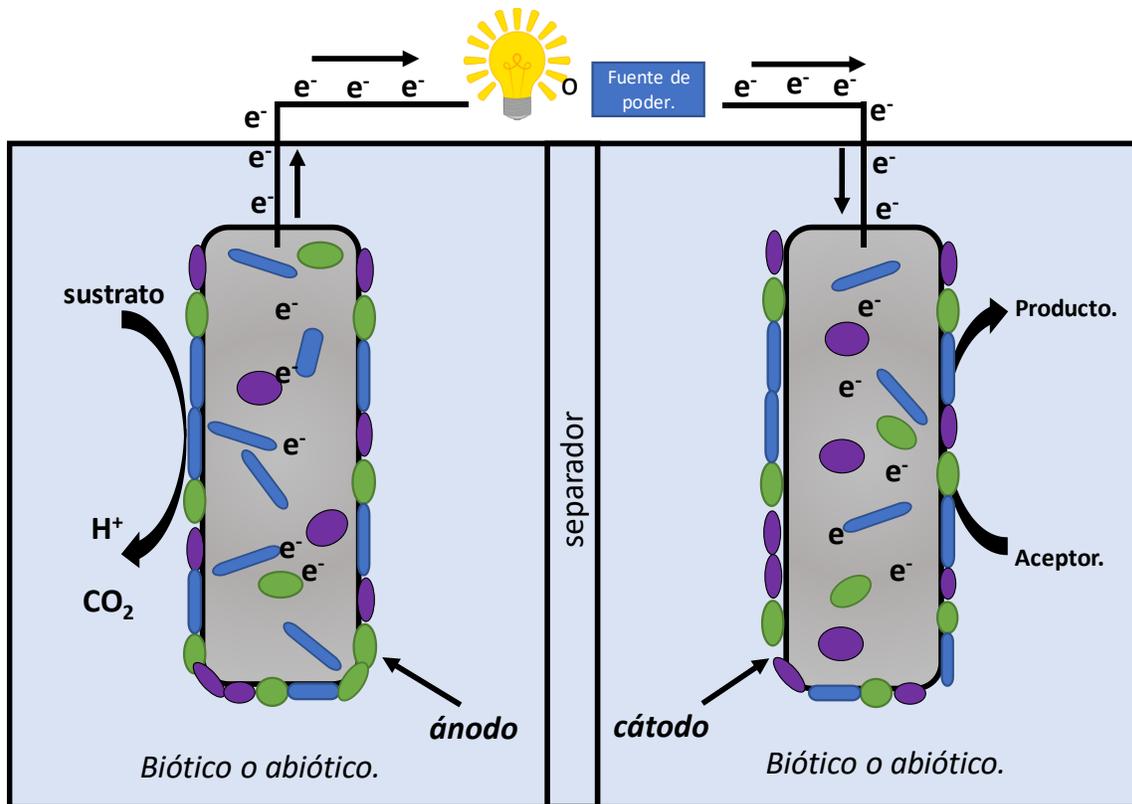


Figura 1.4. Componentes básicos de un reactor bioelectroquímico. (Logan et al., 2019).

Los microorganismos que crecen en la biopelícula sobre la superficie de los electrodos (ánodo y cátodo) son capaces de transferir electrones obtenidos de la degradación de materia orgánica y la subsecuente generación de productos de valor agregado a partir de los electrones generados (Fazal et al., 2019). Utilizando sistemas bioelectroquímicos se puede aumentar la concentración de metano en el biogás durante el proceso digestión anaerobia (in situ), mientras otros procesos de purificación tratan el biogás a la salida del reactor (ex situ) (Aryal et al., 2018). Lo que se busca en estos sistemas es que a través de un pequeño suministro de energía externa se favorezca el metabolismo de los microorganismos hidrogenotróficos (esto se logra a través de la utilización de potenciales altamente negativos sobre el cátodo) y se pueda aprovechar el CO_2 y H_2 que se genera en la digestión anaerobia para incrementar el contenido de metano en el biogás. Para hacer aplicables estos sistemas se deben mejorar cuestiones técnicas para resolver los problemas tecno-económicos que aún prevalecen (De Vrieze et al., 2018; Fazal et al., 2019; Logan et al., 2019).

1.4.1 Celdas de electrosíntesis microbiana

Las celdas de electrosíntesis microbianas se basan en la capacidad de microorganismos para reducir el CO_2 (este se puede obtener de la misma degradación de la materia orgánica o ser inyectado al sistema por la parte inferior cerca del cátodo, esto debido para favorecer su reducción) ha compuesto de carbono de interés como el ácido acético, ácido propiónico, metanol, etc. (Nevin et al., 2010; Osset-Álvarez et al., 2019). Actualmente esta tecnología se encuentra en desarrollo ya que cuenta con limitaciones operacionales que deben ser resueltas antes de implementarse a escala piloto (del Pilar Anzola Rojas et al., 2018; Kougias y Angelidaki, 2018).

1.4.1 Electrometanogénesis

La electrometanogénesis se basa en la aplicación de un voltaje externo sobre los electrodos, donde la materia orgánica se oxida por bacterias exoelectrogénicas presentes en una biopelícula electroactiva dejando libre electrones y protones que serán transferidos a través de un circuito externo hacia el cátodo, donde junto al H_2 CO_2 son reducidos a CH_4 (Ec. 1.7). Este proceso se fundamenta en que la única fuente de carbono para el metano será el dióxido de carbono, sin embargo, al ser una celda de cámara única puede haber diferentes mecanismos de producción involucrados (Fig. 1.5) (Blasco-Gómez et al., 2017; Cheng et al., 2009).

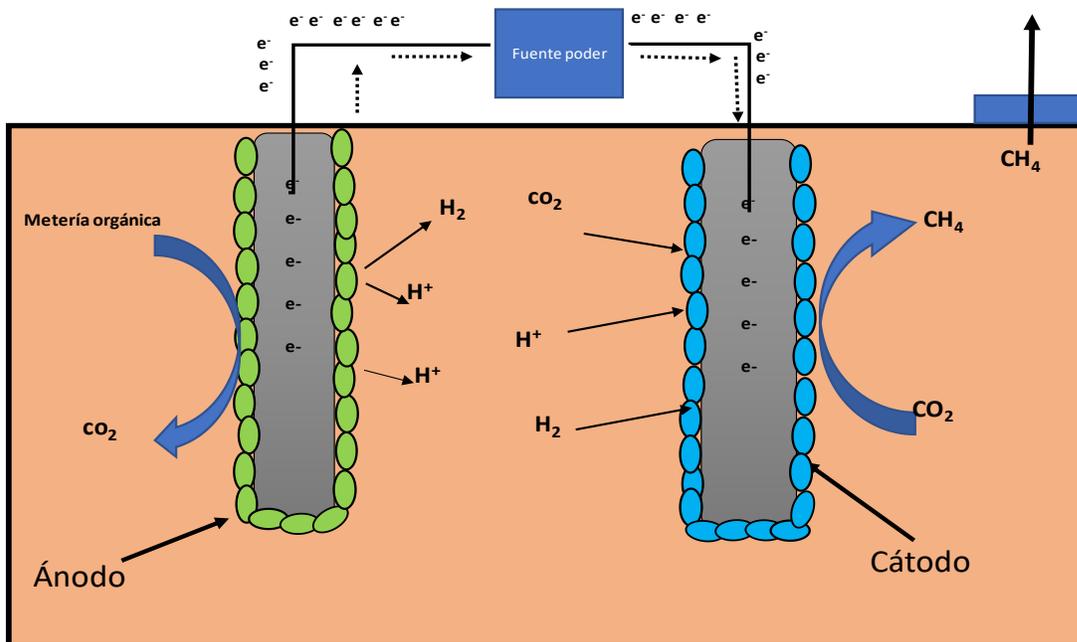


Figura 1.5 Descripción básica de una celda electrosíntesis (Zakaria y Dhar, 2019).

1.5 Parámetros de operación en sistemas bioelectroquímicos

1.5.1 Temperatura

En procesos tradicionales de digestión anaerobia a temperaturas menores de $25^{\circ}C$ la producción de metano disminuye, mientras que a temperaturas cercanas a $10^{\circ}C$ hay una inhibición completa de la metanogénesis. Sin embargo, el acoplamiento de un digestor anaerobio con un sistema bioelectroquímicos para producción de metano a temperatura de $10^{\circ}C$ ha generado tasas de producción de metano similares que a $30^{\circ}C$ pero con eficiencias coulombicas menores del 50% (Asztalos y Kim, 2015; Liu et al., 2016).

Se ha reportado que las temperaturas termófilas favorecen el crecimiento y desarrollo de las arqueas hidrogenotróficas, por ejemplo, a temperatura de $70^{\circ}C$ se ha visto que predomina la especie *Methanothermobacter thermautotrophicus* que es una especie hidrogenotrófica. Al realizar un proceso en termofilia también provee una mejor eliminación de microorganismos patógenos. Entre las desventajas se encuentran las grandes cantidades de energía que se utilizan para mantener la operación del reactor y la pérdida de especies electroactivas provocando la disminución de producción de metano a tiempos largos de operación. Entre las

ventajas de utilizar un sistema en mesófilia se encuentra una mayor estabilidad del proceso al no presentarse pérdidas de especies electroactivas, también se ha observado mayor densidad de corriente que en temperatura mesofílica (Feng et al., 2016; Yang et al., 2018).

1.5.2 Sustrato

La complejidad del sustrato utilizado tiene un efecto significativo sobre el rendimiento y la tasa de producción de metano. En la actualidad la utilización de sustratos simples como el acetato, butirato, propionato y glucosa, dan altas tasas de producción de metano, mientras la utilización de aguas residuales provenientes de las industrias las tasas de producción son bajas, esto se debe a que estas aguas contienen compuestos carbonados altamente complejos. Las aguas industriales también pueden contener sustancias inhibitorias como los fenoles, así como compuestos inorgánicos que pueden generar reacciones competitivas, como los sulfatos y nitritos que pueden servir como aceptores de electrones, alejando el sistema de la producción del metano (Kokko et al., 2018; Mohan et al., 2014).

La utilización solo de acetato en los sistemas de electrosíntesis se debe principalmente a que arrojan eficiencias coulombicas superiores del 90%, en tanto usar una combinación de ácidos grasos las eficiencias han sido alrededor de 50%, por lo que aguas ricas en ácidos grasos principalmente en acetato darán buena tasa de producción y rendimiento de metano (Kokko et al., 2018). Por otra parte se ha visto que utilizar cargas orgánicas muy altas al arranque del reactor afectan la eficiencia coulombica, la densidad de corriente, así como la formación de la biopelícula sobre el ánodo (Mohan et al., 2014).

1.5.3 pH

El pH afecta la actividad de los microorganismos electroactivos de la biopelícula alterando sus rutas metabólicas en los sistemas bioelectroquímicos, así como el intercambio de protones. La mayoría de los estudios relacionados de electrosíntesis de metano trabajan a pH neutros, debido a que se muestran mayor estabilidad en los procesos, así como una gran diversidad de microorganismo electroactivos en

los electrodos. Para mantener el pH en el medio de trabajo, se necesitan el uso de sustancias amortiguadoras, así como un valor de alfa alcalinidad mayores 0.5 para evitar la caída de pH en los reactores por la acumulación de ácidos grasos, por otra parte, se deben evitar cambios bruscos de pH, debido que se ha visto que dañan la biopelícula de los electrodos de forma irreversible (Feng et al., 2018; Mohan et al., 2014).

1.5.4 Voltaje aplicado

La cinética de reacción para la producción de metano en los sistemas bioelectroquímicos se influenciada en gran medida por los voltajes aplicados en los electrodos, estos voltajes son suministrados por una fuente de poder. Mientras que cuando se habla de potenciales fijos, ya sea en el ánodo o cátodo, se realiza a través un potencióstato que con ayuda de un electrodo de referencia varía el potencial de un electrodo, para mantener fijo el potencial del otro. Si bien la mayoría de los estudios abordan fijar el potencial del cátodo para mejorar la producción de metano, esto debido que ahí se lleva principalmente la reducción de CO₂ a metano.

Estudios recientes han demostrado que al manipular el potencial del ánodo influye de forma significativa en la producción de metano, Villano et al. (2016) observó que la manipulación de esto potencial pasando de valores de -200 mV (respecto SHE) a -100 mV mejoró la remoción de acetato del medio y con ello aumentando la tasa de producción, además observó que los sobrepotenciales del cátodo eran menores. Por otra parte un estudio realizado por Gajaraj et al. (2017) con un voltaje 0.3 V mejoraba la producción de metano, además que el voltaje hizo que las arqueas hidrogenotróficas mostraran una alta actividad, mientras la utilización de un voltaje 0.6 V no mostró un aumento en la producción de metano, sino al contrario una disminución, esto debido a la acumulación de ácidos grasos en el sistema (Villano et al., 2016).

Otros estudios han demostrado que la mejor producción de metano se obtiene con voltajes cercanos a 1.0 V, sin embargo, operar a voltajes superiores 0.8 V provoca daño a la membrana celular de los microorganismos con lo que hay pérdida de la biopelícula y con ello la disminución de la producción de metano a largos tiempos de operación (Ding et al., 2015). No obstante bacterias como la *C. pasteurianum* y *Clostridia* soportan voltajes superiores de 1.2 V dando como resultado la producción de bioalcoholes como el butanol (Srikanth et al., 2018).

1.5.5 Ánodo y cátodo

El ánodo es un sitio clave en los sistemas bioelectroquímicos ya que es donde las bacterias exoelectrogénicas formarán la biopelícula que llevará a cabo la degradación del sustrato, así como la transferencia de los electrones. Generalmente la mayoría de los ánodos están hechos a base de carbono de diferentes formas (tela de carbón, grafito, cepillos de fibra de carbón, espuma, etc.), este material se utiliza debido a la biocompatibilidad con los microorganismos, a su conductividad, a su alta área de superficie, buena estabilidad química y por su bajo costo (Kishore et al., 2016; Navaneeth et al., 2015).

El cátodo es donde se llevan a cabo la reducción de CO_2 con los protones para la producción de metano. Generalmente este electrodo se trabaja de forma abiótica, sin embargo, se observado que arqueas metogénicas hidrogenotróficas pueden formar una biopelícula sobre el cátodo y llevar la reducción de CO_2 y H_2 a metano. Actualmente se han buscado maneras de mejorar la transferencia de electrones e incrementar la tasa de producción, entre las que podemos mencionar el recubrimiento del cátodo con nanopartículas metálicas, nano cable de níquel, para mejorar las propiedades catalíticas del cátodo. También se han utilizado biocátodos, por ejemplo, la tela de grafito bañada de algún tipo de metal, a pesar de ello, muestran menor eficiencia que los cátodos metálicos (Aryal et al., 2016; Kishore et al., 2016).

1.5.6 Área del ánodo

Si bien la adecuada selección un material altamente poroso y con ello una mayor área de superficie en el ánodo favorece la formación de una biopelícula robusta y la mayoría de los trabajos reportados no han tomado gran interés sobre buscar una estandarización de relación del área superficial del ánodo, ya sea respecto al volumen de reactor o área del cátodo, podría ser una de las razones de que los voltajes óptimos, densidades de corriente, así como las eficiencias coulombicas y energéticas varíen de un estudio a otro.

Estudios realizados en las celdas microbianas de combustible han arrojado que el cambio del área del ánodo puede afectar la densidad de corriente (Call et al, 2009). Un estudio realizado por Sangeetha et al. (2016) concluyó que al tener una relación de área de ánodo y cátodo adecuada se podían mejorar la eficiencia coulombica del sistema. Como podemos observar en la tabla 1.2 la mayoría de los estudios realizados trabajan diferentes relaciones área de ánodo y volumen de reactor lo que genera diferentes resultados, aunque los otros parámetros como inóculo, sustrato y temperatura sean semejantes. Un ejemplo podemos observar en el estudio de Li et al. (2019) donde una relación 261 m^2 de ánodo/ m^3 reactor género grandes densidades de corriente, la tasa de producción de metano fue baja siendo de $80 \text{ mL CH}_4/\text{L/d}$. Por otra parte Yin et al. (2016) utilizó una relación de 24 m^2 de ánodo/ m^3 reactor siendo 11 veces más pequeña, sin embargo su tasa de producción fue $800 \text{ mL CH}_4/\text{L/d}$, otro problema de utilizar áreas de ánodo muy grandes es que puede favorecer obstrucciones o fugas dentro del reactor, así como problemas de montaje y desmontaje del reactor a escalas piloto (Rousseau et al., 2020).

Tabla 1.2. Tabla comparativa sistemas bioelectroquímicos con diferentes relaciones de áreas de ánodo y volumen.

Tipo reactor	Volumen (L)	Sustrato	Inóculo	Material		Temperatura	m ² ánodo /m ³ reactor	Voltaje aplicado	J (A/m ² ánodo)	Q (mL CH ₄ /L*d)	Y (mL CH ₄ /g DQO)	Remoción DQO	% CH ₄ biogás	EC %	ne%	Referencia
				Ánodo	Cátodo											
Una cámara	0.7	Acetato de sodio	Lodo activado	Fibra de grafito	Acero inoxidable	35	14.57	0.5	0.303	60	100	75	*	39.8	112	(Guo, , et al., 2017)
								0.7	0.744	110	240	75	*	75.5	89.4	
								0.9	1.263	140	256.7	80	*	91.2	73.5	
Una cámara	0.3	Acetato de sodio	Lodo anaerobio	Escobillo de carbono	Escobillo de carbono	35	18.3	0.5	0.14	*	200	82	58.23	12	*	(Flores-Rodriguez et al., 2019)
								1	3.5	*	351	99.5	66.03	116	*	
								1.5	0.15	*	100	99.8	55.57	15	*	
Una cámara	0.13	Acetato de sodio	Lodo primario	Cepillo grafito	Tela carbono recubierto con platino	*	261	0.8	72 a/m ³	82	330	*	95±2	120-180	56	(Li et al., 2019)
Una cámara	0.35	Glucosa	Lodo anaerobio	Cepillo grafito	Cepillo grafito	35	12	1	4.6	*	340	85	52.7	*	*	(Lee et al., 2019)
Una cámara	0.25	Acetato de sodio	Lodo activado <i>Geobacter methanosarcina</i>	Fibra de grafito	Acero inoxidable	35	24	1	12.5	850	360	100	93	*	74.6	(Yin et al., 2016)
Una cámara	2.4	Ácido acético	Efluente un MFC	Cepillo grafito	Malla de acero inoxidable 34	*	4.5	0.9	1.48	116	*	46	92	*	101	(Rader y Logan, 2010a)
Una cámara	2.5	Lodo PTAR	Efluente un MEC	Filtro grafito	Filtro grafito	35	2.16	*	*	1.1 m ³ /m ³	104	42	57-67	*	34	(Ahn et al., 2017)
Una cámara	0.7	Glucosa	Efluente un MEC	Fibra de grafito	Malla de acero inoxidable	35	14.57	0.9	*	131	138	70	73.7	17.8	*	(Guo, Liu, et al., 2017)
SBR	20	Desechos de comida	Lodo anaerobio	Malla de grafito recubierta de Ni	Tela de grafito recubierta con Cu,Ni,Fe	35	4.5	0.3	*	850	340	76	65	*	*	(Park, Lee, Tian, et al., 2018)
UASB	1	Glucosa	Lodo anaerobio UASB	Grafito	Grafito	35	34	1	7.9	1118	*	89.2	*	42.9	*	(Peng et al., 2018)
BEAD	0.8	Desechos de comida	Lodo anaerobio mesofílico	STS304	STS304	35	78	0.3	3	880	350	70	*	34	85.6	(Bang et al., 2012)
MEC-ADO	0.18	Acetato de sodio	efluente un MEC	Filtro grafito	Acero inoxidable	30	11	0.2	138	629	*	100	*	*	66	(Yin et al., 2016)

1.6 Transferencia de electrones

Si bien es difícil descifrar los mecanismos exactos de transferencia de electrones, principalmente cuando se utilizan consorcios mixtos de microorganismos, a través de estudio de reactores con cultivos puros se ha podido distinguir tres mecanismos de transferencia que son: transferencia directa de electrones entre especies, transferencia de electrones mediada y la tercera forma sería transferencia de electrones de forma indirecta. No obstante, eso no quiere indicar que en los reactores esté ocurriendo solamente un tipo de transferencia, sino que pueden estar ocurriendo los tres de forma simultánea (Enzmann et al., 2018; Lovley, 2017).

La transferencia directa consiste en la capacidad de algunas especies de microorganismos de absorber los electrones de la superficie del electrodo y transferirlos a otros microorganismos (Fig. 1.6), entre las especies más conocidas que tiene esta capacidad pertenece a las bacterias del género *Geobacter*. Recientemente se ha visto una relación entre bacterias y arqueas, que hace una transferencia de electrones en forma sintrófica. La transferencia la realizan a través de filamentos conductores de las bacterias donde llevan los electrones a las arqueas para llevarla producción de metano (Kumar et al., 2017; Saratale, et al., 2017; Logan et al., 2019; Lovley, 2017).

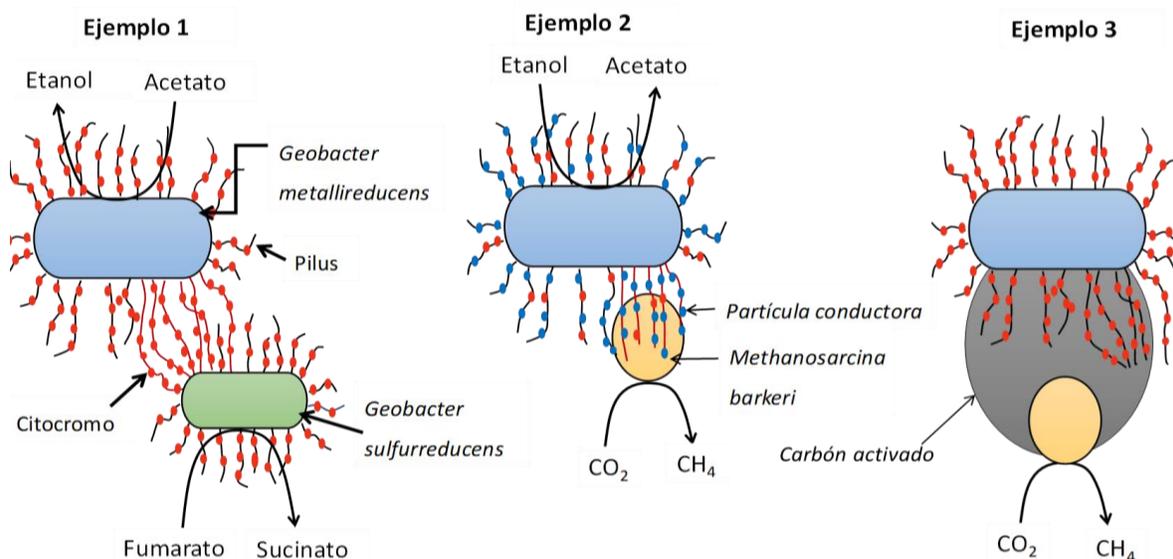


Figura 1.6 Transferencia de electrones directa entre microorganismos (Kumar, Saratale, et al., 2017).

La forma mediada puede llevarse a cabo a través de compuestos como las quinonas, que pueden secretar algunos microorganismos, estos compuestos serían las encargadas del intercambio de protones y electrones, sin embargo, estos mediadores son pocos adecuados para llevar la producción de metano. Por último, el mecanismo de transferencia indirecta se lleva a cabo la producción de hidrógeno en primer lugar y este posteriormente a través de arqueas hidrogenotróficas, que llevan la reducción del CO₂ e hidrógeno para la producción de metano (Logan et al., 2019; Lovley, 2017).

2. Hipótesis y objetivos

2.1 Hipótesis

Al aumentar el área del ánodo (con respecto al volumen del reactor) en un sistema bioelectroquímico de una cámara, se obtendrá una mayor producción de electrones a partir de la materia orgánica oxidada por la biopelícula electroactiva y esta cantidad de electrones extra aumentará la producción y concentración de metano en el biogás.

2.2 Objetivo general

Estudiar el efecto de diferentes áreas de ánodos en el desempeño de celdas microbianas de una cámara sobre la producción de metano utilizando un sustrato acidogénico sintético.

2.2.1 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la relación área ánodo y volumen de trabajo de una celda de electrólisis microbiana de una cámara sobre la tasa de producción y rendimiento de metano en el biogás.
- Caracterizar las comunidades microbianas que se generen en la biopelícula electroactiva debido a la utilización de diferentes áreas del cátodo.

2.2.2 Alcances

- Producción de hidrógeno y su utilización in situ por bacterias hidrogenotróficas para producir metano.
- Generar un biogás con concentraciones mayores del 80% de metano.
- Obtener remociones superiores del 90% de la materia orgánica del agua residual.

3. Metodología

3.1 Estrategia experimental

La estrategia experimental que se realizó en este estudio se presenta en la Fig. 3.1. Para la parte operacional se emplearon seis reactores bioelectroquímicos de cámara única que se operaron de forma independiente cada uno, se utilizaron dos reactores de control y cuatro reactores para evaluar el efecto de la relación área de ánodo y volumen de reactor, estos reactores fueron operados tipo batch. Todos los reactores fueron inoculados y alimentado con el mismo inóculo y sustrato. La estrategia experimental la podemos dividir en tres etapas: reactores (etapa1), operación (etapa 2) y evaluación (etapa 3).

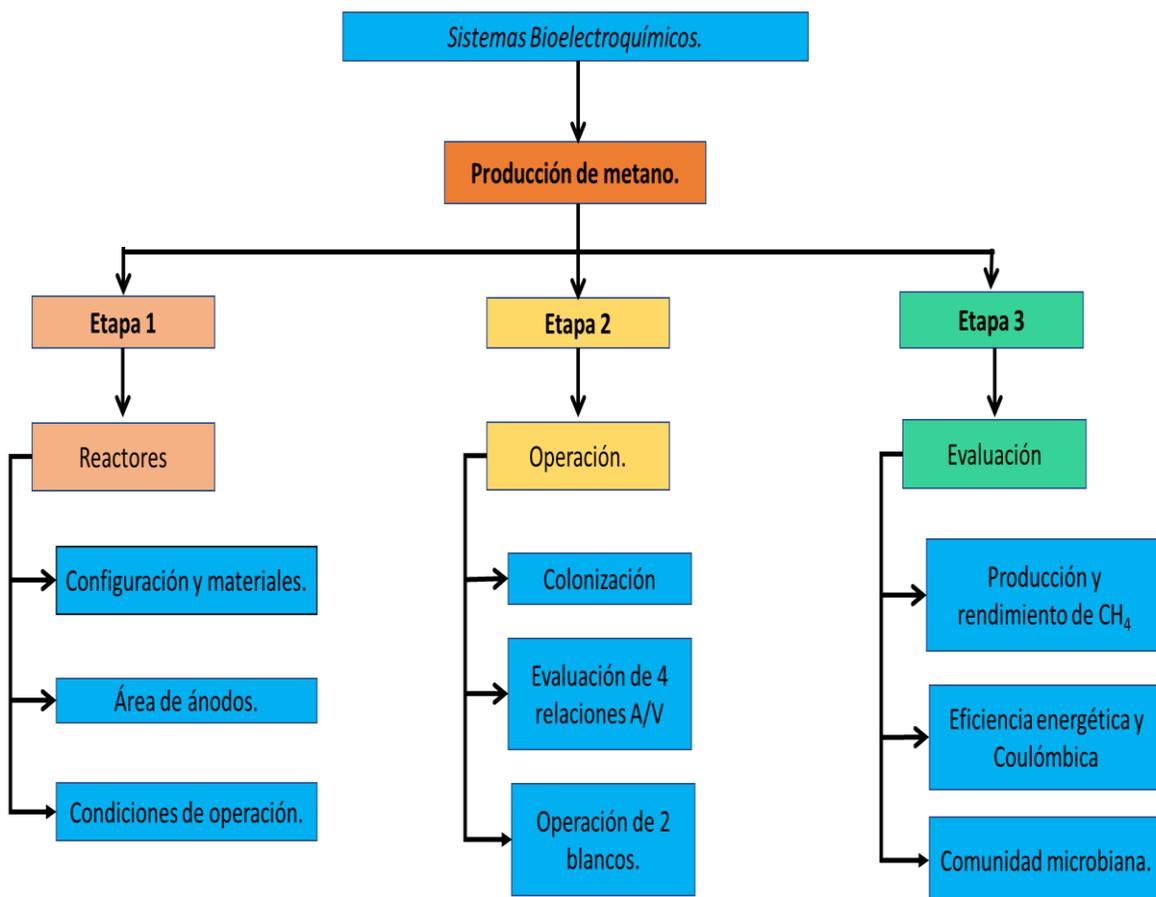


Figura 3.1 Estrategia experimental para el estudio del efecto del área del ánodo en la producción de metano.

En la primera etapa se diseñaron y construyeron los reactores, y se seleccionaron los electrodos a utilizar en la experimentación, al mismo tiempo se realizó el montaje y se llevaron a cabo pruebas hidráulicas para verificar la hermeticidad de los reactores. Durante la etapa 2 se realizó la colonización de los electrodos para formar las biopelículas sobre la superficie de los electrodos, como fuente de inóculo se utilizó lodo granular anaerobio y una vez que se alcanzó la estabilidad (3 ciclos de densidades de corriente similares) en los reactores se procedió a retirar el inóculo. Es importante mencionar que para los controles el lodo granular anaerobio se mantuvo durante toda la operación de estos. Después de obtener las biopelículas electroactivas estables y robustas se evaluaron diferentes áreas proyectadas para el ánodo manteniendo fija el área del cátodo y el volumen de trabajo. Para evaluar el desempeño de los reactores se realizaron mediciones de remoción de materia orgánica, medición de metano generado por ciclo, densidad de corriente y los metabolitos generados. La etapa 3 de la experimentación consistió en la evaluación de los datos obtenidos para determinar el desempeño de los reactores a través del de la tasa de producción y rendimiento de metano, eficiencia energética, eficiencia coulombica y la remoción de materia orgánica. Al final de la operación de los reactores bioelectroquímicos se realizó un análisis de la comunidad microbiana de los electrodos para determinar las posibles rutas metabólicas que pudieron suceder en los reactores.

3.2. Reactores bioelectroquímicos de una cámara

Se construyeron seis celdas microbianas cilíndricas de una cámara fabricadas de acrílico con un volumen total de 500 mL y un volumen de trabajo de 450 mL (Fig. 3.2). En la parte inferior de cada reactor está situada la salida líquida para un recambio total. En parte superior de cada uno de los reactores se contaba con dos muestreadores, uno para muestra líquida y otro de muestra gaseosa (mangueras de 6 mm de diámetro unidas a válvulas de tres vías). En la parte superior se encontraban dos entradas: una para el tapón de silicón con el alambre de titanio donde se colocaron los electrodos y otra para el tapón de silicón con el puente salino y el electrodo de referencia de Ag/AgCl (Fig. 3.3).

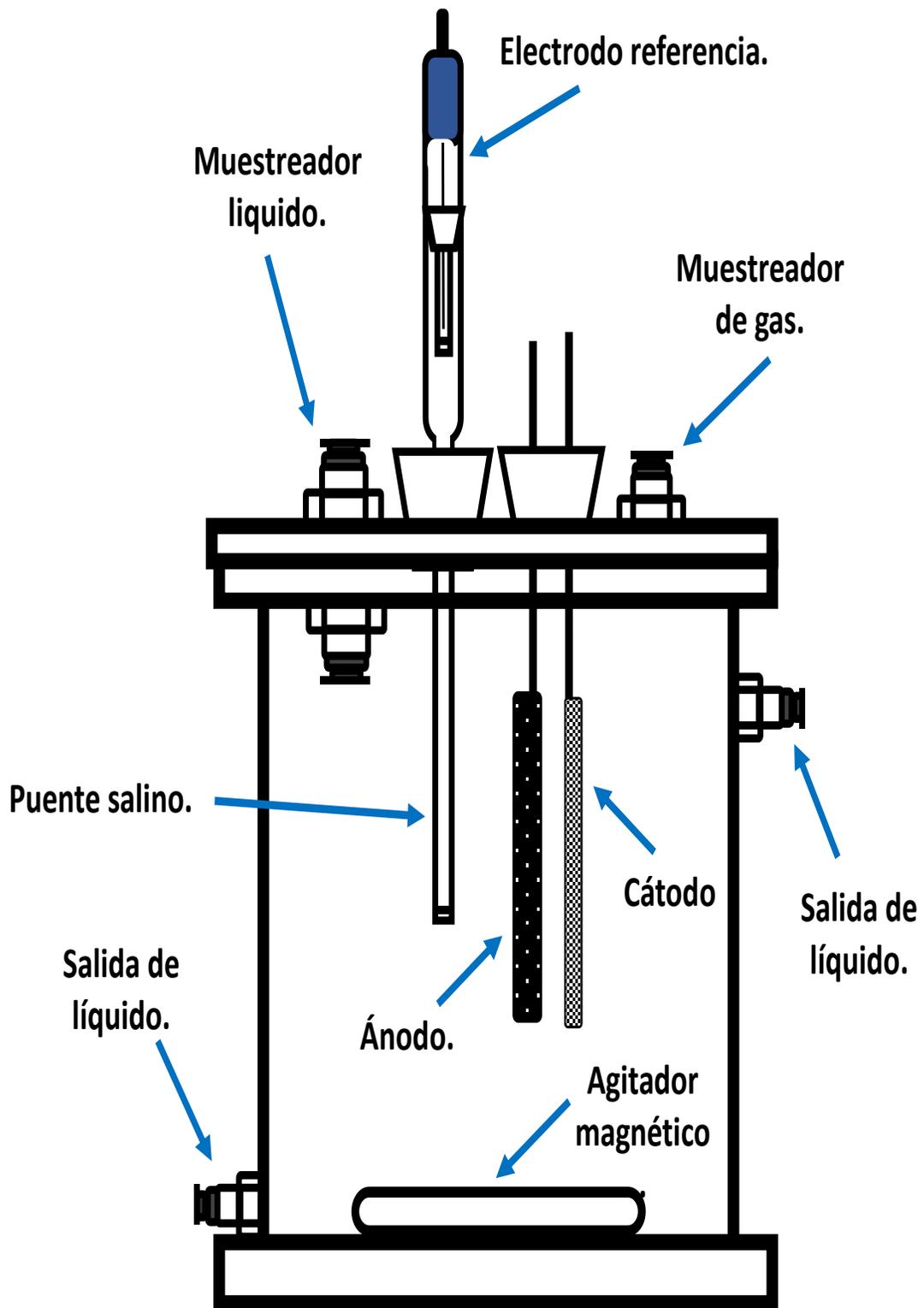


Figura 3.2 Esquema de un reactor de cámara única con todos sus componentes.

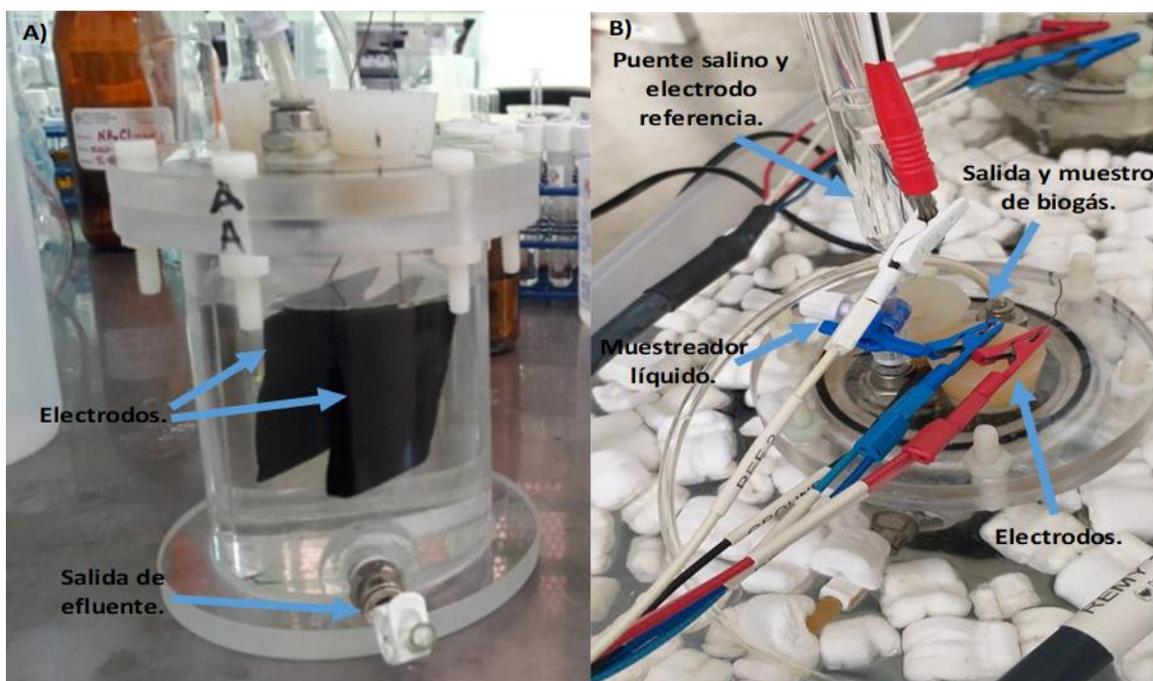


Figura 3.3 Configuración de los reactores de una cámara. A) Vista lateral del reactor. B) Vista superior del reactor conectado al potenciostato.

Se utilizó como material para el cátodo espuma de níquel (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri) con una pureza del 95% y una dimensión de 5 cm x 5 cm con un grosor de 1.6 mm, con un área proyecta de 53.2 cm² (Fig. 3.4C). Como material conductor y de conexión se utilizó alambre de titanio (99.99%, Sigma Aldrich, St Louis, MO) de 0.5 mm de diámetro y con una resistencia de 42 $\mu\Omega$. Mientras el ánodo utilizado fue fieltro de grafito grado WDF (Brunssen de Guadalajara, México) con un contenido de carbono del 99.9% y una resistencia eléctrica de 1-3 Ω (Fig 3.4A).

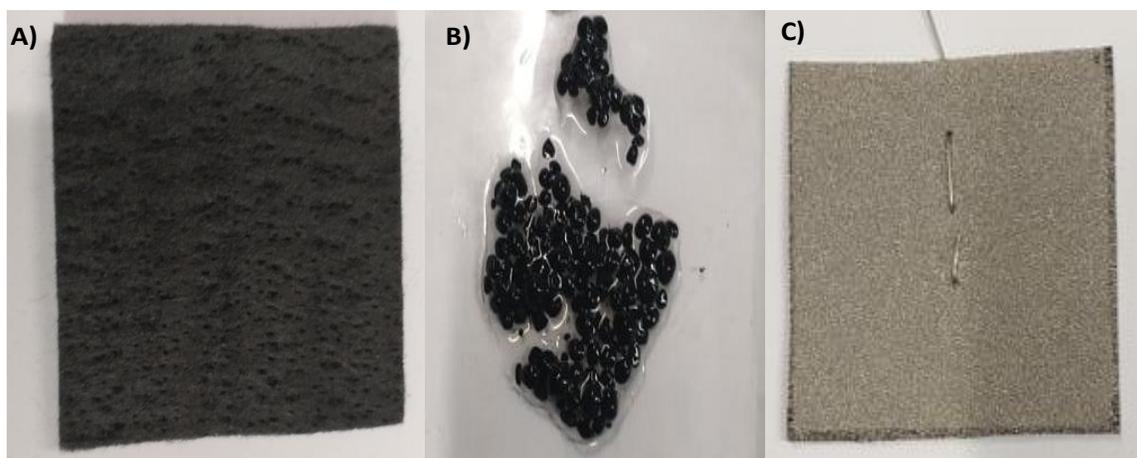


Figura 3.4 A) Ánodo: Filtro de grafito; B) lodo anaerobio; C) Cátodo: Espuma de níquel.

3.3 Arranque y operación de los reactores bioelectroquímicos

La estrategia experimental contempló dos reactores como blancos de control, el primer control (B1) consistió en un reactor sin electrodos únicamente con lodo granular anaerobio y sustrato de alimentación, mientras el segundo reactor de control (B2) era un reactor equipado con los electrodos, lodo granular anaerobio en circuito abierto.

Cuatro reactores fueron equipados con cuatro áreas proyectadas de ánodo: 60, 115, 170 y 225 cm² (Tabla 3.1), el área proyectada del cátodo se mantuvo fija en 53.2 cm² y el volumen de trabajo se fijó en 450 mL. La estrategia experimental aplicada a los reactores bioelectroquímicos con las 4 diferentes relaciones área/volumen consistió en fijar el potencial anódico en 500 mV con referencia a un electrodo de Ag/AgCl (3.0 M KCl, +210 mV vs SHE, Radiometer Analytical), los electrodos se conectaron a un potencióstato/galvanostato VSP Z-01 (BioLogic Science Instruments, Francia) (Fig. 3.4) Se utilizó el programa Ec Lab v11.18 para la adquisición de datos.

Tabla 3.1. Áreas experimentales empleadas en los reactores bioelectroquímicos.

Reactor	Ánodo			Área		Relación	
	Ancho (cm)	Largo (cm)	Grosor (cm)	Ánodo (cm ²)	Cátodo (cm ²)	área ánodo (m ²) / volumen reactor (m ³)	área ánodo (m ²) / área cátodo (m ²)
B1	-	-	-	-	-	-	-
B2	5	10	0.5	115	53.2	25.6	2.2
A	5	5	0.5	60	53.2	13.3	1.1
B	5	10	0.5	115	53.2	25.6	2.2
C	5	15	0.5	170	53.2	37.8	3.2
D	5	20	0.5	225	53.2	50	4.2

Para la formación de biopelículas de los electrodos se inocularon los reactores bioelectroquímicos con 20 g/L (peso húmedo) de lodo granular anaerobio proveniente de un reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) empleado para el tratamiento de aguas residuales provenientes de una harinera. El efluente sintético tuvo la siguiente composición: 4.58 g/L Na_2HPO_4 , 2.45 g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.31 g/L NH_4Cl , 0.13 g/L KCl , 10 mL de solución oligoelementos y 5 mL de solución de vitaminas. Como fuente de carbono se utilizó una mezcla de ácidos grasos volátiles (30% acetato, 57% butirato y 13% propionato) simulando un efluente acidogénico a una concentración de 2 g DQO/L. Las pruebas experimentales fueron realizadas a 30 ± 2 °C y se mantuvieron en agitación constante a 125 rpm empleando una barra magnética y una parrilla. En los reactores bioelectroquímicos el inóculo se mantuvo dentro hasta que se obtuvieron densidades de corriente similares durante tres ciclos continuos y posteriormente se retiró. El lodo granular no fue retirado de los reactores de control durante toda su operación.

La solución de oligoelementos contenía la siguiente composición (g/L): MgSO_4 3.0; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.5; NaCl 1.0; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1; ZnCl_2 0.13; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.01; $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.01; H_3BO_3 0.01; Na_2MoO_4 0.025; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.024; $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.025. La solución de vitaminas se formuló de la siguiente manera (mg/L): biotina 2.0; ácido fólico 2.0; clorhidrato de piridoxina 10.0; riboflavina 5.0; tiamina 5.0; ácido nicotínico 5.0; ácido pantoténico 5.0; B12 0.1; ácido p-aminobenzóico 5.0 y ácido tiónico 5.

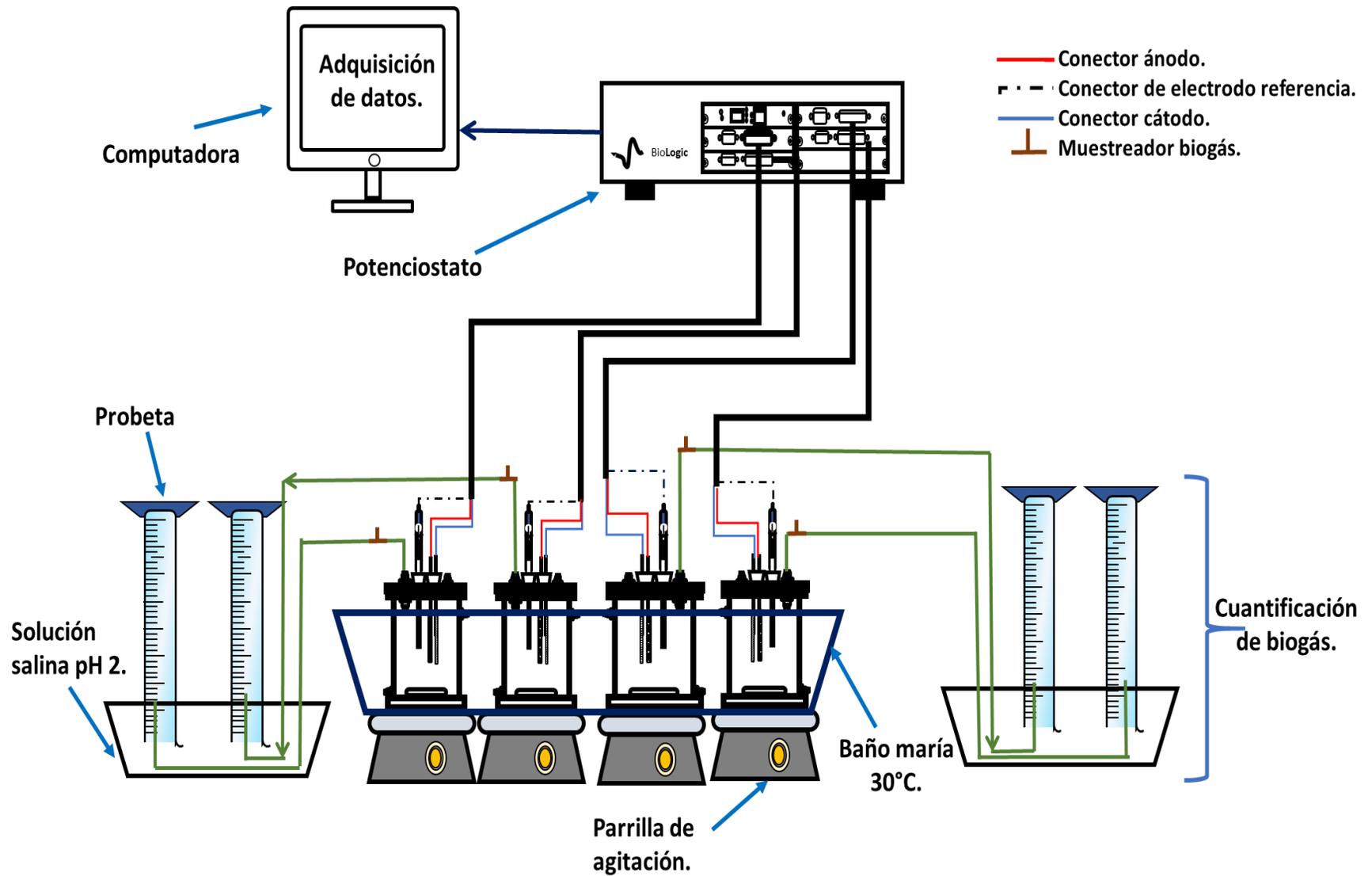


Figura 3.5 Diagrama del montaje experimental.

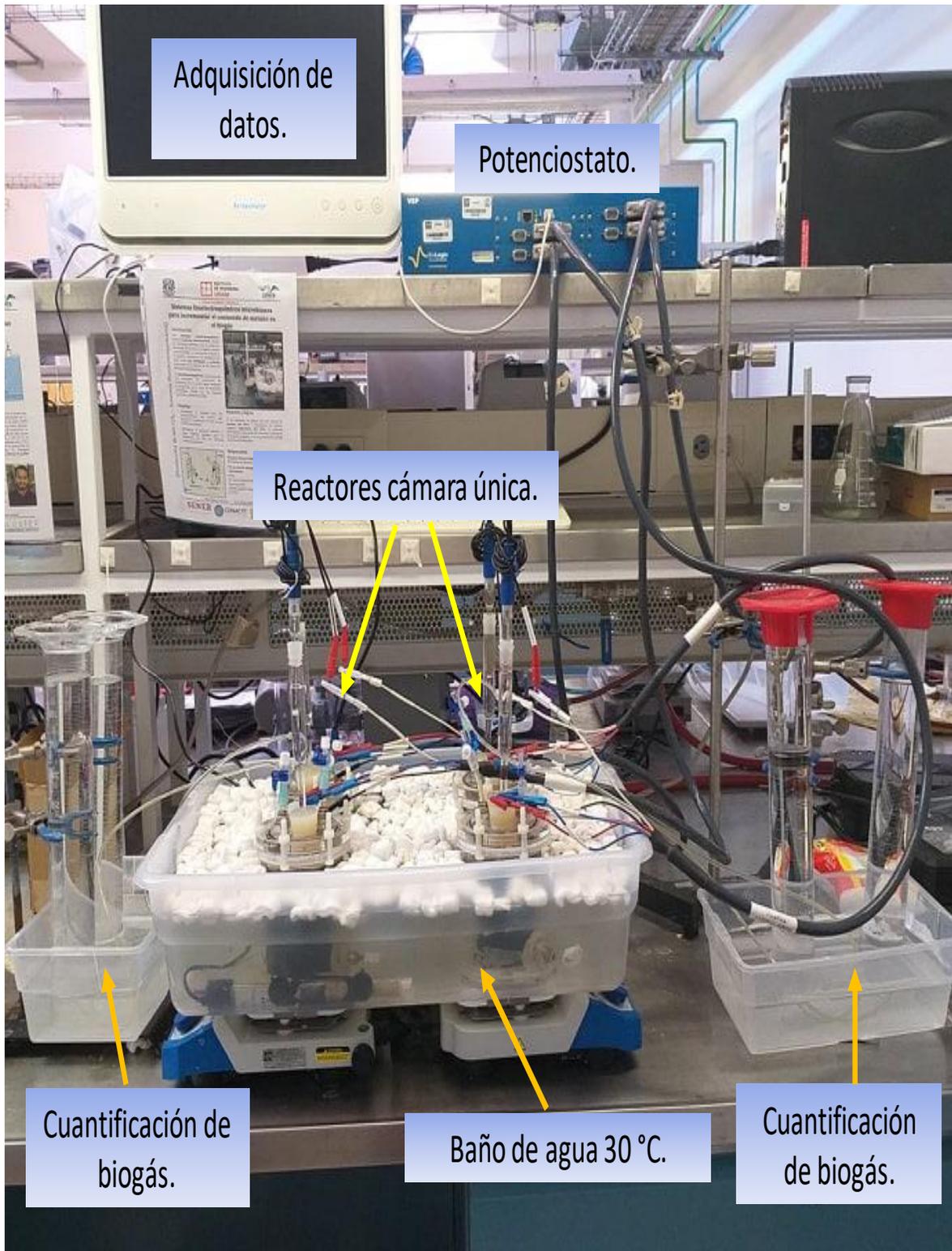


Figura 3.6 Arreglo experimental en laboratorio.

3.4 Técnicas analíticas

3.4.1 Determinación de DQO

Para la determinación de la demanda química de oxígeno se realizó a través del método de colorimetría por reflujo cerrado, utilizando tubos HACH. Los tubos utilizados fueron de un rango de medición 200 a 1500 mg DQO/L. A cada vial se le adicionaron 2 mL de la muestra, utilizando diluciones 1:4 para la alimentación y para los efluentes diluciones 1:2.

Posteriormente los tubos se colocaron en el reactor de digestión precalentado a una temperatura de 150 °C, se mantendrá en digestión por 2 horas. Después de la digestión se retiraron los tubos y se dejaron enfriar por 30 minutos en oscuridad. La lectura se realizó en espectrofotómetro HACH en el programa 435. Con ello se obtuvo el valor de la demanda química de oxígeno en mg O₂/L, los valores obtenidos se multiplicaron por su valor de dilución correspondiente.

3.4.2 Determinación de AGV

Para la determinación de solventes y ácidos grasos volátiles (AGV) en la fase líquida se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 7890B) equipado con un detector de ionización de flama (FID) y utilizando una columna DB-FFAP (15 m x 530 µm x 1 µm, Agilent). Las condiciones de operación fueron las siguientes: la temperatura inicial del horno fue de 60 °C y se incrementó a 90 °C a una tasa de 15°C/min, posteriormente la temperatura aumentó a 170 °C a una razón de 25 °C/min; la temperatura del inyector fue de 190 °C y la del detector 275 °C; el gas portador fue nitrógeno. A cada reactor se le tomo una muestra 10 mL del medio de salida una vez finalizado el ciclo de trabajo, las muestras se acidificaron a un pH menor a 2 con una solución 8 N de HCl y se conservaron en un refrigerador a temperatura de 4 °C. Para preparación de la muestra se filtró con papel Whatman de nitrocelulosa de 0.45 µm, posteriormente se realizaron diluciones 1 a 2 con agua desionizada acidificada a pH 2.

3.4.3 Determinación de la composición del biogás

Para la cuantificación del biogás producido se utilizó el método de probeta invertido, con una solución de cloruro de sodio a un pH 2 para evitar que el biogás producido

sea absorbido por el agua. El desplazamiento se medirá en intervalos de una hora posteriormente estos valores se biogás se corrigieron en condiciones estándar (213.5 K y 1 atm). Para la determinación de la composición del biogás se tomó 5 mL de biogás con ayuda de una jeringa y a través de una válvula de tres vías que se encontraba en salida del biogás.

Se determinó la composición del biogás mediante cromatografía de gases empleado un cromatógrafo SRI8610C con dos columnas de acero inoxidable. La primera columna tiene una longitud de 1.8 m por 1/8 de pulgadas rellena de sílice de gel 6x y la segunda tenía una longitud 1.8 por 1/8 de pulgada empacada con un tamiz molecular 13x. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador con una presión de 35 psi con un flujo de entrada de 20 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo durante 4 minutos a 40°C y se fue incrementando 110 °C y se mantuvo por 1 minuto. Las áreas que se adquirieron se introdujeron en un archivo de Excel, que junto con las áreas de los estándares se procedió a calcular el porcentaje de CH₄, H₂ y CO₂ que contenía el biogás generado en cada uno de los reactores.

3.5 Técnicas electroquímicas

3.5.1 Cronoamperometrías y voltametría cíclica

Las cronoamperometrías y voltametría cíclica se ejecutaron con un potencióstato/galvanostato VSP Z-01 (BioLogic Science Instruments, Francia). Las voltametrías cíclicas se realizaron con velocidades de barrido de 1 y 10 mV/s, los potenciales anódicos estuvieron referenciados a un electrodo de Ag/AgCl (3.0 M KCl, +210 mV frente al electrodo estándar del hidrógeno (SHE), Radiometer Analytical), estas voltametrías se realizaron en el ciclo inicial y final de operación de los reactores. Utilizando como electrodo de trabajo el fieltro de grafito y la espuma de níquel como contraelectrodo. La cronoamperometría se realizó durante todo el tiempo de operación de los reactores.

3.6 Cálculos

3.6.1 Densidad corriente

La medición de la densidad de corriente se calculó a partir de los datos adquiridos por el potencióstato y se puede reportar de dos formas como se muestra a continuación:

$$j_A = I/A \text{ y } I_V = I/V \quad \text{Ec. 3.1}$$

Donde I es la corriente eléctrica, A es el área superficial del electrodo de trabajo y V es el volumen de trabajo del reactor. La cantidad de amperes generados en los reactores se obtuvieron a través del programa Ec Lab v11.18.

3.6.2 Tasa de producción y rendimiento de metano

Los volúmenes de metano se normalizaron a condiciones estándar (273.15 K y 1 atmósfera). La producción volumétrica de metano (Q , mL CH₄/L/d) se evaluó ajustando los datos experimentales al modelo de Gompertz modificado:

$$H = H_{max} \exp \left(- \exp \left(\frac{R_{max} x e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right) \right) \quad \text{Ec. 3.2}$$

Donde H corresponde a la producción acumulada de CH₄ (mL), H_{max} a la producción acumulada máxima de CH₄ en (mL), R_{max} la tasa de producción máxima de CH₄ en (mL/h), t el tiempo del cultivo en (h), λ el tiempo de latencia en (h) y e es el número exponencial.

Mientras que el rendimiento es la cantidad de metano producido a partir de la concentración de sustrato utilizado en la celda. Para calcular este valor cuando se tiene compuesto conocido y simple se parte de una base molar expresada en la siguiente ecuación:

$$Y_{CH_4} = \frac{n_{CH_4}}{n_S} \quad \text{Ec. 3.3}$$

Donde n_{CH_4} son los moles de metano producido y n_S son los moles de sustrato consumidos. Esto a su vez para calcular los moles de metano producidos se debe aplicar la ley de los gases ideales modificando la ecuación anterior.

Sin embargo como se mencionó anteriormente la ecuación es utilizada cuando se trabajan con sustratos simples como la glucosa y acetato por ejemplo, pero cuando se trabaja con compuestos complejos como las aguas residuales es muy complicado encontrar el peso molecular de los mismos, por ellos se hace modificaciones mayores como el cambio de moles a masa y la concentración de sustrato a concentración de DQO que un término más utilizado para cuantificar la carga orgánica de un efluente realizando estos ajustes la ecuación queda de la siguiente manera:

$$Y_{CH_4} = \frac{V_{CH_4} P M_{CH_4}}{RT \Delta DQO} \quad \text{Ec. 3.4}$$

Donde V_{CH_4} es el volumen de metano producido, P es la presión del lugar donde se está recolectando el gas, M_{CH_4} es el peso molecular del metano, R es la constante de los gases ideales expresada en 0.08314 L bar/K mol, la T es la temperatura del ambiente expresada en grados K y ΔDQO es la diferencia de la demanda química de oxígeno de la entrada y salida del reactor cada ciclo de trabajo.

3.6.3 Eficiencia coulombica

La eficiencia coulombica es la fracción de energía eléctrica generada en la celda a partir del consumo del sustrato (Logan, 2006). Su medición permite comparar el desempeño de la celda de trabajo con otras semejantes (Galicía, 2016):

$$\epsilon_c = \frac{C_p}{C_T} * 100 \quad \text{Ec. 3.4}$$

Donde C_p son el de Coulombs generados en un tiempo determinado, C_T es la cantidad de Coulombs que están disponibles de la DQO, la cual a su vez fue calculada a partir de la siguiente ecuación:

$$C_T = \frac{F n_{O_2} V \Delta DQO}{M_{O_2}} \quad \text{Ec. 3.4}$$

Donde F es la constante de Faraday (96 485 C/mol de electrones), n_{O_2} fu el número de electrones intercambiados por mol de oxígeno, V el volumen de la celda, ΔDQO es la diferencia al inicio y al final de la DQO durante todo el ciclo.

3.6.4 Eficiencia energética

Es la relación de la energía de salida entre la energía de entrada. Conocida como eficiencia energética eléctrica que se puede calcular de la siguiente forma:

$$n_E = \frac{w_{CH_4}}{W_E} = \frac{n\Delta G_{CH_4}}{V \int_0^t I dt} \quad \text{Ec. 3.4}$$

Donde W_{CH_4} es la energía recuperada como metano, W_E es la energía eléctrica aplica al sistema, n los moles de metano producidos en el tiempo t .

La eficiencia energética general ($\eta_{\epsilon+s}$) se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$n_E = \frac{w_{CH_4}}{W_E + W_s} = \frac{n\Delta G_{CH_4}}{V \int_0^t I dt + \Delta COD \Delta H_s} \quad \text{Ec. 3.5}$$

Donde W_s es la cantidad de energía química consumida y ΔH_s es la entalpia determinada para el acetato ($\Delta H_s = -870.28 \text{ kJ/mol}$) (Call and Logan 2008).

3.6.5 Análisis estadístico

Las variables de respuesta evaluadas fueron la tasa de producción, rendimiento de metano, eficiencia coulombica, eficiencia energética y remoción de materia orgánica, sin embargo, al realizar la prueba de normalidad los datos arrojaron que no tiene una distribución normal (anexo 1). Por lo que se decidió utilizar el método de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc Bonferroni. La utilización el método Kruskal-Wallis y la prueba post hoc Bonferroni son las equivalentes no paramétricas del Anova y no necesitar partir de que los datos provengan distribución normal. Se usó un valor de significancia de (α) 0.05. El factor categórico que se consideró fue las diferentes relaciones probadas de área/ volumen de reactor y los dos controles. Para este análisis, se consideró los valores de p , al tener valores menores o iguales a α , se considera que la variable de respuesta se modificó con relación causal al factor categórico. Por otro lado, al encontrar valores mayores a α , se considera que las variables no fueron modificadas por el aumento del área de superficie del ánodo.

3.7 Análisis de la comunidad microbiana de los electrodos

Para realizar el estudio de las comunidades microbianas de los electrodos, al finalizar la operación se procedió a realizar un raspado de la superficie del ánodo y cátodo. La extracción del ADN genómico se realizó utilizando un kit Power Soil DNA Extraction (Mo Bio Laboratories, Inc. Carlsbad, CA, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para la medición de la concentración del ADN se realizó a través de espectrofotometría utilizando un NANODrop 2000c (Thermo Scientific, EE.UU). Las muestras fueron enviadas para su análisis al Research and Testing Laboratory (Lubbock, TX, EE.UU.), para la realización de una secuenciación masiva del gen ADNr 16S utilizando Illumina miSeq. Los primers utilizados fueron 28F (GAGTTTGATCCTGGCTCAG) y 519r (GTATTACCGCGGCGAGCTGGCAC) para amplificar la región V1-V2 en las bacterias, mientras que para las arqueas se utilizaron los primers 517F (GCCAGCAGCCGCGGTAA) y 909R (CCTATCCCCTGTGCCTTGGCAGTGTCTAG) para la amplificación de la región V4-V5. Con los resultados enviados de laboratorio se procedió a realizar un filtrado (eliminación de secuencias quimeras y mala calidad) y análisis de secuencias utilizando el software RStudio (v.1.0.1.5), utilizando los algoritmos contenidos en la paquetería DADA2, el análisis de los datos se realizó siguiendo las recomendaciones y metodología expuesta por Callahan et al. (2016).

3.8 Operación a largo plazo de la espuma de níquel

Se realizó una evaluación del desempeño de la espuma de níquel como cátodo en los reactores bioelectroquímicos productores de metano. Se analizaron 3 diferentes electrodos de espuma de níquel, el primero fue espuma de níquel nueva, el segundo fue obtenido de un reactor al final de 180 días de operación y el último electrodo fue un cátodo recuperado el cual fue previamente limpiado. El procedimiento de limpieza consistió en sumergirlo en una solución de HCl 8 M y aplicarle ultrasonido por 60 min, posteriormente fue enjugado con agua desionizada y almacenado en etanol 98% (Cardeña, 2018). A las tres muestras de espuma de níquel se les realizó una voltametría cíclica como se describió con anteriormente en la metodología.

4 Resultados

4.1 Colonización de electrodos

La formación de la biopelícula (adherencia de microorganismos en los electrodos) se llevó a cabo a través de una doble selección, la primera se dio a través de la capacidad de los microorganismos para utilizar el sustrato como fuente de energía y la segunda selección proviene de la adaptación de estos al potencial de 500 mV aplicado al ánodo. Además hay que recordar que los microorganismos exoelectrógenos pueden llegar a representar solamente entre 0.26% y 7.7% de toda la comunidad del inóculo, por lo que puede aumentar el tiempo necesario para el desarrollo de la biopelícula (Alzate-Gaviria et al., 2010).

El aumento de densidad de corriente en los reactores con áreas superficiales específicas de $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ se observó desde los primeros 15 días de operación, indicando que los microorganismos electroactivos se empezaron adherir a los electrodos. Mientras que para los reactores con áreas superficiales específicas de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ tuvieron un incremento de densidad de corriente a partir del día 7 de operación, sin embargo, los 4 reactores mantuvieron constante la densidad de corriente a partir del día 25 de operación (Fig. 4.1).

Este tiempo de inicio de actividad electroactiva por parte microorganismo es similar a la reportada por Kondavee y col. (2015), donde observaron actividad a partir del día 18 de operación. El primer ciclo de operación de los reactores de $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ tuvo una duración de 19 días, posteriormente los ciclos se fueron reduciendo, pasando de 72 horas hasta estabilizarse a ciclos de 48 horas en la etapa de operación. Por su parte los reactores de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ tuvieron un ciclo inicial de 12 días, posteriormente los ciclos se estabilizaron a 30 horas. El inóculo se retiró de los 4 reactores después de obtener los 3 ciclos de densidad de corriente similares (Ren et al., 2014). De igual forma podemos observar una disminución densidad de corriente, esto puede ocurrir por el crecimiento de microorganismo electrotróficos como del género *Desulfovibrio*, *Clostridium*, etc., que pueden llevar el secuestró de electrones para producción de otros compuestos como sulfatos o nitritos (Alzate-Gaviria et al., 2010; logan et al 2019).

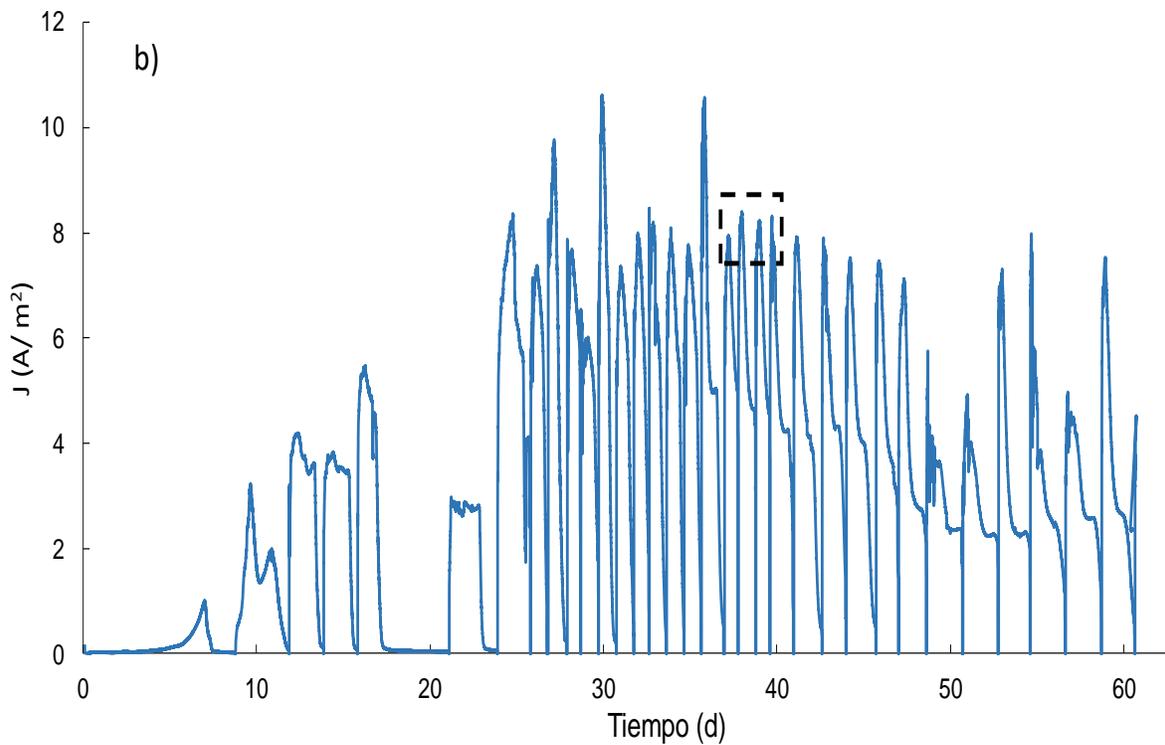
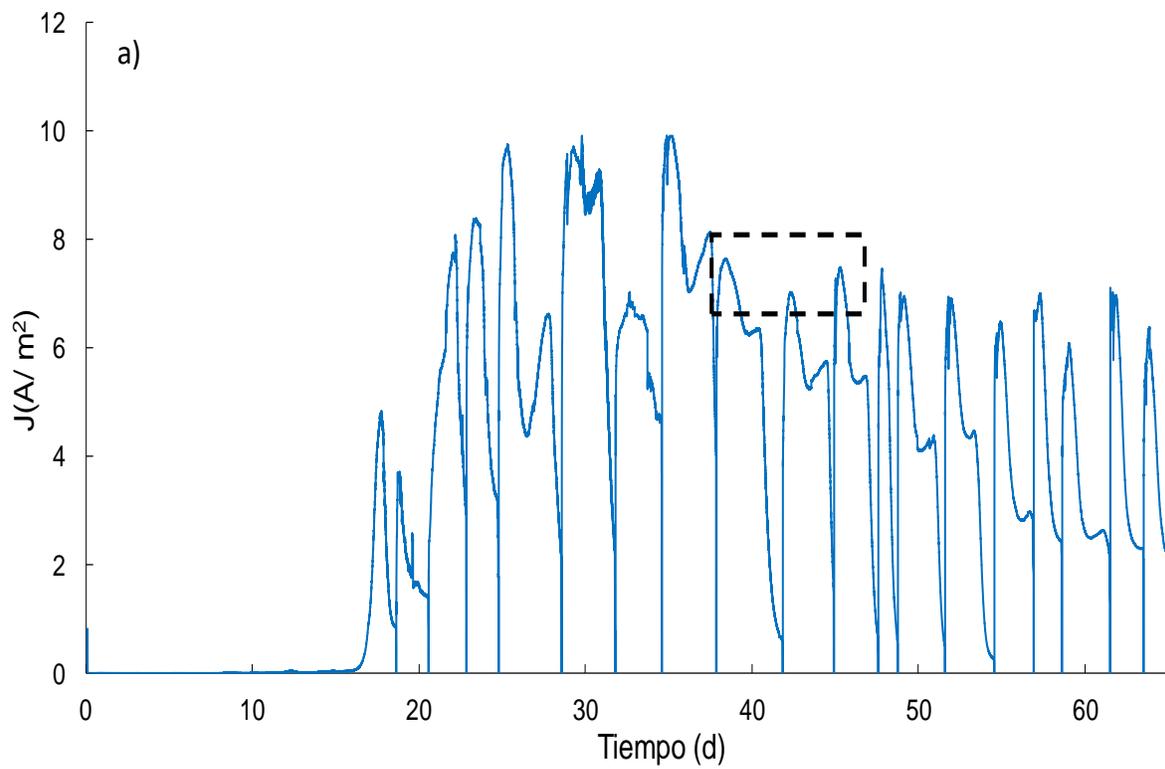


Figura 4.1 Cronoamperometrías obtenidas de los reactores a) $25.6\text{m}^2/\text{m}^3$ b) $50.0.\text{m}^2/\text{m}^3$.

4.2 Desempeño del sistema bioelectroquímicos

4.2.1 Composición del biogás

Después de 15 y 20 días de operación de los reactores (Fig. 4.2 y Fig.4.4) generaron un biogás que contenía principalmente CO_2 (70%-80%), esto pudo suceder a que el inóculo inicial se estaba aclimatando al sustrato utilizado en la experimentación, posteriormente la concentración de metano fue aumentando hasta alcanzar un biogás con 70% de metano en su composición, indicando la actividad de microorganismos metanogénicos. Una vez que se alcanzaron en todos los reactores tres ciclos similares de densidad corriente, se procedió a retirar el inóculo de ellos.

No obstante una vez que se retiró el inóculo, el biogás producido en los reactores, la concentración de metano disminuyó de forma drástica pasando de un 70% de la composición del biogás a un 2% de este, mientras que la concentración de hidrógeno incremento; esto nos indicaría que la producción del metano provenía principalmente del inóculo y no de la biopelícula formada en los electrodos. Esto puede estar relacionado con las diferentes tasas de crecimiento de las arqueas y bacterias, mientras especies del género *Methanosaeta* y *Methanosarciana* puede tener tasas de 0.43 d^{-1} y 0.12 d^{-1} , respectivamente. Algunas especies del género *Geobacter* pueden alcanzar tasa de crecimiento de 2.54 d^{-1} , siendo hasta 20 veces más rápidas que las arqueas (Conklin et al., 2006; Holmes et al., 2013). Se alcanzó hasta una concentración de un 75% de hidrógeno en el reactor de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ siendo la más alta lograda en los reactores, estas concentraciones son superiores a las reportadas por Lee et al., (2019) donde obtuvieron inicialmente concentraciones de 45% de hidrógeno en su biogás por los primeros 10 de operación de sus reactores utilizando como sustrato glucosa. Este comportamiento se mantuvo aproximadamente por 15 días de operación en los cuatros reactores, posteriormente la concentración de CH_4 fue aumentando hasta presentar un comportamiento estable a partir del día 70 de operación en todos los reactores, esta estabilidad pue se mantuvo hasta el final de operación de los reactores.

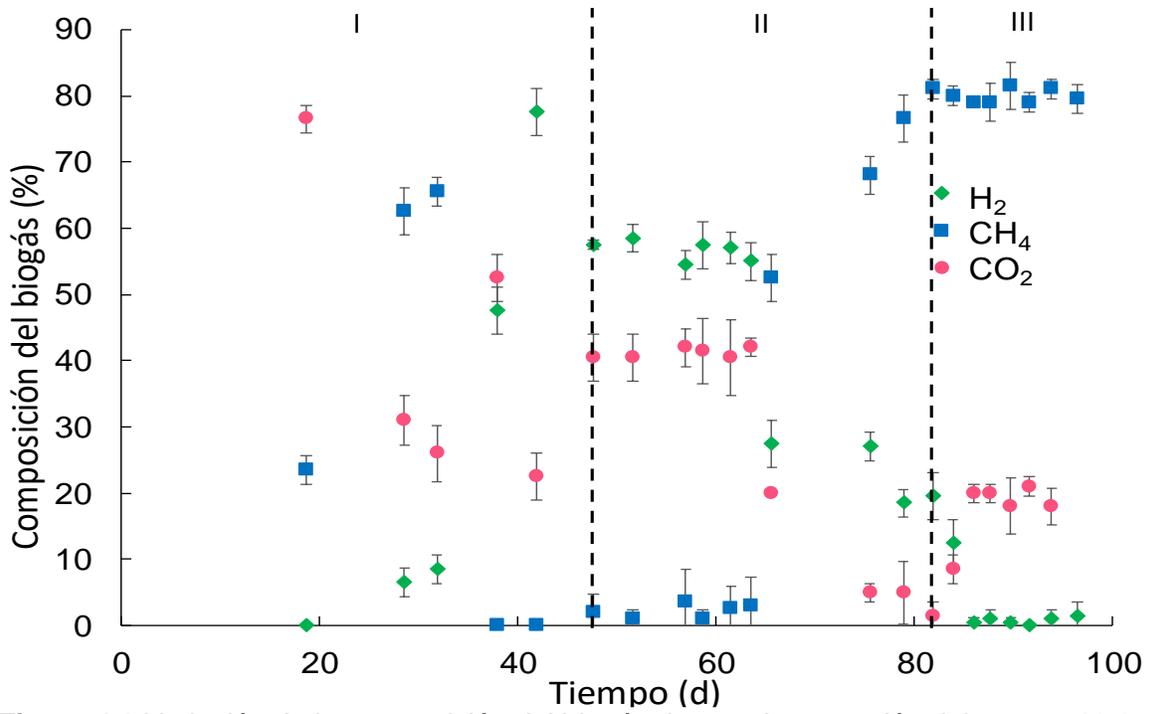


Figura 4.2 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 13.3 m²/m³.

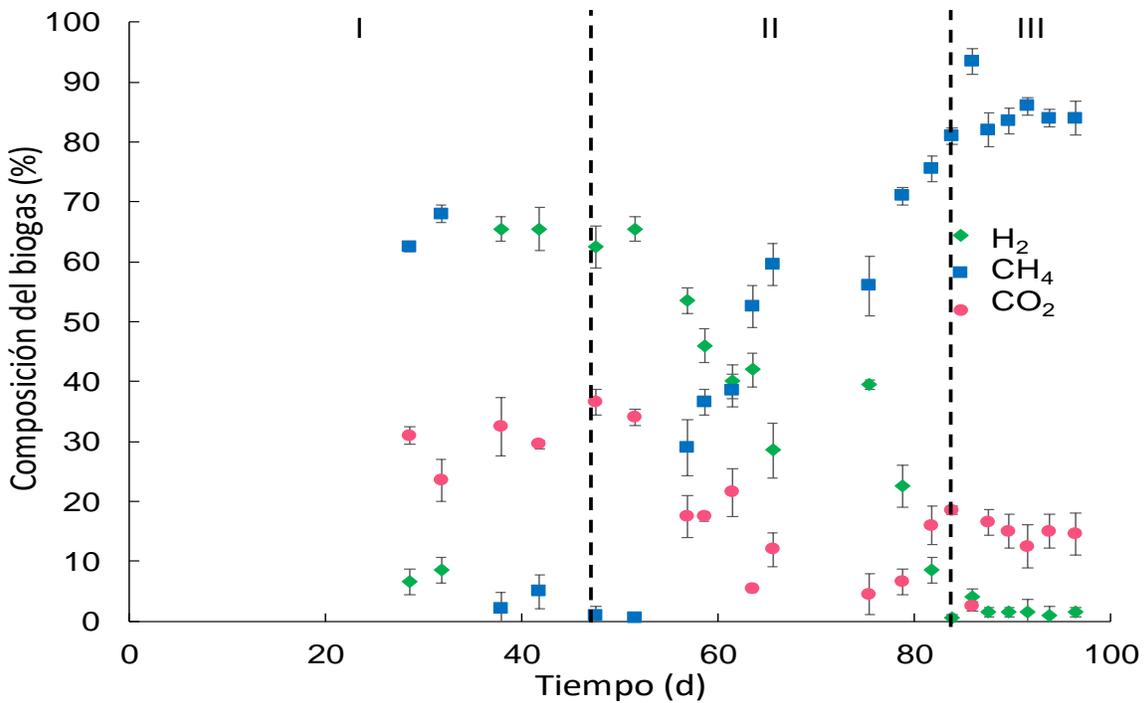


Figura 4.3 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 25.6 m²/m³.

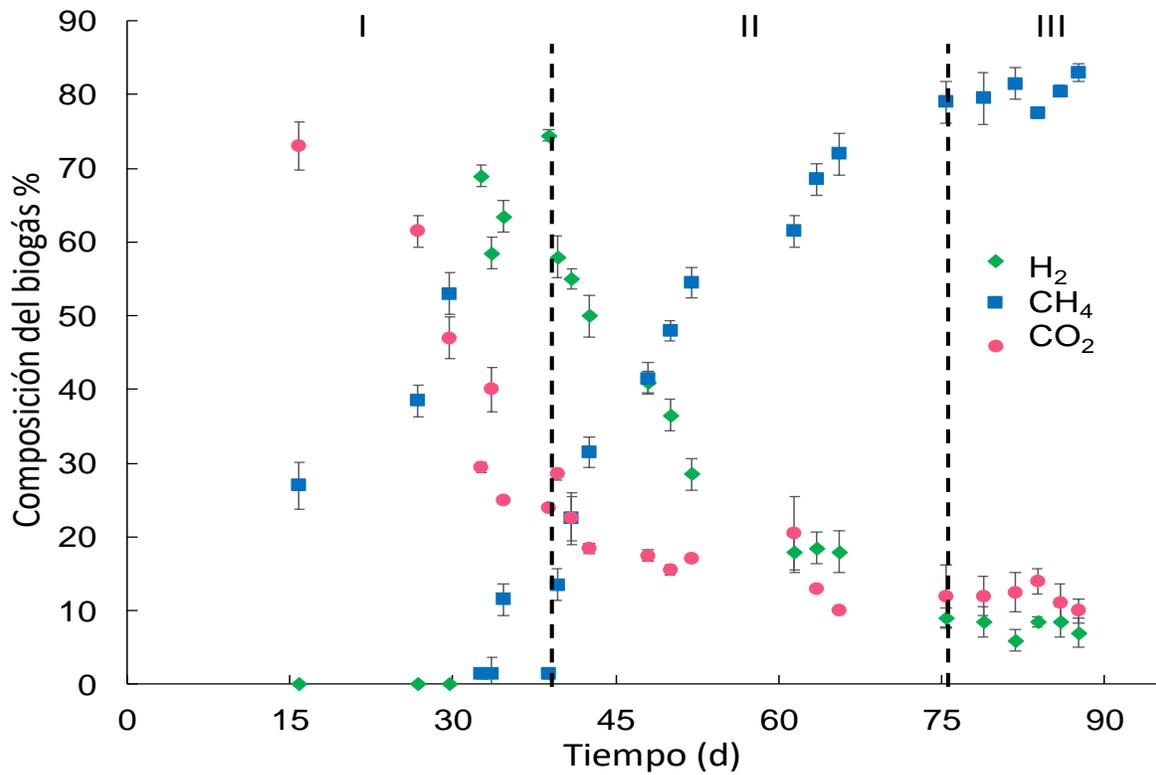


Figura 4.4 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 37.8 m²/m³.

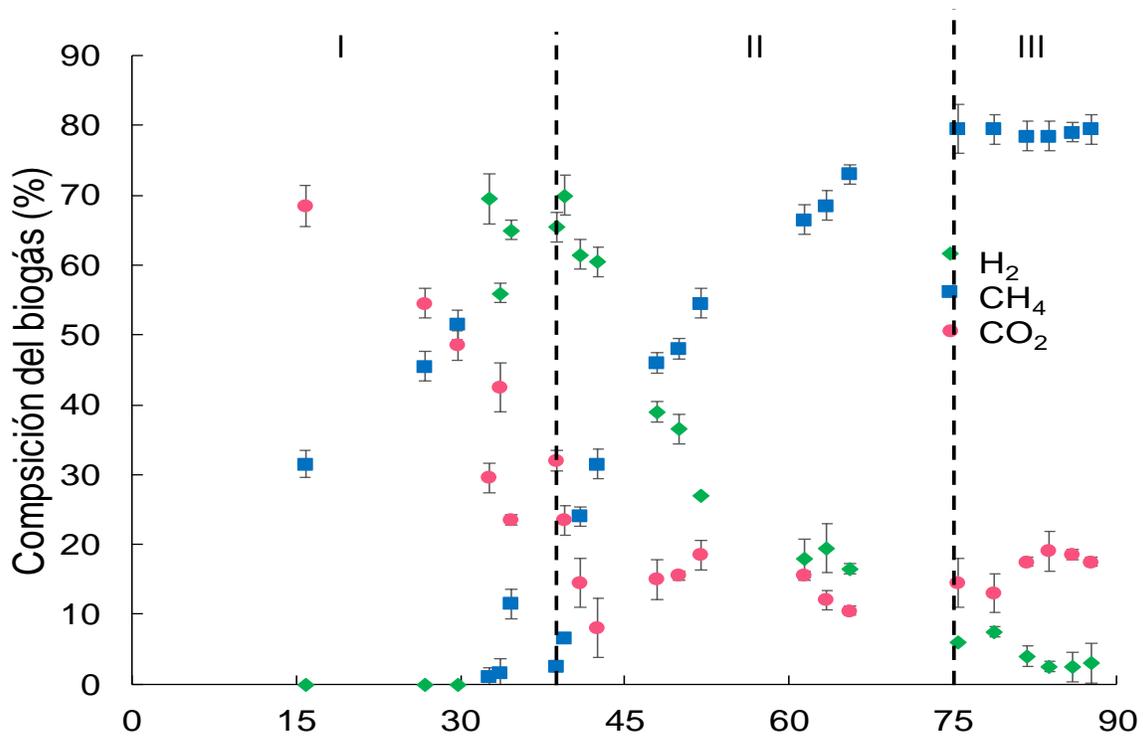


Figura 4.5 Variación de la composición del biogás durante la operación del reactor 50.0 m²/m³.

Una vez que las tasas de producción de los ciclos presentaron estabilidad en la generación de metano, se procedió a realizar una cinética de 5 ciclos de operación para estudiar del comportamiento del cambio de la composición del biogás (Fig. 4.6 a la Fig. 4.9). Como podemos observar en las figuras de la 4.6 a la 4.9 la mayor concentración de hidrógeno que se detectó ocurrió aproximadamente a las 3 horas de operación de los reactores, esto es similar que lo reportado por Gou et al., (2014) donde obtuvieron concentraciones altas de hidrógeno a las 4.8 horas de operación de sus reactores, donde como sustrato fue utilizado desechos de maíz. Posteriormente entre más tiempo de operación de transcurría la concentración de hidrógeno disminuía y la de metano incrementaba siendo estable aproximadamente entre 25 y 28 horas de operación de los reactores. La alta concentración de hidrógeno las primeras horas de operación de los reactores se debe principalmente a la degradación de butirato y menor medida de propionato a acetato dando como producto secundario hidrógeno, esto ya fue en un estudio realizado por Martínez et al. (2019) donde encontró que mientras estos compuestos se de gradaban y la cantidad de acetato aumentaba en sus reactores, la concentración de hidrógeno también incremento.

La presencia inicial de hidrógeno resulta favorable debido que propicia la actividad sintrófica entre bacterias y arqueas para llevar la producción de metano por la vía hidrogenotrófica, esto ya fue ya descrito por Guzman et al. (2019) que encontró que en concentraciones 50 mM de hidrógeno en el medio favorecían la actividad de arqueas hidrogenotróficas, no obstante concentraciones superiores de estas en el medio podían inhibir la actividad de las arqueas y desviar el sistema a un proceso homoacidogénico (producción de acetato a partir de CO_2 e hidrógeno) (Enzmann et al., 2018; Evans et al., 2019). Si bien este estudio no se realizó mediciones de concentraciones o presiones de hidrógeno en los reactores, podemos asumir que la principal ruta favorecida fue la producción de metano vía hidrogenotrófica debido a composición de la comunidad microbiana de arqueas que principalmente compuesta de organismos hidrogenotróficos.

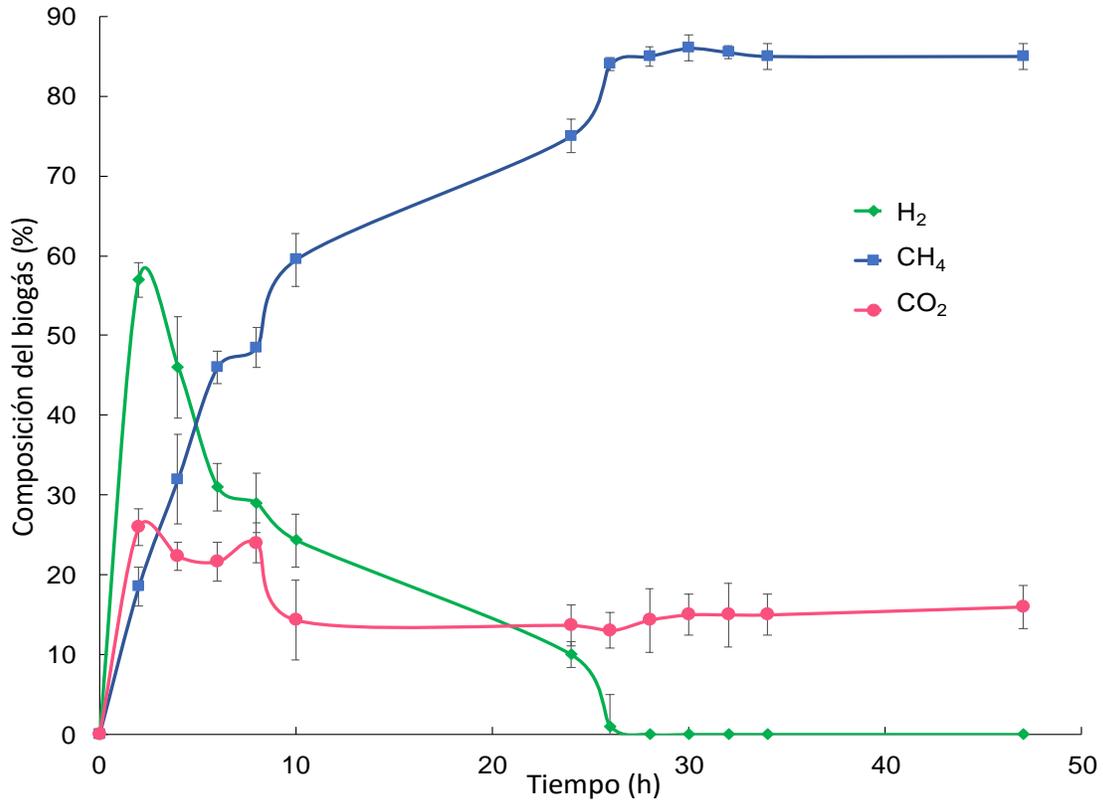


Figura 4.6 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 13.3 m²/ m³.

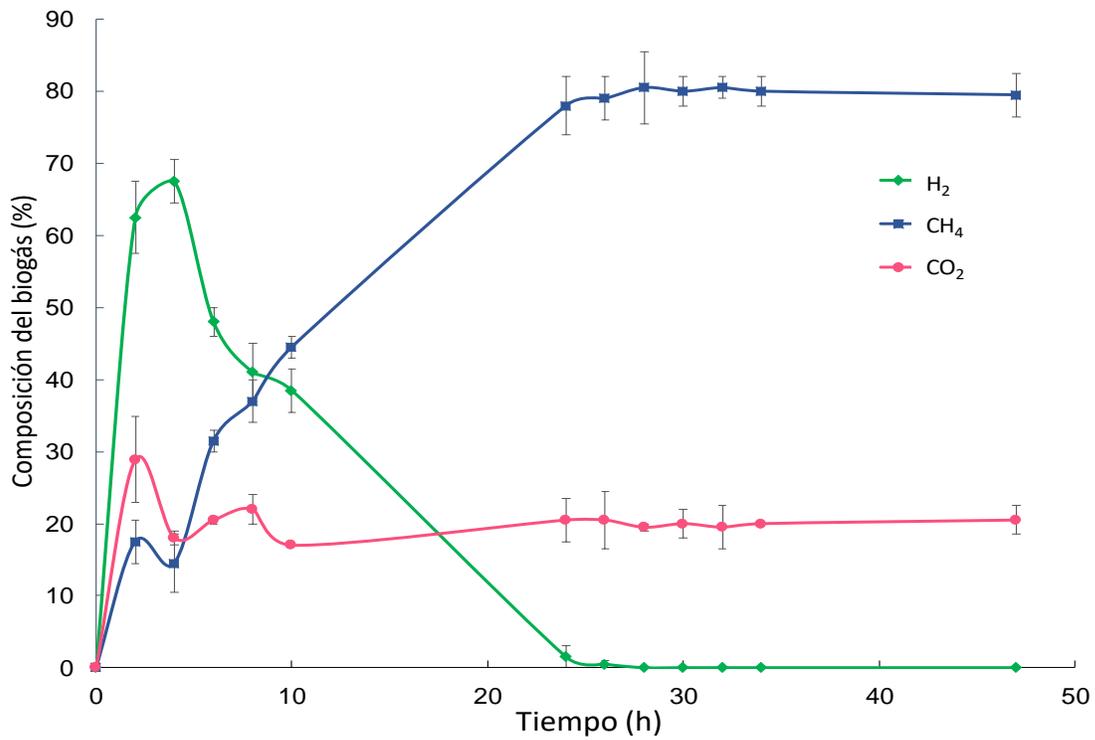


Figura 4.7 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 25.6 m²/m³.

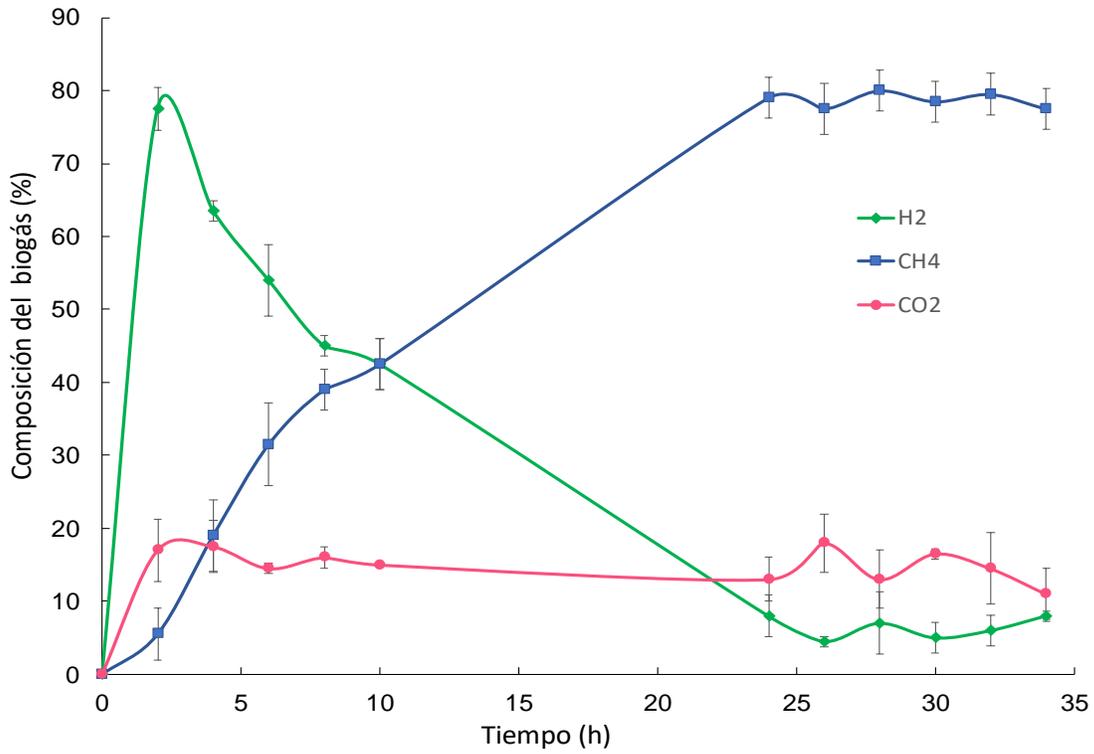


Figura 4.8 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 37.8 m²/m³.

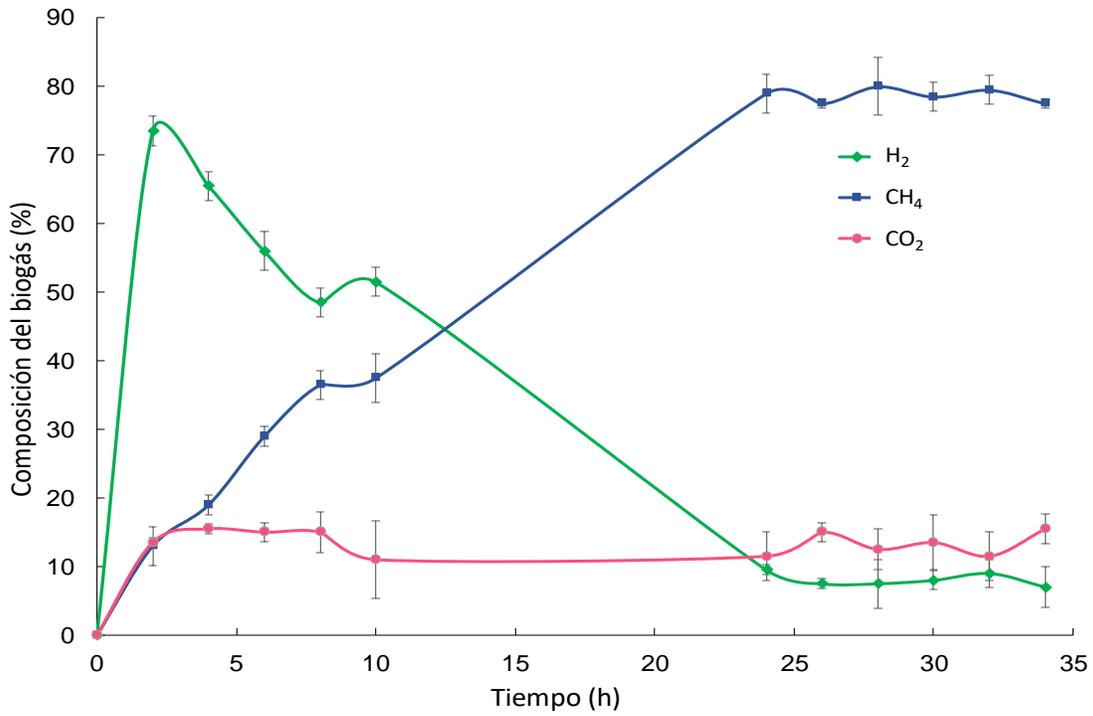


Figura 4.9 Cinética de producción de biogás en etapa estable en el reactor 50.0 m²/m³.

4.2.2 Producción de hidrógeno

Una vez que en los reactores 13.3, 25.6, 37.8, 50 m²/m³ se les retiro el inóculo, el biogás generado dejo de presentar metano en su composición y empezó a cuantificar hidrógeno con una concentración de entre 45% a 75%, este comportamiento duró aproximadamente 15 días de operación para los reactores con las relaciones de 37.8 y 50 m²/m³, mientras para los reactores de 13.3 y 25.6 duró aproximadamente 25 días de operación una vez retirado el inóculo (Fig. 4.10), como se mencionó anteriormente a la diferencia en la tasa de crecimiento entre bacterias y arqueas, siendo hasta 20 veces más rápido su crecimiento de las primeras (Conklin et al., 2006; Holmes et al., 2013) . Durante estos días de operación el reactor de 13.3 m²/m³ génera una tasa de producción de hidrógeno estable de 140.75±39.88 mL H₂/L_{reactor}/d (Fig. 4.11), mientras el reactor de 25.6 m²/m³ produjo 670±10.15 mL H₂/L_{reactor}/d. Mientras los reactores con las relaciones más grandes tuvieron una tasa de producción de 1277.42±101.61 mL H₂/L_{reactor}/d para el reactor de 37.2 m²/ m³ y 1394±165.66 mL H₂/L_{reactor} / d para el reactor de 50 m² /m³. También cabe mencionar que el pico de mayor tasa de producción de hidrógeno se generó en el reactor 37.8 m² / m³, siendo la tasa volumétrica de hidrógeno de 2200 mL H₂/L_{reactor}/d.

Estas producciones iniciales de hidrógeno en reactores de cámara única ya han sido reportadas por otros autores, donde Montpart et al. (2015) reporto una tasa de producción 930 mL H₂/L_{reactor} / d utilizando como sustrato aguas residual domestica sintética, mientras Call y Logan (2008) obtuvo una tasa de producción de 3120±2 mL H₂/L_{reactor} /d utilizando como sustrato acetato. La producción de hidrógeno inicial, una vez retirado el inóculo se le atribuye a que las bacterias tienen una tasa de crecimiento mayor que las arqueas metanogénicas (Call y Logan, 2008; Cusick et al., 2011; Montpart et al., 2015).

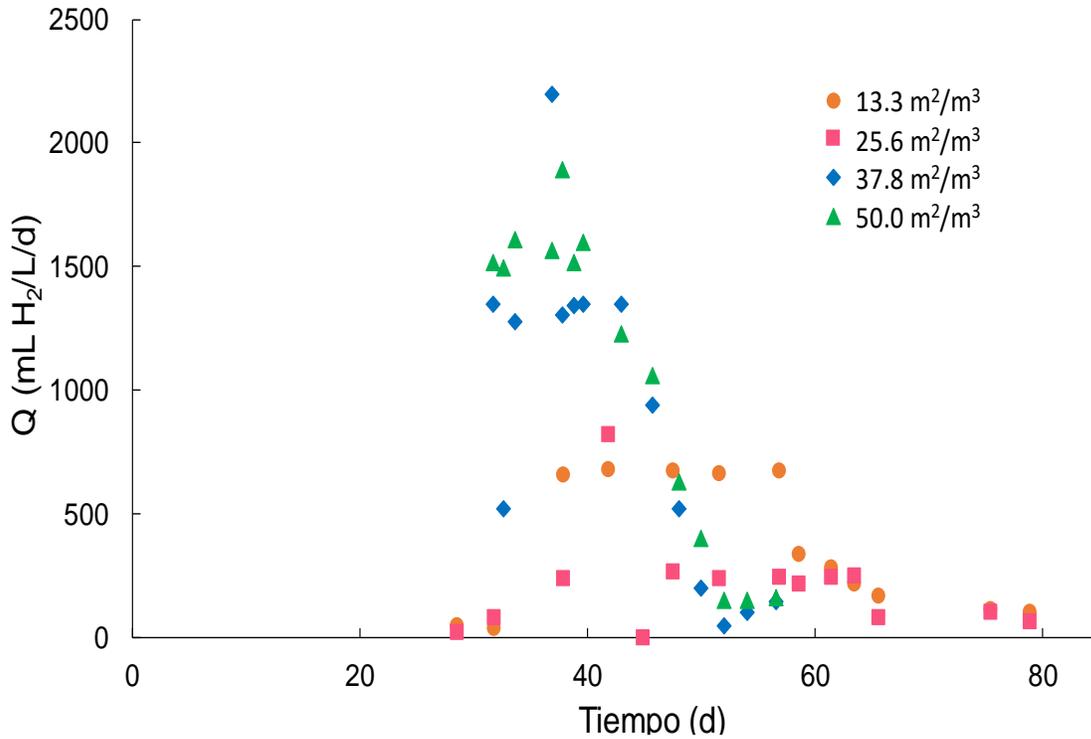


Figura 4.10. Tasas de producción de hidrógeno donde se evaluaron las relaciones área y volumen de reactor.

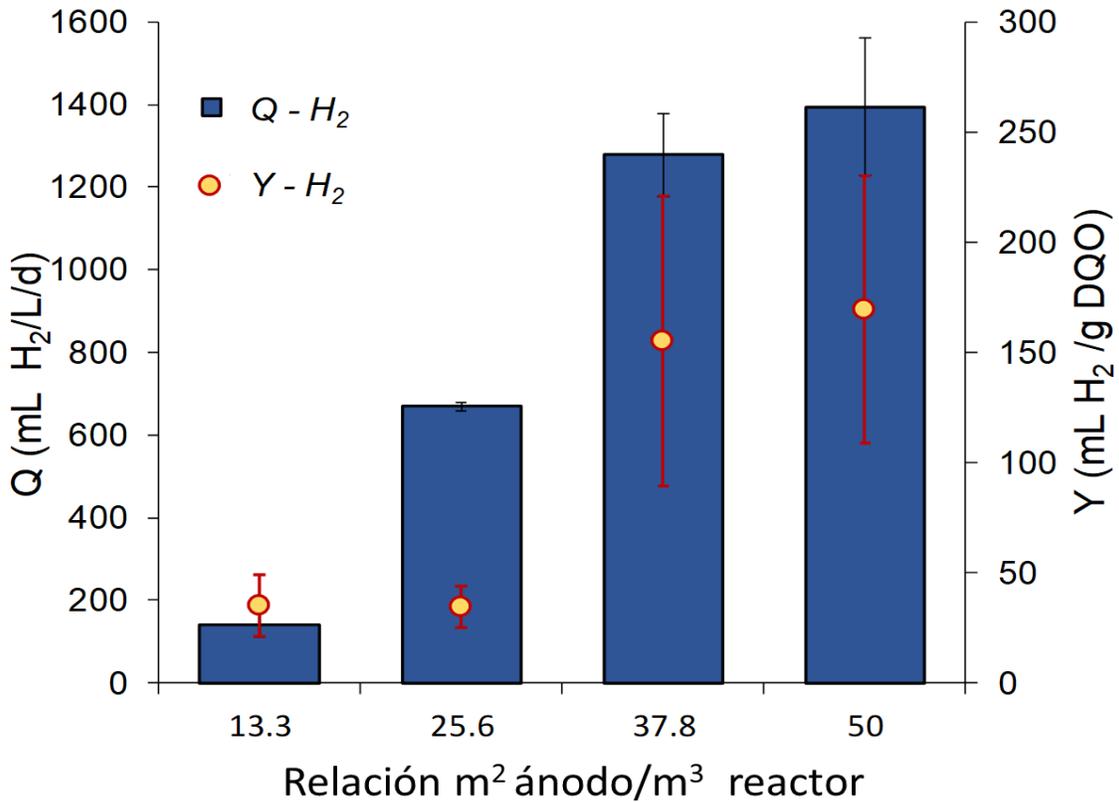


Figura 4.11 Tasa de producción y rendimiento de hidrógeno periodo estable.

4.2.2 Producción de metano

Una vez arrancado los reactores no mostraron producción de metano durante los primeros días de operación, fue hasta el día 20 de operación aproximadamente que los reactores 13.3 y 25.6 m²/m³ generaron una tasa de producción de aproximadamente de 200 mL CH₄/L_{reactor} /d, mientras los reactores 37.8 y 50 m²/m³ tuvieron una tasa de entre 200 y 300 mL CH₄/L_{reactor} /d (Fig. 4.12). No obstante una vez retirado el inóculo inicial de los reactores la tasa de metano decayó a cero, esto debido a que el biogás generado, después de retirar el inóculo contenía únicamente hidrógeno y dióxido de carbono; lo que indicaría que la producción de metano provenía del lodo granular y no de la biopelícula de los electrodos. Posteriormente mientras transcurría los días se recuperó la producción de metano, hasta considerarse estable entre los días 75 y 80 de operación.

Después de 65 días de operación los reactores de control (B1 y B2) producían un biogás con una concentración estable de 68±3% de metano, cabe recordar que estos reactores nunca se les retiró el inóculo inicial. El reactor de control B1 (reactor a circuito abierto) tuvo una tasa de producción estable de 205±20 mL CH₄/L_{reactor}/d y un rendimiento de 200±6 mL CH₄/g DQO, mientras el segundo reactor de control (B2) se obtuvo una tasa de producción de 219±9 mL CH₄/ L_{reactor}/d con un rendimiento de 204±8 mL CH₄/g DQO. Por su parte los reactores donde se controló el potencial anódico generaron rendimientos de 150±24 mL CH₄/g DQO, con inóculo aun dentro del reactor. No obstante los mejores rendimientos se obtuvieron con la operación de los reactores sin inóculo a partir del día 75 de operación, mejorando un 86% en el reactor 25.6 m²/m³.

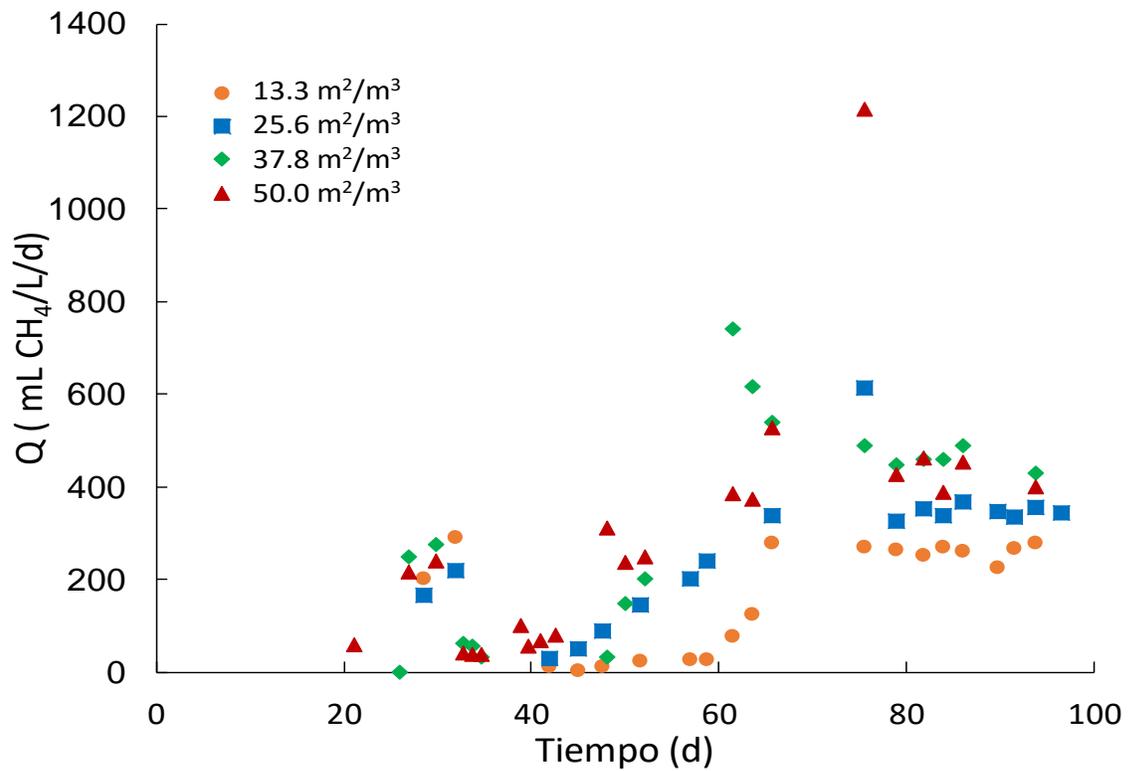


Figura 4.12 Variación de la tasa de producción de metano en diferentes días de operación.

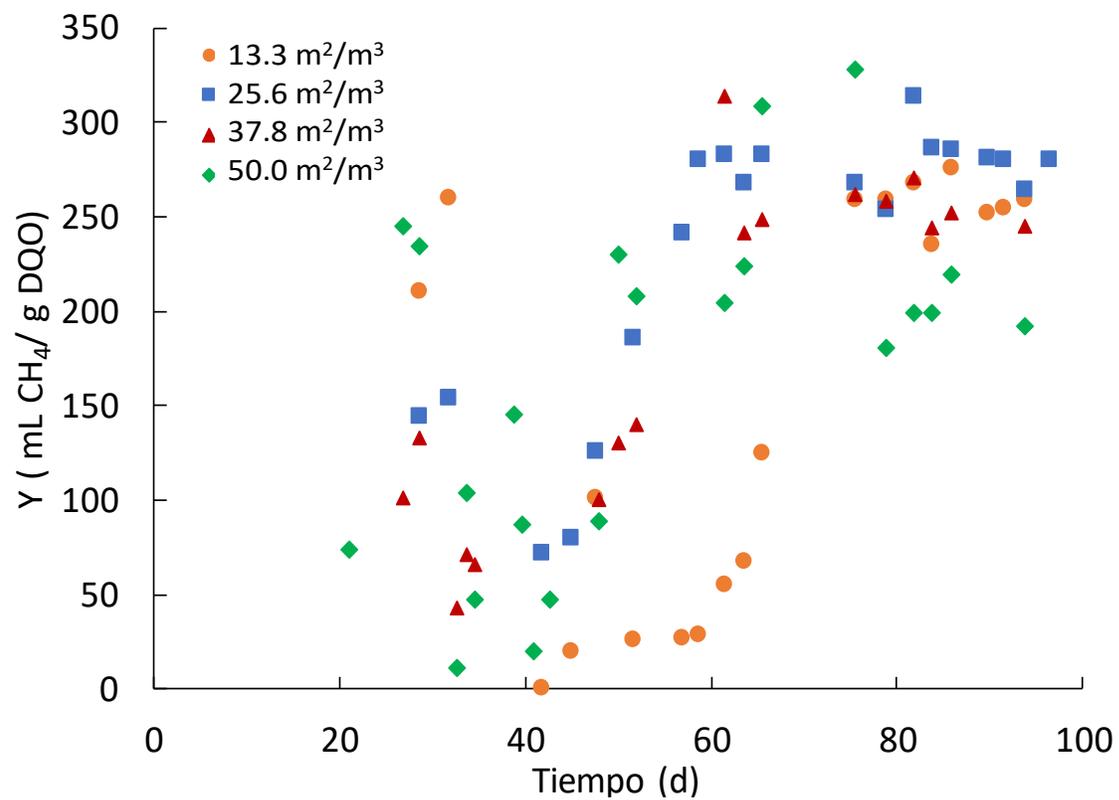


Figura 4.13 Variación del rendimiento de metano en diferentes días de operación.

Los reactores donde se evaluaron las relaciones generaron un biogás con concentraciones estables de entre 77% y 85% metano a partir del día 75 de operación. La tasa de producción de metano para el reactor de 13.3 m²/m³ fue 265±5 mL CH₄/L_{reactor}/d con un rendimiento 268± 11 mL CH₄/g DQO (Fig. 4.14), mientras que con el reactor de 25.6 m²/m³ se tuvo una tasa de producción de estable 344 mL CH₄/ L_{reactor}/d, siendo un 25% mejor que la relación anterior, por otra parte el rendimiento de igual manera aumento un 5% quedando de un rendimiento de 284 mL CH₄/g DQO. En tanto con el reactor 37.8 m²/m³ obtuvo la mayor tasa de producción de metano de este estudio siendo de 482 mL CH₄/ L_{reactor}/d, esta tasa fue casi dos veces más grande que la generada por los reactores de control, sin embargo, el rendimiento disminuyó quedando de 262 mL CH₄/g DQO. Por otra parte al operar el reactor de 50 m²/m³ su tasa de producción fue de 410±72 mL CH₄/ L_{reactor}/d, siendo una disminución de 15% aproximadamente en la producción de metano con respecto al reactor de 37.9 m²/m³, mientras el rendimiento disminuyó un 23% quedando de 201±22 mL CH₄/g DQO, siendo el rendimiento igual que los reactores de control.

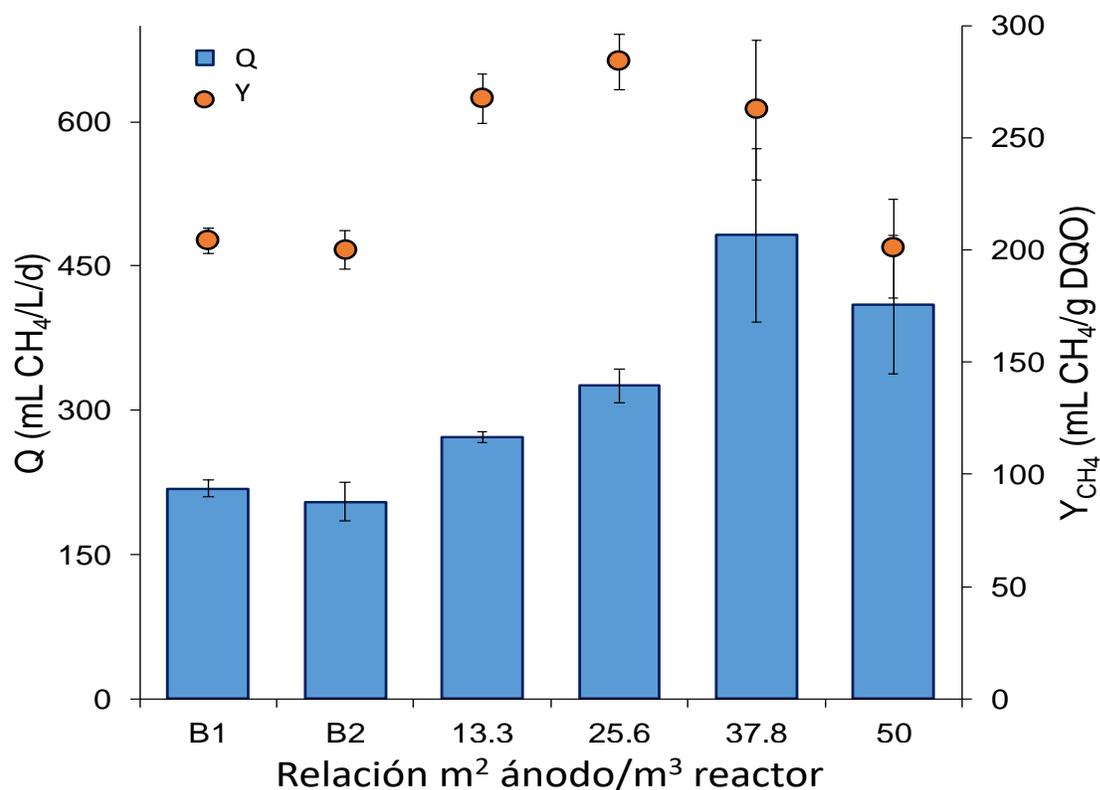


Figura 4.14 Tasa de producción y rendimiento de metano periodo estable.

Al realizar una revisión en literatura encontramos que Nelabhotla et al. (2019) encontró que un potencial catódico entre -0.9 V a -1.4 V vs Ag/AgCl favorecía la actividad de las arqueas hidrogenotrófica, en tanto que potenciales catódicos más negativos había disminución de actividad de los microorganismos metanogénicos. El potencial catódico puede estar relacionado con la disminución con la tasa de producción y rendimiento del reactor con la relación 50 m²/m³ debido que este reactor se generó un potencial catódico de -1.8 V. El alto potencial negativo pudo provocar una disminución de la actividad del complejo hidrogenasa (reductora de metil viologeno) que se encuentra unido a una heterodisulfuro reductasa (MSVS-Hdr) o bien a la desactivación de la heterodisulfuro reductasa, estos complejos llevan la oxidación del hidrógeno para su utilización para la producción de metano (Lee et al., 2019; Rousseau et al., 2020; Sasaki et al., 2018). Por otra parte el reactor con la relación 25.6 m²/m³ mostró el menor potencial negativo catódico, lo que pondría indicar que el área utilizada en este reactor fue la que género una mejor transferencia electrones.

Tabla 4.1 Voltajes suministrados en los reactores.

Celda	Potencial anódico	Potencial catódico	voltaje aplicado
13.3	0.5 V	-1.39 V	0.89
25.6	0.5 V	-1.0 V	0.51
37.8	0.5 V	-1.5V	1.04
50	0.5 V	-1.8V	1.32

Sobre el análisis estadístico para ver si existía diferencia entre las tasas de producción de metano, se utilizando el método Kruskal-Wallis con un valor P=0.05 que nos indicó que sí existía diferencia entre al menos dos tasas de producción (anexo 2). Posteriormente se realizó la prueba Bonferroni (Tabla 4.2) nos arrojó que no existía diferencia significativa entre las tasas de producción de los reactores con las relaciones 37.8 y 50 m²/m³, pero si había diferencia entre los demás reactores. Por su parte los reactores de control entre ellos no había diferencia significativa, sin

embargo, si había diferencia con los demás reactores. Sobre los resultados de la prueba de Bonferroni para el rendimiento de metano (Tabla 4.3), la prueba demostró que entre los reactores de control y el reactor 50 m²/ m³ no existe diferencia significativa entre los tres rendimientos. Por otra parte entre los rendimientos de metano de los reactores de 13.3, 25.6 y 37.8 m²/m³ no existen una diferencia significativa entre ellos.. Por lo que podemos concluir que la relación área y volumen de reactor tiene un efecto tanto en la tasa de producción, como en el rendimiento de metano, además que existe un área optima entre las relaciones de 25.6 y 37.8 m²/m³ que nos permita obtener la mejor tasa de producción de metano y rendimiento de este, en un sistema de una cámara utilizando como sustrato un efluente acidogénico sintético. Por otra parte una posible forma de mejorar estos rendimientos, así como la tasa de producción es a través de la optimización de la concentración de sustrato utilizada en los reactores, ya que han encontrado una cantidad adecuada del sustrato en los reactores se puede mejorar la actividad sintrófica de arqueas y bacterias (Lee et al., 2019)

Tabla 4.2. Resumen de prueba de Bonferroni con valor de P=0.05 para tasa de producción de metano.

	B1	B2	13.3	25.6	37.8	50
B1		NS*	S**	S	S	S
B2	NS		S	S	S	S
13.3	S	S		S	S	S
25.6	S	S	S		S	NS
37.8	S	S	S	S		NS
50	S	S	S	NS	NS	

*=No significativo **=Significativo.

Tabla 4.3 Resumen de prueba de Bonferroni con valor de P= 0.05 para rendimiento de metano los reactores.

	B1	B2	13.3	25.6	37.8	50
B1		NS*	S**	S	S	NS
B2	NS		S	S	S	NS
13.3	S	S		NS	NS	S
25.6	S	S	NS		NS	S
37.8	S	S	NS	NS		S
50	NS	NS	S	S	S	

Durante toda la operación de los reactores se realizaron las mediciones de pH y conductividad tanto en al inicio y final de cada ciclo de trabajo. El pH se mantuvo a 7.0 ± 0.2 todo el ciclo de operación de los reactores. Sobre la conductividad, la inicial fue de 7 ± 1.5 mS/cm para los 6 reactores, este valor de conductividad se mantuvo en la salida en los reactores de control, sin embargo, aumento a un promedio 7.5 mS/cm para los demás reactores. El aumento de conductividad en estos reactores puede deberse a la acumulación de iones Na^+ en el cátodo y/o ánodo que posteriormente se liberaron en el medio (Rousseau et al., 2020).

4.2.3 Eficiencia remoción de DQO y eficiencia coulombica

Sobre la remoción de la materia orgánica, los reactores de control alcanzaron remociones del 87% de DQO (Fig. 4.15). Mientras el reactor de $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ apenas alcanzó una remoción del 80%, esta baja remoción puede deberse a la generación de algún metabolito que pueda estar inhibiendo la metanogénesis. La mayor remoción de materia orgánica fue del 93%, en el reactor de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$, en tanto los reactores de 25.6 y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ lograron remociones del 90% de la DQO, estas remociones altas desde los controles se deben principalmente al que sustrato utilizado es muy simple, otros autores utilizando sustratos simples como glucosa y acetato han alcanzado remociones desde 90% a 93% de materia orgánica (Yin et

al., 2016; Lee et al., 2019). Estas remociones fueron mejores que las reportadas por Flores-Rodriguez et al., 2019 donde obtuvieron remociones del 83% de materia, ellos utilizaron como sustrato acetato de sodio, además de una relación de 18.3 m^2/m^3 .

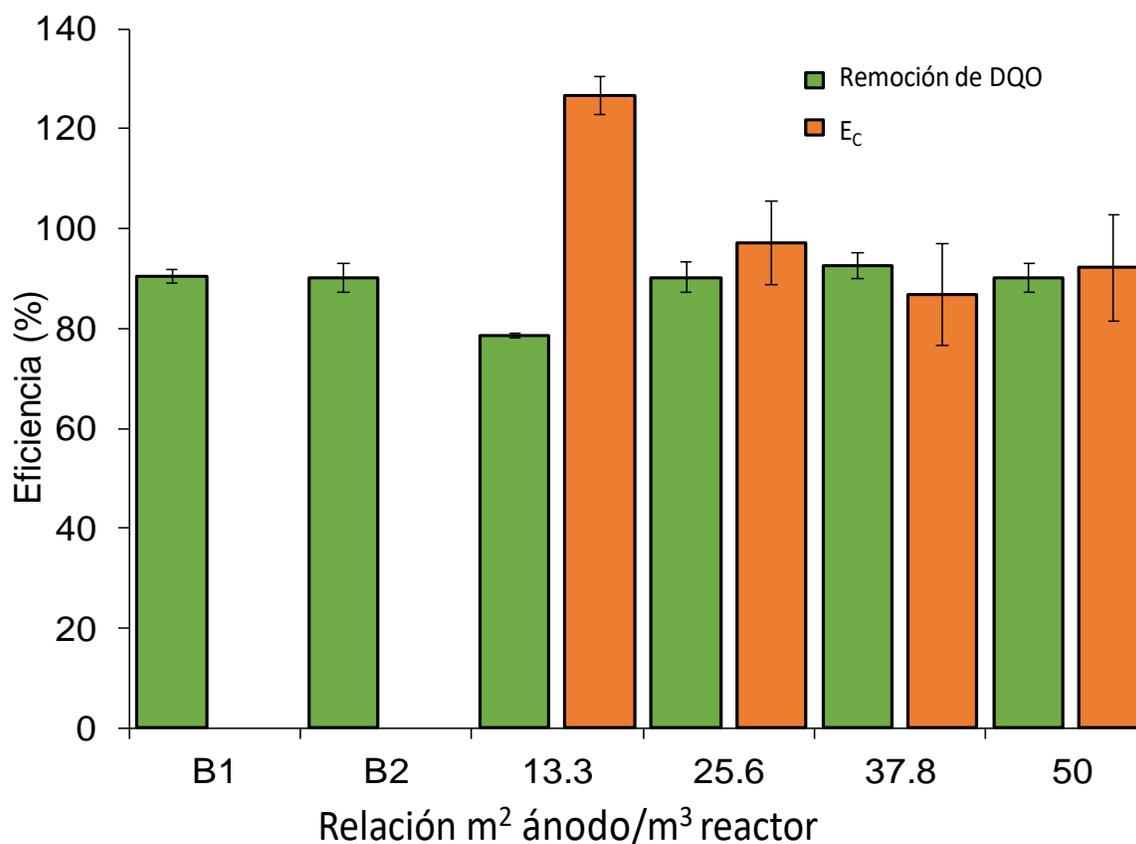


Figura 4.15 Eficiencia coulombica y eficiencia de remoción de materia orgánica en los reactores.

Al analizar los metabolitos que se formaron durante la operación de los reactores en el efluente cada reactor, encontramos que los reactores de control el principal metabolito de salida es el propionato siendo un 56% para el reactor B1 y 49% para el reactor B2 (Fig. 4.16). La menor remoción del propionato puede deberse a que termodinámicamente es más favorable la degradación de acetato y butirato, para la obtención de energía que la degradación del propionato (Vassilev et al., 2018). Por otra parte el reactor de 13.3 m^2/m^3 se encontró que el principal metabolito generado fue el isobutirato, este isobutirato es un subproducto de la degradación del butirato (Fig. 4.17-A). La principal problemática de la generación del isobutirato en reactores

bioelectroquímicos es que este compuesto ya no pudo ser aprovechado para la producción de metano (Jiang et al., 2019; Vassilev et al., 2018). Mientras el reactor $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ no se generaron nuevos metabolitos de interés, si bien se produjo isobutirato fue en una cantidad baja siendo apenas un 15% de la de DQO de salida, por lo que no afectó el desempeño del reactor.

Por otra parte, los reactores de 37.8 y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ formaron como metabolitos de salida principalmente el caproato y valerato, que a nivel industrial tienen gran importancia por sus altos valores económicos. En el reactor de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ el valerato representó el 20% de la DQO de salida y el caproato el 59%, mientras en el reactor de $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ el caproato y valerato representaron un 41% y 14% de la DQO. Estos compuestos se obtuvieron por dos vías, la primera vía posible puede deberse a un proceso incompleto de producción de metano, esto puede ocurrir debido a que termodinámicamente es más favorable producir estos compuestos que el metano. Mientras la segunda a través del compuesto Acetil-CoA. La primera vía puede ocurrir debió que durante la metanogénesis hidrogenotrófica hubo cambios de temperatura, presión o la disminución concentración de sustrato provocando con ello la oxidación del CO_2 quede incompleta (Fig. 4.17-b) y con ello desviando al sistema a la producción de caproato y valerato (Rousseau et al., 2020; van Eerten-Jansen et al., 2015). Mientras la segunda vía es a través del compuesto de Co-A, más los altos potenciales generados en los cátodos, pudo propiciar la actividad de microorganismos elongadores de cadena como los del género *Clostridium* (Jiang et al., 2019; Lee et al., 2019; Vassilev et al., 2018). Si bien estas áreas son inadecuadas para llevar la producción de metano de forma eficiente podrían abrir una nueva vía para reactores productores de compuestos carbonados de cadena media, como caproato, valerato, heptanoato, etc.

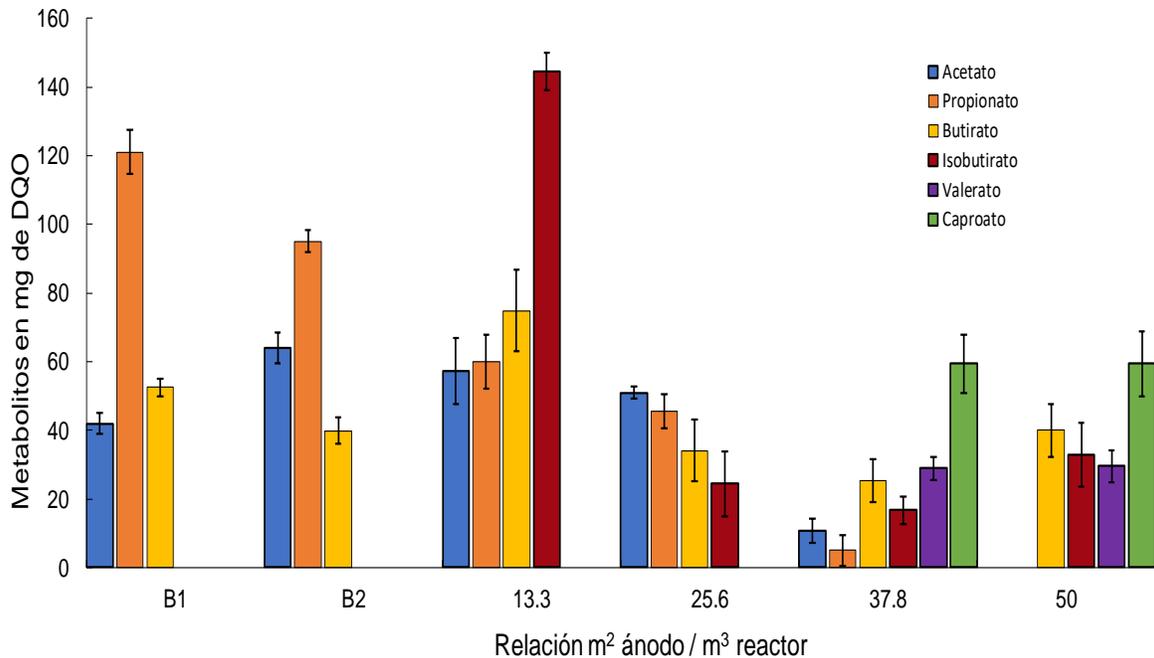


Figura 4.16 Metabolitos finales de operación de los reactores.

Sobre la eficiencia coulombica, la mayor eficiencia obtenida en este estudio se generó en el reactor 14.4 m²/m³ siendo de 127±5% (Fig. 4.15). Las eficiencias mayores al 100% ya han sido reportas en otros estudios de reactores de cámara única, estas eficiencias se deben aun reciclaje de electrones provenientes del hidrógeno para la producción de metano en ánodo, esto indicaría que hay una vía secundaria de producción de metano sobre el ánodo y no únicamente del cátodo (Park, Lee, Sin, et al., 2018; Rader y Logan, 2010b). Por otra parte, el reactor 25.6 m²/m³ se obtuvo una eficiencia del 97±11%, siendo la segunda mejor eficiencia coulombica en este estudio. Mientras los reactores de 37.8 y 50 m²/m³ las eficiencias fueron del 90±10 % y 87±10%, respectivamente, que las eficiencias sean menores estos reactores pude estar relacionado con la generación del caproato y valerato en ambos reactores, debido que parte de los electrones se desviaban en la generación de estos compuestos (Jiang et al., 2019).

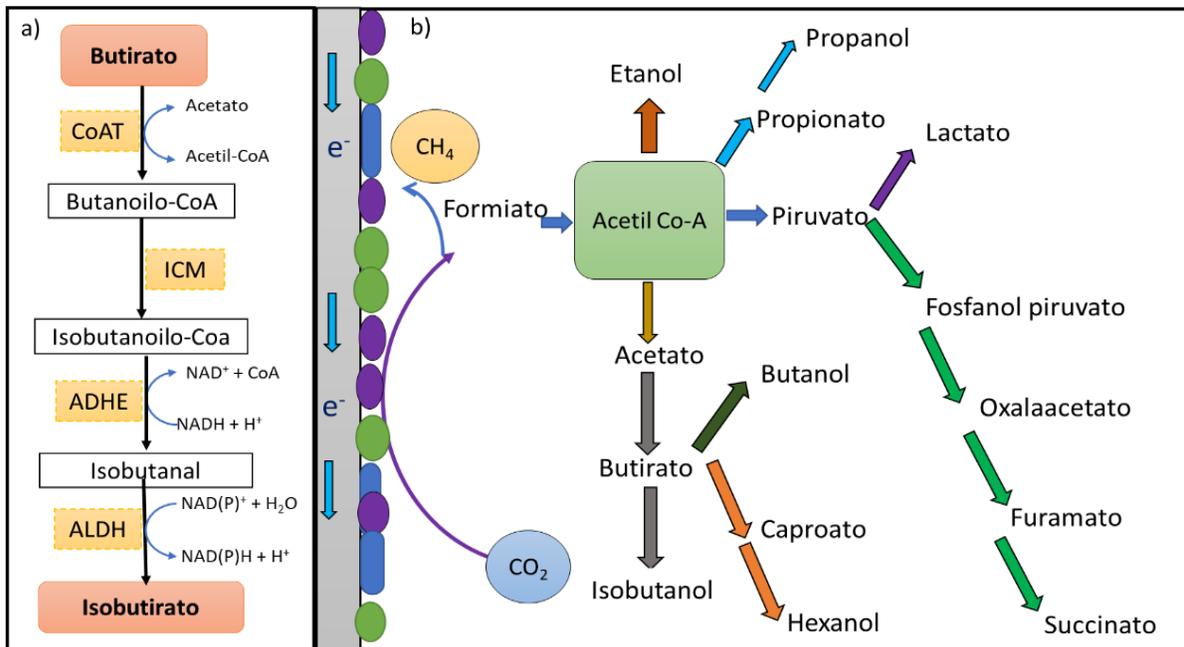


Figura 4.17 Posibles rutas metabólicas de los subproductos generados en los reactores: A) Ruta de generación de isobutirato en reactores bioelectroquímicos. B) Posibles vías metabólicas para la reducción electroquímica microbiana para generar productos de interés a partir del CO_2 (Vassilev et al., 2018).

Da igual para el análisis estadístico se procedió a realizar en primer lugar la prueba de Kruskal-Wallis tanto para la eficiencia de remoción de materia orgánica y coulombica, donde dio como resultado que si existía diferencia significativa para ambos casos (anexo 2). Posteriormente de igual manera se realizó la prueba de Bonferroni donde dio como resultado que entre las eficiencias de remoción de materia orgánica de los reactores de control y el reactor $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ no existe diferencia, pero si con los demás reactores. Con los datos de la tabla 4.4 podemos concluir que utilizar menores $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ no mejora la remoción de materia orgánica de los reactores, sino debido a la pequeña relación utilizada se generaron subproductos no deseados en el sistema (Fig. 4.16). Mientras utilizar relaciones de igual muy grandes tampoco tendrá un efecto en el mejoramiento de la remoción de la materia orgánica, no obstante si bien para este estudio las áreas 37.8 y $50.0 \text{ m}^2/\text{m}^3$ no fueron adecuadas mejorar el porcentaje de remoción de materia, estas áreas podrían ser de utilidad para producción de compuestos orgánicos de cadena media (Fig. 4.16) aplicando otras condiciones iniciales favorables para tipo de proceso.

Por su parte la prueba de Bonferroni para la eficiencia coulombica arrojó como resultado (Tabla 4.5) que existe diferencia significativa en la eficiencia coulombica del reactor 13.3 m²/m³ con respecto a los demás reactores, mientras que entre los reactores de 25.6, 37.8 y 50 m²/m³ no existe diferencia significativa entre sus eficiencias coulombicas. Por lo anteriormente dicho podemos concluir que las relaciones de área de ánodo y volumen de reactor pequeñas cercanas a 13.3 m²/m³ favorecen el aumento de la eficiencia en los reactores con la configuración utilizada en este estudio, en tanto que utilizar relaciones más grandes que 25.6 m²/m³ no mejor de forma significativa la eficiencia coulombica en el sistema.

Tabla 4.4 Resumen de Prueba de Bonferroni con valor de P= 0.05 para eficiencia remoción de DQO.

	B1	B2	13.3	25.6	37.8	50
B1		NS*	NS	NS	NS	NS
B2	NS		NS	NS	NS	NS
13.3	NS	NS		S	S	S
25.6	NS	NS	S		NS	S
37.8	NS	NS	S	NS		NS
50	NS	NS	S	NS	NS	

*=No significativo **=Significativo.

Tabla 4.5 Resumen de prueba de Bonferroni con valor de P=0.05 para eficiencia coulombica.

	13.3	25.6	37.8	50
13.3		S**	S	S
25.6	S		NS*	NS
37.8	S	NS		NS
50	S	NS	NS	

*=No significativo **=Significativo.

4.2.3 Eficiencia energética

El cálculo de eficiencia energética en los reactores se realizó de dos formas diferentes, la primera fue tomando únicamente el flujo de metano producido, mientras la segunda a parte del flujo de metano producido se sumó el flujo de hidrógeno residual presente en el biogás (Fig. 4.18). Como resultados utilizando únicamente el flujo de metano, la mayor eficiencia energética se obtuvo en el reactor de $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ siendo una eficiencia de $138 \pm 9.2\%$, este valor de eficiencia fue mayor que lo reportado por Rader et al.(2019) donde obtuvieron eficiencias energéticas del 111%, utilizando como sustrato glucosa. Por otra parte el reactor $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ alcanzó una eficiencia energética del $74 \pm 11\%$, mientras los reactores de 37.8 y $40 \text{ m}^2/\text{m}^3$ tuvieron la menor eficiencia siendo apenas del 66%.

Mientras utilizando tanto el flujo de metano e hidrógeno, se obtuvo una eficiencia energética $150 \pm 9.2\%$ para el reactor $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$, mientras para el reactor $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ su eficiencia fue a un $81 \pm 9.1\%$. Por otra parte los reactores 37.8 y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ pasaron de tener una eficiencia energética 66% a 87% para el reactor de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y 81% para el reactor $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$. La alta eficiencia energética en el reactor $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ se debe que fue el que se generó el menor potencial catódico, lo que se traduce a menor inversión de energía en el sistema para mantener el potencial anódico.

Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo como resultado que si existía diferencia por lo menos en dos eficiencias energéticas (anexo 2). La prueba de Bonferroni (Tabla 4.6) indicó que la eficiencia energética del reactor $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ era significativa diferentes a las otras tres de los demás reactores, mientras que no había diferencia significativa entre las eficiencias energéticas de los reactores de $13.3, 37.8$ y $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$. Por lo que podemos concluir que es gran importancia tener una relación adecuada de área de ánodo de reactor con respecto el volumen de este debido que sino no tendremos recuperación de energía alguna en el sistema siendo que se inviabile su aplicación a nivel industrial.

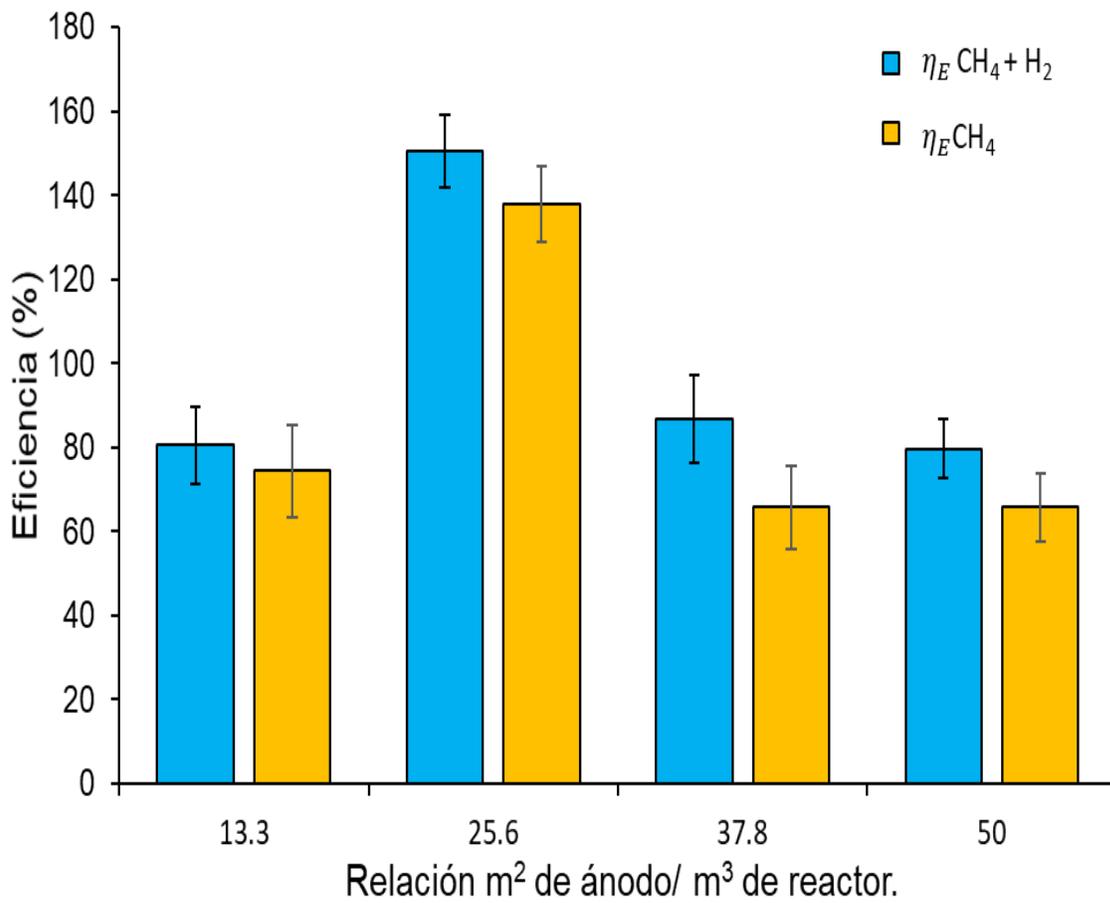


Figura 4.18 Eficiencia energética calculada a partir de flujos de metano e hidrógeno.

Tabla 4.6 Prueba de Bonferroni con valor de P= 0.05 para eficiencia energética.

	13.3	25.6	37.8	50
13.3		S	NS	NS
25.6	S		S	S
37.8	NS	S		NS
50	NS	S	NS	

Al realizar el balance general de la eficiencia energética en los reactores donde se probaron las relaciones de área de ánodo y volumen del reactor estas fueron menores del 50%, siendo la eficiencia mayor del de $42.77 \pm 2.33\%$ de eficiencia energética global para el reactor de $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$. El reactor de $50 \text{ m}^2/\text{m}^3$ es donde se obtuvo la menor eficiencia del experimento siendo esta de $25.25 \pm 4.7\%$ de eficiencia energética. Para mejorar estas eficiencias globales en estos tipos de reactores se ha buscado como estrategia de acoplar este sistema a reactores de digestión anaerobia tradicional y hacer de esta forma viable económicamente la tecnología.

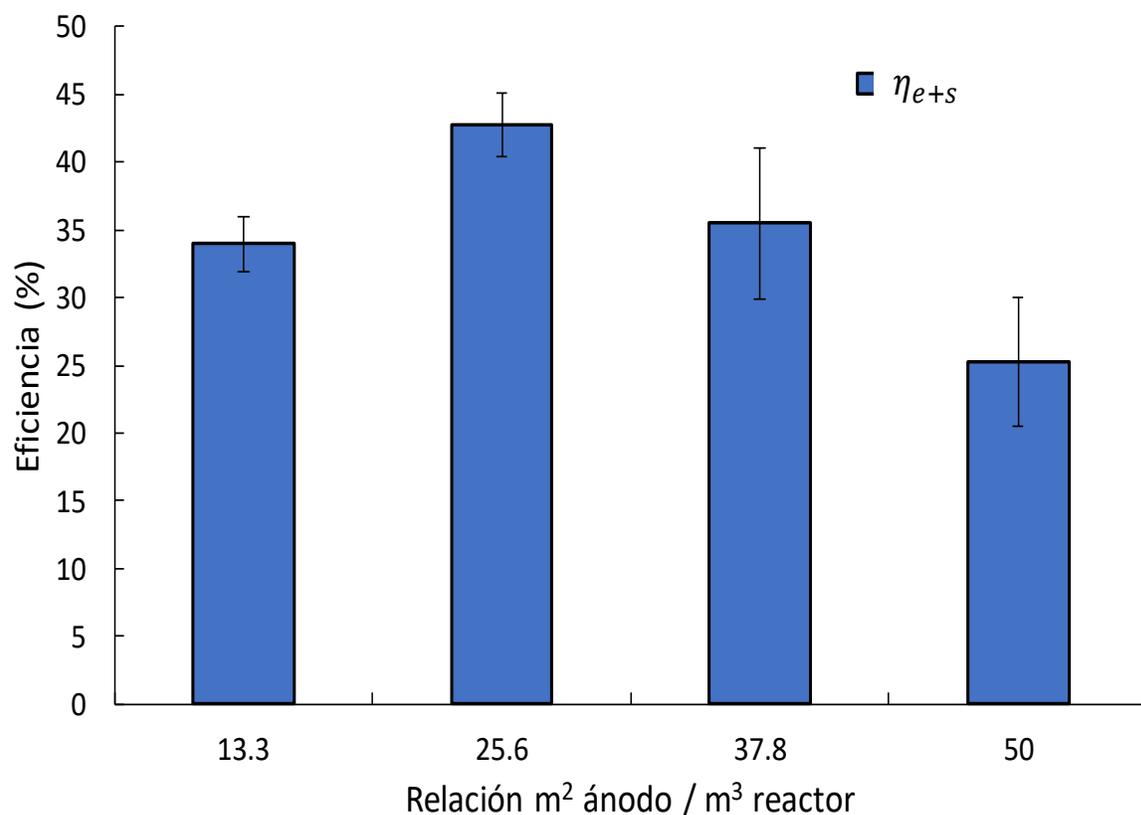


Figura 4.19 Eficiencia energética global de los reactores.

4.2.4 Comparación con trabajos realizados en sistemas de una cámara

En este apartado se realizará una comparación con los datos obtenidos en este estudio con los encontrados en literatura. Para hacer una comparación más adecuada solo se utilizaron trabajos con la mayor similitud, como la configuración de reactor, sustrato utilizado, así como materiales utilizados en los electrodos. Lo primero que podemos observar con el resumen en la Tabla 4.8, si bien la mayoría de los trabajos utilizan sustratos y electrodos similares, las relaciones área de ánodo y volumen son altamente variadas, esta podría ser una de las causas que los autores reporten valores diferentes valores óptimos de operación.

Como podemos observar en la tabla 4.7 hay gran diversidad entre las relaciones de área ánodo y volumen de reactor, siendo la relación más grande probada $261 \text{ m}^2/\text{m}^3$, mientras la relación más pequeña encontrada en la literatura fue de $2.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ siendo aproximadamente 10 veces más pequeña. Si bien el estudio con la relación de $261 \text{ m}^2/\text{m}^3$ se obtuvo una alta densidad de corriente, así como un alto rendimiento de metano, no obstante su tasa de producción es pequeña, por lo que tener una alta relación no es necesariamente favorable.

Por otra parte el trabajo Yin et al. (2019) donde utilizaron una relación de $34 \text{ m}^2/\text{m}^3$ fue el trabajo donde se encontraron los mejores resultados, teniendo una tasa de producción de metano $850 \text{ mL CH}_4/\text{L}_{\text{reactor}}/\text{d}$ y un rendimiento de $360 \text{ mL CH}_4/\text{g DQO}$, sin embargo su eficiencia energética fue menor que la obtenida en nuestro estudio. Lo que se puede concluir si bien no se obtuvo los mejores resultados en comparación con otros trabajos en la literatura, se obtuvieron resultados equilibrados tanto en tasa de producción y rendimiento de metano, así como eficiencia energética, coulombica y remoción de materia orgánica.

Tabla 4.7 Tabla comparativa del desempeño de reactores de una cámara para la producción de metano con otros autores.

Tipo reactor	Volumen (L)	Sustrato	Inóculo	Material		Temperatura	m ² ánodo /m ³ reactor	Voltaje aplicado	J(A/m ²) ánodo	Q (mL CH ₄ /L*d)	Y (mL CH ₄ /g DQO)	% Remoción DQO	% CH ₄ biogás	E _c %	n _e %	Referencias
				Ánodo	Cátodo											
Una cámara	0.7	Acetato de sodio	Lodo activado	Fibra de grafito	Malla de acero inoxidable	35	14.57	0.5	0.303	60	100	75	*	39.8	112	(Gou et al., 2017)
								0.7	0.744	110	240	75	*	75.5	89.4	
								0.9	1.263	140	256.7	80	*	91.2	73.5	
Una cámara	0.3	Acetato de sodio	Lodo anaerobio	Escobillo de carbono	Escobillo de carbono	35	18.3	0.5	0.14	*	200	82	58.23	12	*	(Flores-Rodríguez et al., 2019)
								1	3.5	*	351	99.5	66.03	116	*	
								1.5	0.15	*	100	99.8	55.57	15	*	
Una cámara	0.13	Acetato de sodio	Lodo primario	Cepillo grafito	Tela carbono recubierto con platino	*	261	0.8	72 A/m ³	82	330	*	95±2	120-180	56	(Li et al., 2019)

Una cámara	0.35	Glucosa	Lodo anaerobio	Cepillo grafito	Cepillo grafito	35	12	1	4.6	*	340	85%	52.7	*	*	(Lee et al., 2019)
Una cámara	0.25	Acetato de sodio	Geobacter Methanosarcina	Fibra de grafito	Acero inoxidable	35	34	1	12.5	850	360	100	93	*	74.6	(Yin et al., 2016)
Una cámara	2.4	Ácido acético	Efluente un MFC	Cepillo grafito	Malla de acero inoxidable 34	*	4.5	0.9	1.48	116	*	46	92	*	101	(Rader et al., 2010)
Una cámara	2.5	Lodo PTAR	Efluente un MEC	Filtro grafito	Filtro grafito	35	2.16	*	*	1.1 m ³ /m ³	104	42	57-67	*	34	(Ahn et al., 2017)
Una cámara	0.7	Glucosa	Efluente un MEC	Fibra de grafito	Cepillo grafito	35	14.57	0.8	*	131	138	70	73.7	17.8	*	(Gou et al., 2017)
Una cámara	0.45	Efluente acidogénico Lodo anaerobio sintético.	Lodo anaerobio	Filtro s grafito.	Espuma de níquel.	30	13.3	0.89	9.47	265	268	79	81	127	74	Este trabajo
							25.6	0.51	6.76	344	284	90	85	97	138	
							37.8	1.14	4.00	482	262	93	84	87	66	
							50	1.35	4.00	410	201	89	77	92	66	

4.3 Evaluación de la comunidad microbiana

4.3.1 Bioánodo

Sobre el análisis de la comunidad de bacterias el género predominante en el inóculo fue el *Aminivibrio* representado el 63% de la comunidad (Fig. 4.19), este microorganismo se ha encontrado principalmente en reactores tratadores de aguas residuales de trigo y arroz (Honda et al., 2013). El género *Aminivibrio* se encontrado en reactores bioelectroquímicos productores de energía eléctrica principalmente. Mientras el segundo género predominante *Syntrophobacter*, al realizar una revisión en literatura, se encontró que especies de este género tiene una alta capacidad de oxidación de propionato a acetato (Xin et al., 2019; Yi et al., 2020).

Mientras el género predominante en los ánodos fue *Geobacter*, siendo el 83% de la comunidad del ánodo del reactor de 25.6 m²/m³, mientras en los demás reactores representó 60% para el reactor de 13.3 m²/m³, un 68% en el reactor 37.8 m²/m³ y un 59% en el reactor 50 m²/m³. Varias especies pertenecientes al género *Geobacter* entre las que podemos mencionar *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter psychrophilus* han llegado a representar hasta 99% de la población de la biopelícula, si bien también se encontrado este género con otros como *Rhopseudomas* y *Clostridium*, pasando tiempos de operación largos generalmente mayores de 90 días de trabajo las especies predominantes pertenecerán al género *Geobacter* (logan et al., 2019; Vassilev et al., 2018). Una de las principales razones es debido que realizan una transferencia de electrones directa sobre el ánodo, esto a través de los pilin que contiene, lo que les permite hacer transferencia efectiva de electrones al mismo tiempo de obtener energía, además estos pilis permiten formar una biopelícula gruesa sobre los electrodos, lo que ayuda a generar altas densidades de corriente (Yan et al., 2020; Eerten-Jansen et al., 2015). Mientras la mayoría de los demás géneros los realiza a través de una transferencia mediada a través de quinasa y flavinas que secretan de la membrana para realizar la transferencia y obtener energía (Harb et al., 2020; Lovley, 2017; Ren et al., 2014)

Otra comunidad encontrada en la biopelícula fue el género *Rhodopseudomonas* que pertenece a las bacterias púrpuras no del azufre con alta capacidad de producir hidrógeno, este género podría explicar el color rojizo presente en los ánodos, ya que es característico de biopelículas que generan. Por otro lado la mayoría de las especies de este género proceden a realizar una transferencia de electrones media a través de compuestos como fenazinas o flavinas, una posible explicación para la diferencia de abundancia en los electrodos puede deberse a los campos magnéticos diferentes que se generan en el electrodo debido a su tamaño, sin embargo esto todavía está bajo estudio para su comprobación. Por último género de interés es *Clostridium*, debido a que muchas especies de este género tienen la capacidad de producir caproato y valerato. La baja abundancia de este género sobre el cátodo puede estar relacionada a que pertenece a los microorganismos electrotróficos, es decir a microorganismos que consumen electrones para llevar procesos de reducción junto al CO₂ para la producción de compuestos de carbono. Lo que indicaría por qué este género es más abundante sobre los biocátodos. (Vassilev et al., 2018; van Eerten-Jansen et al., 2015).

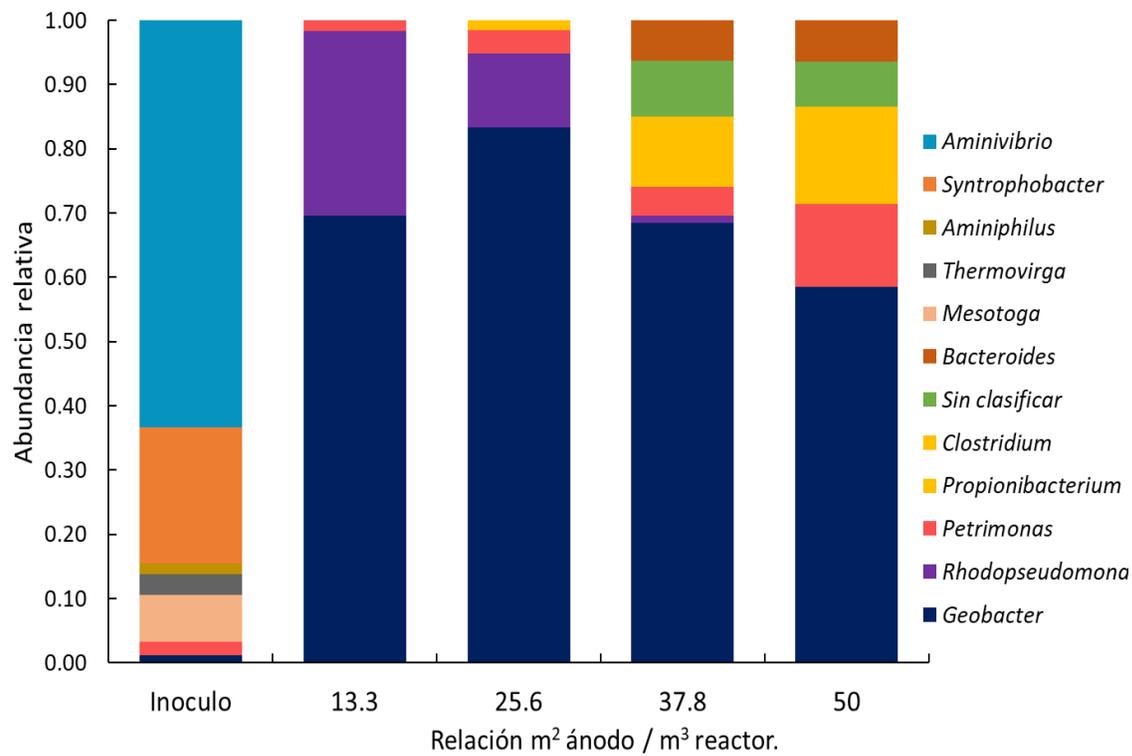


Figura 4.20 Comunidad de bacterias por género que creció en el ánodo.

Al analizar la comunidad de arqueas el género predominante en inóculo fue *Methanolinea* siendo el 89% de la comunidad de arqueas, este género ha sido poco reportado en sistemas bioelectroquímicos por lo que podríamos suponer que las especies de este género no son microorganismos electroactivos. Los artículos que hablan del género *Methanolinea* que su crecimiento óptimo se encuentra en pH ácidos de entre 5.5 a 6.5, por lo que al utilizar pH neutros en este estudio este género fue desplazado por otros que tiene un mejor crecimiento a pH neutros. (Charalambous et al., 2020; Shamsuddin et al., 2019). Actualmente se está realizando estudios con el género *Methanolinea* en procesos de bioaumentación para tratar aguas residuales provenientes de la industria láctea (Wang et al., 2020; Yin et al., 2016). Por su parte el género de arquea que predominó en la biopelícula del ánodo fue *Methanofollis* siendo mayor del 90% de la comunidad microbiana de todos los reactores. Las especies de género *Methanofollis* son arqueas metogénicas hidrogenotrófica estrictas ya que su única fuente de energía es a través de la reducción de CO_2/H_2 a metano (Yuan et al., 2020), la posible homogeneidad de la comunidad de arqueas en el ánodo puede deberse al control de potencial.

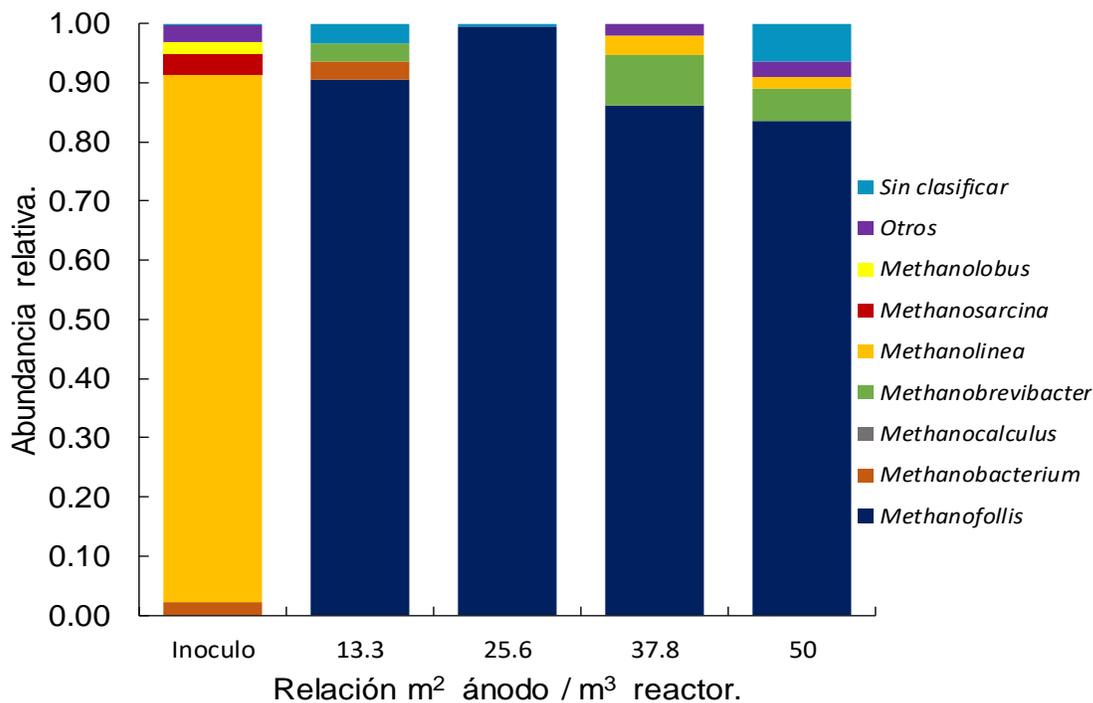


Figura 4.21 Comunidad arqueas por género que crecieron en el ánodo.

4.3.2 Biocátodo

Al analizar la comunidad bacteria del cátodo no hay ningún género predominante sobre el electrodo, a diferencia del ánodo que el género predominante fue *Geobacter*. Una de las razones puede deberse a que se utilizó como cátodo espuma de níquel, ya que algunos estudios apuntan que junto al cobre puede inhibir de forma parcial el desarrollo de las bacterias. Otra razón es debido a que durante la operación cada cátodo produjo un potencial catódico diferente en cada reactor como se puede observar en la Tabla 4.1, además altamente negativos. Algunos estudios recomiendan crecimiento de microorganismos exoelectrogénicos entre un rango 0.0 a 0.2 V(respecto SHE) ya que ayuda a generar una biopelícula estable, no obstante el potencial que predominó fue negativo en el cátodo.

Si bien un análisis de la comunidad microbiana es difícil por la alta diversidad, podemos mencionar en primer lugar el crecimiento del género *Petrimonas*, que creció en todos los cátodos, aunque inicialmente en el inóculo no aparece. La importancia del género *Petrimonas* es que algunas especies como la *Petrimonas sulfuriphila*, realizan procesos de fermentación y utilizan al azufre o nitrito como aceptores de electrones, por lo que pudo contribuir en el proceso electroquímico para la formación del sulfuro de níquel (Ni_3S).

Otro género de interés es *Desulfovibrio* donde se ha reportado que estos microorganismos promueven procesos de corrosión en presencia en metales puros como níquel, cobre, hierro, etc. De igual manera varias especies del género *Desulfovibrio* pertenecen a los microorganismos electrótrofos que pueden llegar a requerir hasta un consumo de corriente 7.7 mA/m^2 para su crecimiento. Uno de los problemas que puede presentar tener esta comunidad en los reactores es que en presencia de sulfato e hidrógeno puede llevar a cabo la producción de H_2S que es un compuesto no deseado durante la producción de metano, ya que se requiere proceso de purificación posteriores para cumplir con las normas para el uso de este biogás (Lopes et al., 2005; Shamsuddin et al., 2019).

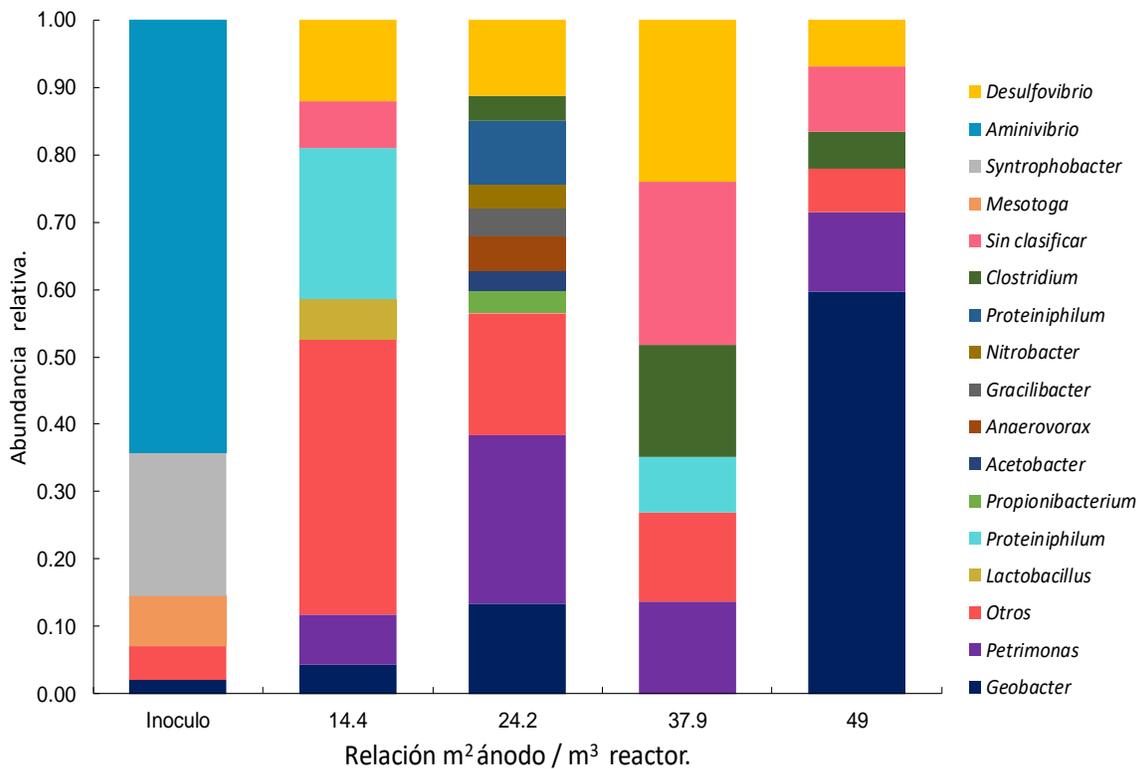


Figura 4.22 Comunidad de bacterias por género que creció en el cátodo.

De igual forma como con la comunidad de bacteria en el cátodo la comunidad de arque muestra ser más heterogénea, sin embargo la principal diferencia es que hay un género dominante por cada relación ánodo y volumen de reactor (Fig. 4.21). En el cátodo del reactor de $13.3 \text{ m}^2/\text{m}^3$ el género predominante fue *Methanocalculus*, este género pertenece a las arqueas hidrogenotróficas y tiene un mejor crecimiento en medios salinos, si bien su principal ruta de producción de metano es a través de la reducción de CO_2 e H_2 , medios concentraciones mayores 1.1 M Na^+ puede llevar la oxidación de aceto para la producción de metano. (Yang et al., 2018).

Mientras en reactor $25.6 \text{ m}^2/\text{m}^3$ el género dominante fue *Methanofollis* el mismo género predominante que en el ánodo. En el reactor para relación de $37.8 \text{ m}^2/\text{m}^3$ el género dominante fue el *Methanobrevibacter* de igual forma las especies que pertenece a este género son arqueas hidrogenotróficas, este microorganismo siempre se encuentra en el tratamiento de aguas residuales de mataderos de animales debido que la mayoría de las especies había en seres humanos y animales (Yang et al., 2018). Un género de interesante el *Methanobrevibacter* debido que su única fuente de energía es el metil, que un subproducto de la reducción de CO_2 e hidrógeno a metano por la vía hidrogenotrófica (van Eerten-Jansen et al., 2015).

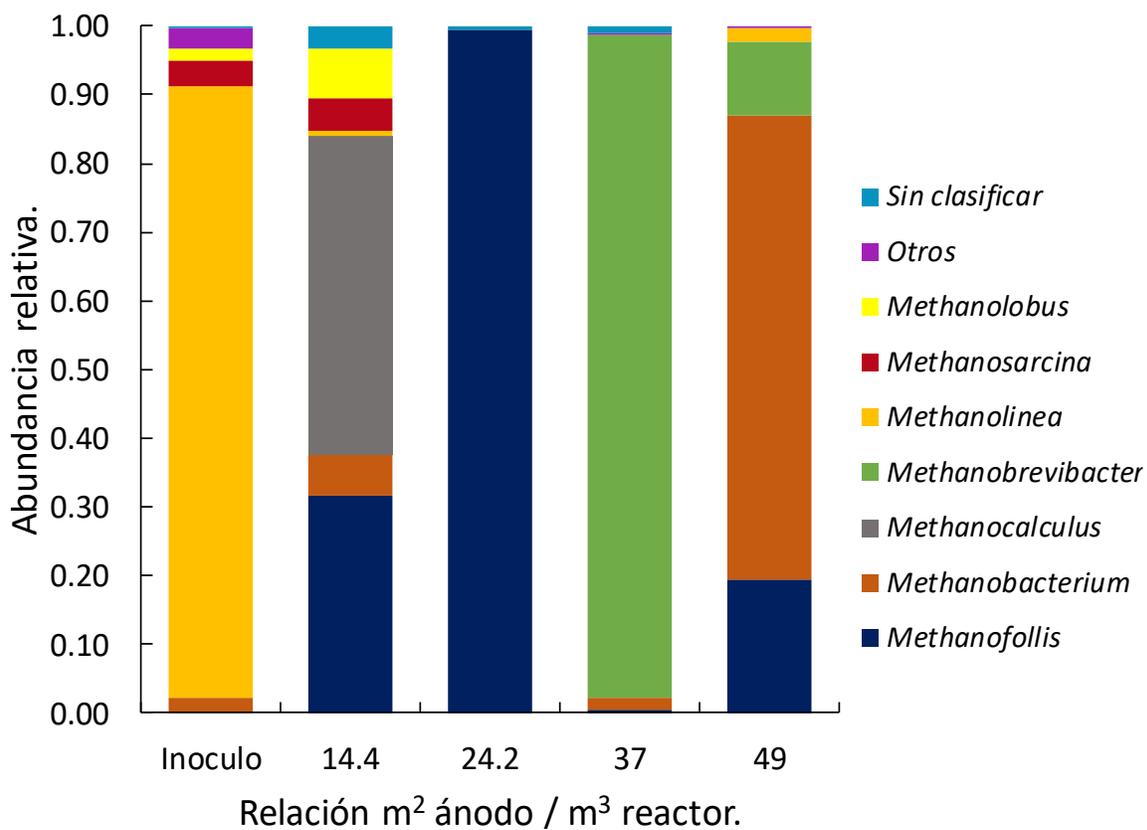


Figura 4.23 Comunidad de aqueas por género que creció sobre el cátodo

4.8 Desempeño de la espuma de níquel a largo plazo

El níquel antes de empezar la operación de los reactores presentaba una coloración grisácea platinada (Fig. 4.24-a). Durante los siguientes días de operación de los reactores, el cátodo se le empezó a formar una biopelícula de color gris, que cubrió a los cátodos después de 65 días de operación (Fig. 4.24-b). También durante la operación de los reactores se observó un cambio de color en los cátodos, siendo tras 180 días de operación la espuma de níquel presentaba un color negro en todos los reactores donde se utilizó (Fig. 4.24-b). Cuando se observó la espuma de níquel nueva a través del estereoscopio, se observó que la espuma tenía una estructura de varios anillos hexagonales unidos entre sí, indicando que tiene una alta superficie el material. Mientras la observación del cátodo utilizado mostraba una coloración negra, así como incrustaciones de cristales de cloruro de níquel, además que presentaba varios anillos destruidos. La observación de la destrucción de los anillos de la estructura de níquel, pueden indicar procesos de corrosión. Por último a observación de la espuma limpia, aun se observaron incrustaciones de cloruro de níquel ,así como la coloración negra en la espuma.

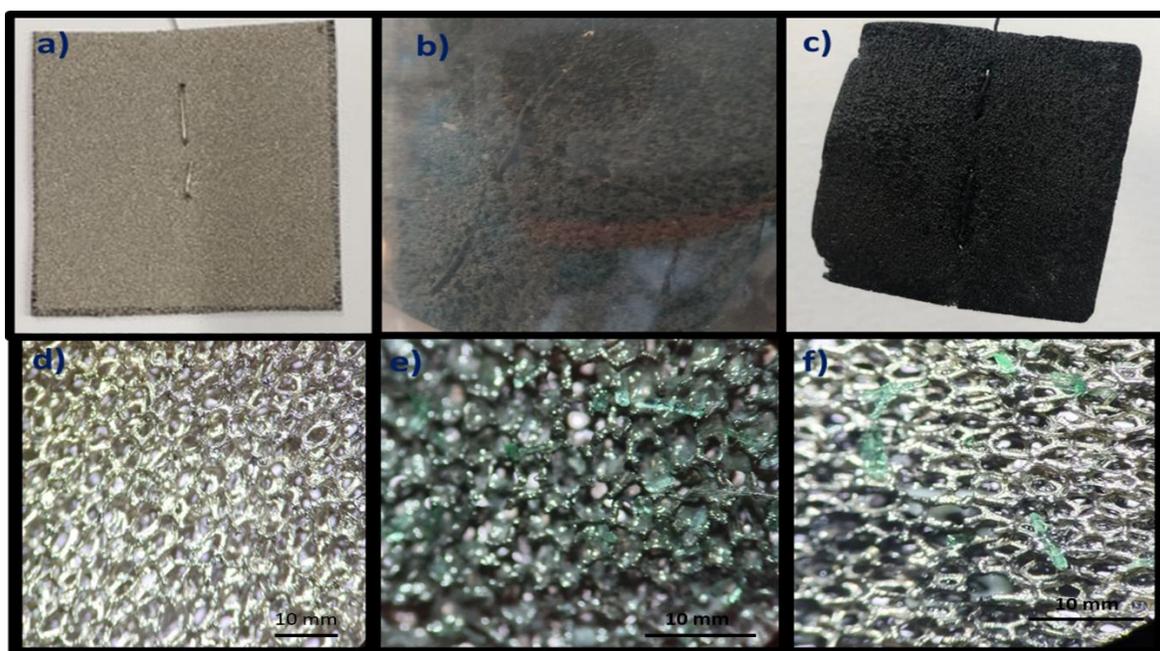


Figura 4.24 a) Electrodo es espuma níquel nuevo. b) Espuma de níquel al día 65 de operación. c) Espuma de níquel al día 165 día de operación. d) Espuma de níquel nueva vista en un estereoscopio aumentado 20X. e) Espuma de níquel después de uso en reactor vista en estereoscopio aumentado 20X f) Espuma de níquel después tratamiento de limpieza vista en estereoscopio aumentada 20X.

Como podemos observar con las voltamétrías cíclicas en primer lugar es que la espuma de níquel nueva tiene un alto poder de reducción siendo aproximadamente de -300 mA a un potencial aproximado de -1.5 V (Fig. 4.24), está la razón que sea utilizado en estudios de reducción de CO₂ y producción de hidrógeno (Flores-Rodriguez et al., 2019; Sangeetha et al., 2016). Mientras la voltamétrica cíclica de la espuma de níquel nueva demostró que no es buena opción el método de limpieza utilizado, debido a que perdió la exposición de sitios activos la espuma de níquel. Por otra parte la voltamétrica cíclica del electrodo utilizado mostro que si bien aún tiene sitios activos para llevar a cabo reacciones de reducción, también tiene un pico de oxidación lo que podría indicar que podría está llevando un proceso de corrosión en electrodo (Fig. 4.25) (Shamsuddin et al., 2019).

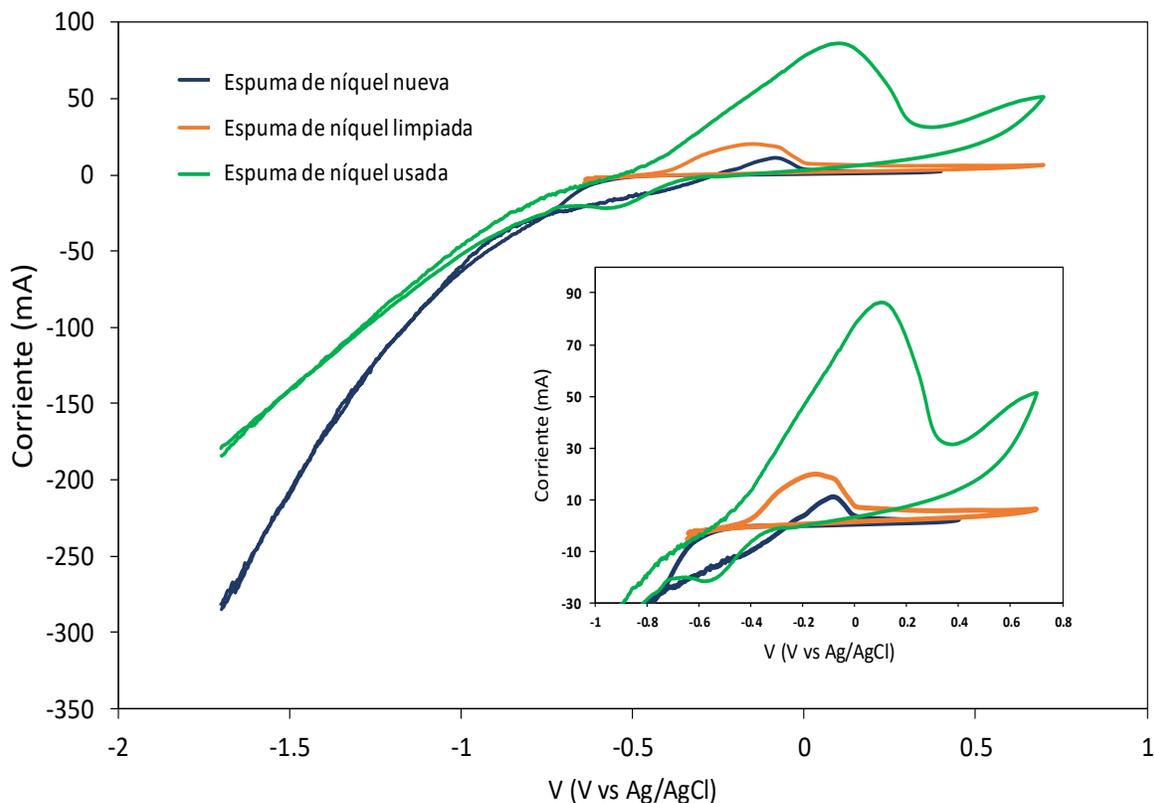


Figura 4.25 Voltamétrías de espumas de níquel en diferentes condiciones de uso.

6. Conclusiones

En los reactores de cámara única donde aplico el potencial anódico y se probaron las relaciones, se logró obtener un biogás con una alta concentración de metano en el biogás siendo esta en promedio de 85%, siendo un 15% más de concentración de metano con respecto a los reactores de control donde se alcanzaron concentraciones máximas de 70% de metano.

Se evaluó el uso de sistemas bioelectroquímicos microbianos para incrementar el contenido de CH₄ en el biogás. Se determinó que una relación de 25.6 m²/m³ con un potencial anódico de 0.5 V (vs Ag/AgCl) maximiza la producción de CH₄ en reactores bioelectroquímicos de una cámara. Se alcanzaron productividades de metano de 344 mL CH₄/L/d y rendimientos de 284 mL CH₄/g DQO con remociones de materia orgánica >90%.

La relación A/V de 253.6 m²/m³ se logró una eficiencia energética 150≥9.2, es decir una recuperación 50% de energía que podría ser aprovechada en forma de biogás. No obstante a utilizar una relación A/V a más de 25.6 m²/m³ genera potenciales más altos en el cátodo haciendo el proceso ineficiente energéticamente. Ya que al utilizar una relación a 37 m²/m³ se tienen mayores productividades de CH₄ pero la eficiencia energética disminuye 60 % respecto a la relación de 25.6 m²/m³.

Controlando el potencial anódico a 0.5 V (vs Ag/AgCl) se favoreció el crecimiento *Geobacter sp.* en la biopelícula electroactiva, mientras que *Methanofollis sp.* predomina entre las arqueas sobre el ánodo. Mientras que debido a los diferentes cambios de potenciales catódicos creció una biopelícula bastante heterogénea de bacterias, indicando que son muy susceptibles a los cambios de potenciales sobre el electrodo.

Por otra parte los altos potenciales altamente negativos favorecieron el crecimiento de un género específico de arquea en cada cátodo siendo los géneros *Methanocalculus sp.*, *Methanofollis sp.*, *Methanobrevibacter sp.*, *Methanobacterium sp.*

La principal ruta de transferencia de electrones es la vía indirecta dado que las arqueas presentes en los reactores son hidrogenotróficas estrictas y la actividad metabólica para obtener energía parte de la reducción del CO_2 con H_2 para generar CH_4 .

7. Perspectivas

Si bien existen estudios desde principios del siglo XXI sobre los sistemas bioelectroquímicos, mayoría de estudios y avances se han realizado en la última década, y más a lo referente a los sistemas enfocados a metano. No obstante todavía hay áreas en que se podría profundizar para mejorar los rendimientos obtenidos en este trabajo partiendo de base la relación obtenida. Entre las áreas de oportunidad podemos mencionar:

- Evaluar diferentes concentraciones del sustrato para encontrar una concentración óptima que nos ayuden a mejorar los rendimientos y tasas de producción de metano. Esto para evitar procesos de inhibición en el sistema, así como tener un flujo de electrones adecuado para producción de CH_4 .
- Realizar estudios con efluentes acidogénicos reales provenientes de los reactores de producción de metano por fermentación oscura, entre los que podríamos mencionar los provenientes de un reactor que utilizan suero de leche como sustrato. Esta recomendación se hace debido que su composición final de ácidos grasos fue muy similar a la utilizada en este trabajo.
- Realizar la operación de un reactor con la misma configuración en forma continua para realizar una comparación para ver cual entrega mejores resultados operacionales.
- Realizar un estudio con los reactores, metiendo un proceso de recirculación de biogás. Esto debido que puede mejorar la concentración de metano en el mismo.

Referencias

- Adnan, A. I., Ong, M. Y., Nomanbhay, S., Chew, K. W., y Show, P. L. (2019). Technologies for biogas upgrading to biomethane: A review. *Bioengineering*, 6, 1–23.
- Ahn, Y., Im, S., y Chung, J. W. (2017). Optimizing the operating temperature for microbial electrolysis cell treating sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42, 27784–27791.
- AIE (2020), Emisiones globales de CO2 en 2019, IEA, París <https://www.iea.org/articles/global-co2-emissions-in-2019>
- Almeida, A., Nafarrate-Rivera, E., Alvarado, A., Luevanos, M., Oropeza, R., y Balagurusamy, N. (2011). Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 3, 14–34.
- Aryal, N., Halder, A., Tremblay, P., Chi, Q., y Zhang, T. (2016). Electrochimica Acta Enhanced microbial electrosynthesis with three-dimensional graphene functionalized cathodes fabricated via solvothermal synthesis. *Electrochimica Acta*, 217, 117–122.
- Aryal, N., Kvist, T., Ammam, F., Pant, D., y Ottosen, L. D. M. (2018). An overview of microbial biogas enrichment. *Bioresource Technology*, 264, 359–369.
- Asztalos, J. R., y Kim, Y. (2015). Enhanced digestion of waste activated sludge using microbial electrolysis cells at ambient temperature. *Water Research*, 87, 503–512.
- Axelsson, L., Franzén, M., Ostwald, M., Berndes, G., Lakshmi, G., y Ravindranath, N. H. (2012). Perspective: *Jatropha* cultivation in southern India: Assessing farmers' experiences. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6, 246–256. <https://doi.org/10.1002/bbb>
- Bakonyi, P., Kumar, G., Koók, L., Tóth, G., Rózsenszki, T., Bélafi-Bakó, K., y Nemestóthy, N. (2018). Microbial electrohydrogenesis linked to dark fermentation as integrated application for enhanced biohydrogen production: A review on process characteristics, experiences and lessons. *Bioresource Technology*, 251, 381–389
- Bang, H. S., Bang, H. S., Jeon, G. H., Oh, I. H., y Ro, C. S. (2012). Gas tungsten arc welding assisted hybrid friction stir welding of dissimilar materials Al6061-T6 aluminum alloy and STS304 stainless steel. *Materials and Design*, 37, 48–55.
- Battista, F., Frison, N., Pavan, P., Cavinato, C., Gottardo, M., Fatone, F., Eusebi, A. L., Majone, M., Zeppilli, M., Valentino, F., Fino, D., Tommasi, T., y Bolzonella, D. (2020). Food wastes and sewage sludge as feedstock for an urban biorefinery producing biofuels and added-value bioproducts. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 95, 328–338.

- Blasco-Gómez, R., Batlle-Vilanova, P., Villano, M., Balaguer, M. D., Colprim, J., y Puig, S. (2017). On the edge of research and technological application: A critical review of electromethanogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 874
- Call, D., y Logan, B. E. (2008). Hydrogen production in a single chamber microbial electrolysis cell lacking a membrane. *Environmental Science and Technology*, 42(9), 3401–3406.
- Callegari, A., Bolognesi, S., Ceconet, D., y Capodaglio, A. G. (2019). Production technologies, current role, and future prospects of biofuels feedstocks: A state-of-the-art review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50(4), 384–436.
- Cao, Y., Mu, H., Liu, W., Zhang, R., Guo, J., Xian, M., y Liu, H. (2019). Electricigens in the anode of microbial fuel cells: Pure cultures versus mixed communities. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 1–14.
- Charalambous, P., Shin, J., Shin, S. G., y Vyrides, I. (2020). Anaerobic digestion of industrial dairy wastewater and cheese whey: Performance of internal circulation bioreactor and laboratory batch test at pH 5-6. *Renewable Energy*, 147, 1–10.
- Cardeña, R. (2018). Evaluación de los factores que afectan la cámara anódica y catódica en celdas de electrólisis microbiana utilizadas para la producción de hidrógeno (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Cheng, S., Xing, D., Call, D. F., y Logan, B. E. (2009). Direct biological conversion of electrical current into methane by electromethanogenesis. *Environmental Science and Technology*, 43(10), 3953–3958.
- Cusick, R., Bryan, B., Parker, D., Merrill, M. D., Mehanna, M., Kiely, P., Liu, G., y Logan, B. E. (2011). Performance of a pilot-scale continuous flow microbial electrolysis cell fed winery wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(6), 2053–2063.
- da Costa, R., Valle, R. M., Hernández, J. J., Malaquias, A. C. T., Coronado, C. J. R., & Pujatti, F. J. P. (2020). Experimental investigation on the potential of biogas/ethanol dual-fuel spark-ignition engine for power generation: Combustion, performance and pollutant emission analysis. *Applied Energy*, 261, 114438.
- De Vrieze, J., Arends, J. B. A., Verbeeck, K., Gildemyn, S., y Rabaey, K. (2018). Interfacing anaerobic digestion with (bio)electrochemical systems: Potentials and challenges. *Water Research*, 146, 244–255.
- del Pilar Anzola Rojas, M., Mateos, R., Sotres, A., Zaiat, M., Gonzalez, E. R., Escapa, A., De Wever, H., y Pant, D. (2018). Microbial electrosynthesis (MES) from CO₂ is resilient to fluctuations in renewable energy supply. *Energy Conversion and Management*, 177, 272–279.
- Ding, A., Yang, Y., Sun, G., y Wu, D. (2015). Impact of applied voltage on methane generation and microbial activities in an anaerobic microbial electrolysis cell (MEC). *Chemical Engineering Journal*, 283, 260–265.

- Enzmann, F., Mayer, F., Rother, M., y Holtmann, D. (2018). Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. *AMB Express*, 8(1), 1–22.
- Fazal, T., Saif ur Rehman, M., Mushtaq, A., Hafeez, A., Javed, F., Aslam, M., Fatima, M., Faisal, A., Iqbal, J., Rehman, F., y Farooq, R. (2019). Simultaneous production of bioelectricity and biogas from chicken droppings and dairy industry wastewater employing bioelectrochemical system. *Fuel*, 256, 115902.
- Feng, Q., Song, Y., y Bae, B. (2016). Bioresource Technology Influence of applied voltage on the performance of bioelectrochemical anaerobic digestion of sewage sludge and planktonic microbial communities at ambient temperature. *Bioresource Technology*, 220, 500–508.
- Feng, Q., Song, Y. C., Yoo, K., Kuppanan, N., Subudhi, S., y Lal, B. (2018). Polarized electrode enhances biological direct interspecies electron transfer for methane production in upflow anaerobic bioelectrochemical reactor. *Chemosphere*, 204, 186–192.
- Flores-Rodriguez, C., Nagendranatha Reddy, C., y Min, B. (2019). Enhanced methane production from acetate intermediate by bioelectrochemical anaerobic digestion at optimal applied voltages. *Biomass and Bioenergy*, 127, 105261.
- Gajaraj, S., Huang, Y., Zheng, P., y Hu, Z. (2017). Methane production improvement and associated methanogenic assemblages in bioelectrochemically assisted anaerobic digestion. *Biochemical Engineering Journal*, 117, 105–112.
- Garcia, M., Knuutila, H. K., Aronu, U. E., yGu, S. (2017). Influence of substitution of water by organic solvents in amine solutions on absorption of CO₂. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 78, 286–305.
- Gong, H., Chen, Z., Yu, H., Wu, W., Wang, W., Pang, H., yDu, M. (2018). Methane recovery in a combined amine absorption and gas steam boiler as a self-provided system for biogas upgrading. *Energy*, 157, 744-751.
- Götz, M., Lefebvre, J., Mörs, F., McDaniel Koch, A., Graf, F., Bajohr, S., Reimert, R., y Kolb, T. (2016). Renewable Power-to-Gas: A technological and economic review. *Renewable Energy* 85, 1371-1390.
- Gujer, W., & Zehnder, A. J. B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 15(8–9), 127–167.
- Guo, Z., Liu, W., Yang, C., Gao, L., Thangavel, S., Wang, L., He, Z., Cai, W., y Wang, A. (2017). Computational and experimental analysis of organic degradation positively regulated by bioelectrochemistry in an anaerobic bioreactor system. *Water Research*, 125, 170–179.
- Guo, Z., Thangavel, S., Wang, L., He, Z., Cai, W., Wang, A., y Liu, W. (2017). Efficient methane production from beer wastewater in a membraneless microbial electrolysis cell with a stacked cathode: The effect of the cathode/anode ratio on bioenergy recovery. *Energy and Fuels*, 31(1), 615–620.

- Gustafsson, M., Cruz, I., Svensson, N., y Karlsson, M. (2020). Scenarios for upgrading and distribution of compressed and liquefied biogas — Energy, environmental, and economic analysis. *Journal of Cleaner Production*, 256, 120473.
- Harb, M., Ermer, N., Bounehme Sawaya, C., y Smith, A. L. (2020). Increased applied voltage in the presence of GAC enhances microbial activity and methane production during anaerobic digestion of food waste. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 6(3), 737–746.
- He, L., Du, P., Chen, Y., Lu, H., Cheng, X., Chang, B., yWang, Z. (2017). Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71, 388–403.
- Honda, T., Fujita, T., y Tonouchi, A. (2013). *Aminivibrio pyruvatiphilus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, amino-acid-degrading bacterium from soil of a Japanese rice field. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 3679–3686.
- Jiang, Y., May, H. D., Lu, L., Liang, P., Huang, X., y Ren, Z. J. (2019). Carbon dioxide and organic waste valorization by microbial electrosynthesis and electro-fermentation. *Water Research*, 149, 42–55.
- Jiraprasertwong, A., Maitriwong, K., y Chavadej, S. (2019). Production of biogas from cassava wastewater using a three-stage upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Renewable Energy*, 130, 191–205.
- Karthikeyan, R., Cheng, K., Selvam, A., Bose, A., y Wong, J. W. C. (2017). Bioelectrohydrogenesis and inhibition of methanogenic activity in microbial electrolysis cells - A review. *Biotechnology Advances*, 35(6), 758–771.
- Kishore, S., Velvizhi, G., Sulonen, M. L. K., Haavisto, J. M., Oguz, E., Yusuf, A., Singh, S., Arya, D., Modestra, J. A., Krishna, K. V., Verma, A., Ozkaya, B., Lakaniemi, A., Puhakka, J. A., y Mohan, S. V. (2016). Microbial electrochemical technologies with the perspective of harnessing bioenergy: Maneuvering towards upscaling. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 462–476.
- Kokko, M., Epple, S., Gescher, J., y Kerzenmacher, S. (2018). Bioresource Technology Effects of wastewater constituents and operational conditions on the composition and dynamics of anodic microbial communities in bioelectrochemical systems. *Bioresource Technology*, 258, 376–389.
- Kondaveeti, S., & Min, B. (2015). Bioelectrochemical reduction of volatile fatty acids in anaerobic digestion effluent for the production of biofuels. *Water research*, 87, 137-144.
- Kougias, P. G., y Angelidaki, I. (2018). Biogas and its opportunities — A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 12(April), 14.
- Kumar, G., Bakonyi, P., Zhen, G., Sivagurunathan, P., Koók, L., Kim, S. H., Tóth, G., Nemestóthy, N., y Bélafi-Bakó, K. (2017). Microbial electrochemical systems for sustainable biohydrogen production: Surveying the experiences from a start-up viewpoint. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 70, 589–597.

- Kumar, G., Saratale, R., Kadier, A., Sivagurunathan, P., Zhen, G., Kim, S. H., y Saratale, G. D. (2017). A review on bio-electrochemical systems (BESs) for the syngas and value added biochemicals production. *Chemosphere*, 177, 84–92.
- Lee, M., Nagendranatha Reddy, C., y Min, B. (2019). In situ integration of microbial electrochemical systems into anaerobic digestion to improve methane fermentation at different substrate concentrations. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(4), 2380–2389.
- Li, H., Mehmood, D., Thorin, E., y Yu, Z. (2017). Biomethane Production Via Anaerobic Digestion and Biomass Gasification. *Energy Procedia*, 105, 1172–1177.
- Li, X., Zeng, C., Lu, Y., Liu, G., Luo, H., y Zhang, R. (2019). Development of methanogens within cathodic biofilm in the single-chamber microbial electrolysis cell. *Bioresource Technology*, 274, 403–409.
- Li, Y., Wu, X., Wang, J., Gao, X., Hu, Y., y Wen, Z. (2020). Ni-less cathode with 3D free-standing conductive network for planar Na-NiCl₂ batteries. *Chemical Engineering Journal*, 387, 124059.
- Liu, D., Zhang, L., Chen, S., Buisman, C., y Ter Heijne, A. (2016). Bioelectrochemical enhancement of methane production in low temperature anaerobic digestion at 10 °C. *Water Research*, 99, 281–287.
- Logan, B. E., Rossi, R., Ragab, A., y Saikaly, P. E. (2019). Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(5), 307–319.
- Lopes, F. A., Morin, P., Oliveira, R., y Melo, L. F. (2005). The influence of nickel on the adhesion ability of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 46(2), 127–133.
- Lovley, D. R. (2017). Syntrophy Goes Electric: Direct Interspecies Electron Transfer. *Annual Review of Microbiology*, 71(1), 643–664.
- Macy, R. (2005). *Química Orgánica simplificada*. Editorial Reverté S.A.
- Martinez, C., y Alvarez, L. H. (2018). Application of redox mediators in bioelectrochemical systems. *Biotechnology Advances*, 36(5), 1412–1423.
- Mathuriya, A., y Yakhmi, J. V. (2016). Microbial fuel cells - Applications for generation of electrical power and beyond. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(1), 127–143.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540–555.
- Mohan, S., Velvizhi, G., Modestra, J., y Srikanth, S. (2014). Microbial fuel cell: Critical factors regulating bio-catalyzed electrochemical process and recent advancements. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 779–797.
- Molino, A., Nanna, F., Ding, Y., Bikson, B., y Braccio, G. (2013). Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel*, 103, 1003–1009.

- Montpart, N., Rago, L., Baeza, J., y Guisasola, A. (2015). Hydrogen production in single chamber microbial electrolysis cells with different complex substrates. *Water Research*, 68, 601–615.
- Morita, M., y Sasaki, K. (2012). Factors influencing the degradation of garbage in methanogenic bioreactors and impacts on biogas formation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(3), 575–582.
- Muñoz-Aguilar, R. S., Molognoni, D., Bosch-Jimenez, P., Borràs, E., Della Pirriera, M., y Luna, Á. (2018). Design, operation, modeling and grid integration of power-to-gas bioelectrochemical systems. *Energies*, 11(8), 1–15.
- Navaneeth, B., Prasad, R. H., Chiranjeevi, P., Chandra, R., Sarkar, O., Verma, A., Subudhi, S., Lal, B., y Mohan, S. V. (2015). Bioresource Technology Implication of composite electrode on the functioning of photo-bioelectrocatalytic fuel cell operated with heterotrophic-anoxygenic condition. *Bioresource technology*, 185, 331–340.
- JNevin, K. P., Woodard, T. L., Franks, A. E., Summers, Z. M., y Lovley, D. R. (2010). Microbial electrosynthesis: Feeding microbes electricity to convert carbon dioxide and water to multicarbon extracellular organic compounds. *mBio*, 1(2).
- Okuwaki, A., Kanome, O., y Okabe, T. (1984). The precipitation of Ni₃S₂ from sulfate solutions. *Metallurgical Transactions B*, 15(4), 609–615.
- Osset-Álvarez, M., Rovira-Alsina, L., Pous, N., Blasco-Gómez, R., Colprim, J., Balaguer, M. D., y Puig, S. (2019). Niches for bioelectrochemical systems on the recovery of water, carbon and nitrogen in wastewater treatment plants. *Biomass and Bioenergy*, 130, 105380.
- Park, J., Lee, B., Shin, W., Jo, S., y Jun, H. (2018). Application of a rotating impeller anode in a bioelectrochemical anaerobic digestion reactor for methane production from high-strength food waste. *Bioresource Technology*, 259, 423–432.
- Park, J., Lee, B., Tian, D., y Jun, H. (2018). Bioelectrochemical enhancement of methane production from highly concentrated food waste in a combined anaerobic digester and microbial electrolysis cell. *Bioresource Technology*, 247, 226–233.
- Parra Huertas, R. A. (2015). Digestión anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, 10(2), 142–159.
- Peng, X., Zhang, S. Y., Li, L., Zhao, X., Ma, Y., y Shi, D. (2018). Long-term high-solids anaerobic digestion of food waste: Effects of ammonia on process performance and microbial community. *Bioresource Technology*, 262(174), 148–158.
- Rader, G., y Logan, B. E. (2010a). Multi-electrode continuous flow microbial electrolysis cell for biogas production from acetate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(17), 8848–8854.
- Rader, G., y Logan, B. E. (2010b). Multi-electrode continuous flow microbial electrolysis cell for biogas production from acetate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(17), 8848–8854.

- Ren, L., Ahn, Y., Hou, H., Zhang, F., y Logan, B. E. (2014). Electrochemical study of multi-electrode microbial fuel cells under fed-batch and continuous flow conditions. *Journal of Power Sources*, 257, 454–460.
- Rousseau, R., Etcheverry, L., Roubaud, E., Basséguy, R., Délia, M., y Bergel, A. (2020). Microbial electrolysis cell (MEC): Strengths, weaknesses and research needs from electrochemical engineering standpoint. *Applied Energy*, 257, 113938.
- Rusli, S., Abu Bakar, Loh., y Mastar, M. (2019). Review of high-performance biocathode using stainless steel and carbon-based materials in Microbial Fuel Cell for electricity and water treatment. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(58), 30772–30787.
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., y Vervaeren, H. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1633–1645.
- Sangeetha, T., Guo, Z., Liu, W., Cui, M., Yang, C., Wang, L., y Wang, A. (2016). Cathode material as an influencing factor on beer wastewater treatment and methane production in a novel integrated upflow microbial electrolysis cell (Upflow-MEC). *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(4), 2189–2196.
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., y Ieropoulos, I. (2017). Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*, 356, 225–244.
- Sasaki, K., Sasaki, D., Tsuge, Y., Morita, M., y Kondo, A. (2018). Changes in the microbial consortium during dark hydrogen fermentation in a bioelectrochemical system increases methane production during a two-stage process. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1).
- Seman, S. Z. A., Idris, I., Abdullah, A., Shamsudin, I. K., y Othman, M. R. (2019). Optimizing purity and recovery of biogas methane enrichment process in a closed landfill. *Renewable Energy*, 131, 1117–1127.
- Shamsuddin, R. A., Abu Bakar, M. H., Wan Daud, W. R., Hong, K. B., y Jahim, J. M. (2019). Can electrochemically active biofilm protect stainless steel used as electrodes in bioelectrochemical systems in a similar way as galvanic corrosion protection? *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(58), 30512–30523.
- Sharma, M., Bajracharya, S., Gildemyn, S., Patil, S. A., Alvarez-Gallego, Y., Pant, D., Rabaey, K., y Dominguez-Benetton, X. (2014). A critical revisit of the key parameters used to describe microbial electrochemical systems. *Electrochimica Acta*, 140, 191–208.
- Srikanth, S., Singh, D., Vanbroekhoven, K., Pant, D., Kumar, M., Puri, S. K., y Ramakumar, S. S. V. (2018). Electro-biocatalytic conversion of carbon dioxide to alcohols using gas diffusion electrode. *Bioresource Technology*, 265, 45–51.
- Uddin, M. N., Techato, K., Taweekun, J., Rahman, M. M., Rasul, M. G., Mahlia, T. M. I., y Ashrafur, S. M. (2018). An overview of recent developments in biomass pyrolysis technologies. *Energies*, 11(11).

- van Eerten-Jansen, M. C. A. A., Jansen, N. C., Plugge, C. M., de Wilde, V., Buisman, C. J. N., y ter Heijne, A. (2015). Analysis of the mechanisms of bioelectrochemical methane production by mixed cultures. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(5), 963–970.
- Vassilev, I., Hernandez, P. A., Battle-Vilanova, P., Freguia, S., Krömer, J. O., Keller, J., Ledezma, P., yViridis, B. (2018). Microbial Electrosynthesis of Isobutyric, Butyric, Caproic Acids, and Corresponding Alcohols from Carbon Dioxide. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 6(7), 8485–8493.
- Villano, M., Ralo, C., Zeppilli, M., Aulenta, F., y Majone, M. (2016). Influence of the set anode potential on the performance and internal energy losses of a methane-producing microbial electrolysis cell. *Bioelectrochemistry*, 107, 1–6.
- Wang, C., Li, Y., y Sun, Y. (2020). Acclimation of Acid-Tolerant Methanogenic Culture for Bioaugmentation: Strategy Comparison and Microbiome Succession. *ACS Omega*.
- Wang, H., Xu, J., Sheng, L., yLiu, X. (2018). Effect of addition of biogas slurry for anaerobic fermentation of deer manure on biogas production. *Energy*, 165, 411–418. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.09.196>
- Witte, J., Settino, J., Biollaz, S. M. A., y Schildhauer, T. J. (2018). Direct catalytic methanation of biogas – Part I: New insights into biomethane production using rate-based modelling and detailed process analysis. *Energy Conversion and Management*, 171, 750–768.
- Xin, X., Chen, B. Y., y Hong, J. (2019). Unraveling interactive characteristics of microbial community associated with bioelectric energy production in sludge fermentation fluid-fed microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 289, 121652.
- Yang, H. Y., Bao, B. L., Liu, J., Qin, Y., Wang, Y. R., Su, K. Z., Han, J. C., y Mu, Y. (2018). Temperature dependence of bioelectrochemical CO₂ conversion and methane production with a mixed-culture biocathode. *Bioelectrochemistry*, 119, 180–188.
- Yang, X., Chen, Y., Wu, R., Nie, Z., Han, Z., Tan, K., y Chen, L. (2018). Potential of biogenic methane for pilot-scale fermentation ex situ with lump anthracite and the changes of methanogenic consortia. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 45(4), 229–237.
- Yi, Y., Wang, H. Z., Chen, Y. T., Gou, M., Xia, Z. Y., Hu, B., Nie, Y., y Tang, Y. Q. (2020). Identification of Novel Butyrate- and Acetate-Oxidizing Bacteria in Butyrate-Fed Mesophilic Anaerobic Chemostats by DNA-Based Stable Isotope Probing. *Microbial Ecology*, 79(2), 285–298.
- Yin, Q., Zhu, X., Zhan, G., Bo, T., Yang, Y., Tao, Y., He, X., Li, D., y Yan, Z. (2016). Enhanced methane production in an anaerobic digestion and microbial electrolysis cell coupled system with co-cultivation of *Geobacter* and *Methanosarcina*. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 42, 210–214.

- Yuan, T., Ko, J. H., Zhou, L., Gao, X., Liu, Y., Shi, X., y Xu, Q. (2020). Iron oxide alleviates acids stress by facilitating syntrophic metabolism between *Syntrophomonas* and methanogens. *Chemosphere*, 247, 125866.
- Žák, M., Bendová, H., Friess, K., Bara, J. E., y Izák, P. (2018). Single-step purification of raw biogas to biomethane quality by hollow fiber membranes without any pretreatment – An innovation in biogas upgrading. *Separation and Purification Technology*, 203, 36–40.
- Zakaria, B. S., y Dhar, B. R. (2019). Progress towards catalyzing electro-methanogenesis in anaerobic digestion process: Fundamentals, process optimization, design and scale-up considerations. *Bioresource Technology*, 289, 121738.
- Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., y Tan, T. (2014). Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 383–392.
- Zhang, Y., y Angelidaki, I. (2014). Microbial electrolysis cells turning to be versatile technology: Recent advances and future challenges. *Water Research*, 56, 11–25.
- Zhen, G., Kobayashi, T., Lu, X., y Xu, K. (2015). Understanding methane bioelectrosynthesis from carbon dioxide in a two-chamber microbial electrolysis cells (MECs) containing a carbon biocathode. *Bioresource Technology*, 186, 141–148.
- Zhen, G., Pan, Y., Lu, X., Li, Y. Y., Zhang, Z., Niu, C., Kumar, G., Kobayashi, T., Zhao, Y., y Xu, K. (2019). Anaerobic membrane bioreactor towards biowaste biorefinery and chemical energy harvest: Recent progress, membrane fouling and future perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 115, 109392.
- Zhou, K., Chaemchuen, S., y Verpoort, F. (2017). Alternative materials in technologies for Biogas upgrading via CO₂ capture. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 1414–1441.

Anexos

Anexo 1: Prueba de normalidad de los datos

Se realizó la prueba de normalidad a los datos obtenidos en el periodo estable de los reactores para ver si los datos provenían o no de distribución normal y definir las pruebas estadísticas más adecuadas para el análisis de datos.

La prueba se realizó a través de minitab 18 utilizando el método de Anderson-Darling con un valor de alfa(α) igual a 0.05, siendo la hipótesis nula (H_0) que los datos siguen una distribución normal. Una vez obtenido la gráfica y el valor de p se realizan las siguientes consideraciones (minitab, 2020):

Valor $p \leq \alpha$: Los datos no una distribución normal (Rechaza H_0)

Si el valor p es menor que o igual al nivel de significancia, la decisión es rechazar la hipótesis nula y concluir que sus datos no siguen una distribución normal.

Valor $p > \alpha$: Usted no puede concluir que los datos no siguen una distribución normal (No puede rechazar H_0)

Si el valor p es mayor que el nivel de significancia, la decisión es que no se puede rechazar la hipótesis nula. Usted no tiene suficiente evidencia para concluir que los datos no siguen una distribución normal.

Como podemos observar en la figura 1 y 1.1 el valor de p obtenido es menor a 0.005 y con ello menor a alfa por lo que se rechaza la hipótesis nula y los datos no siguen una distribución normal con un valor de alfa 0.05.

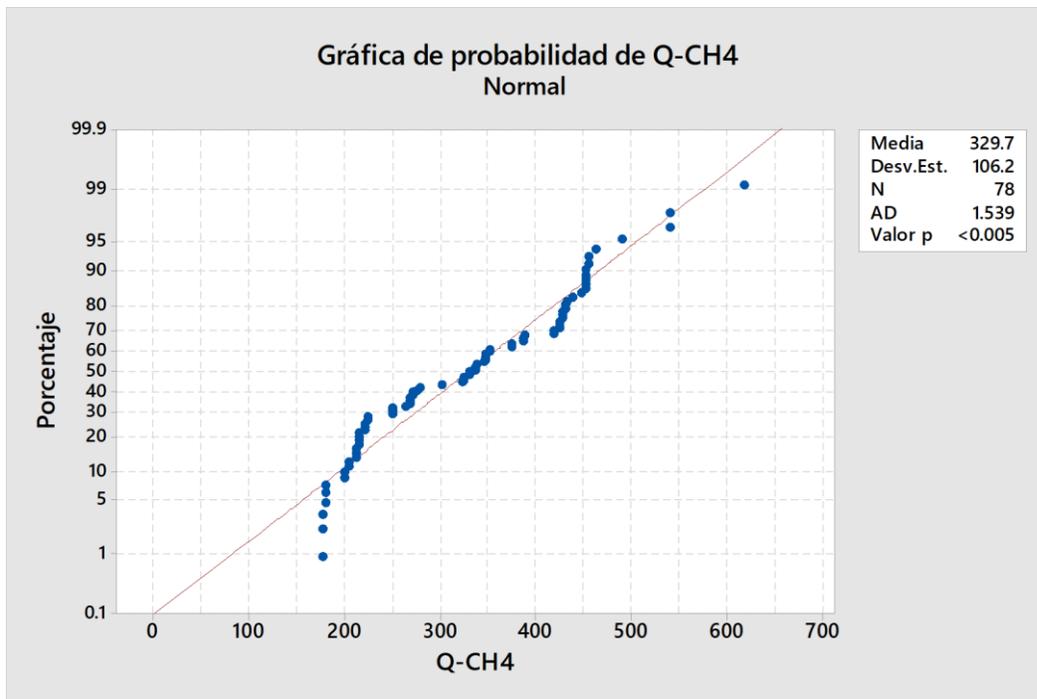


Figura 1.2 Prueba de normalidad de tasa de producción de metano.

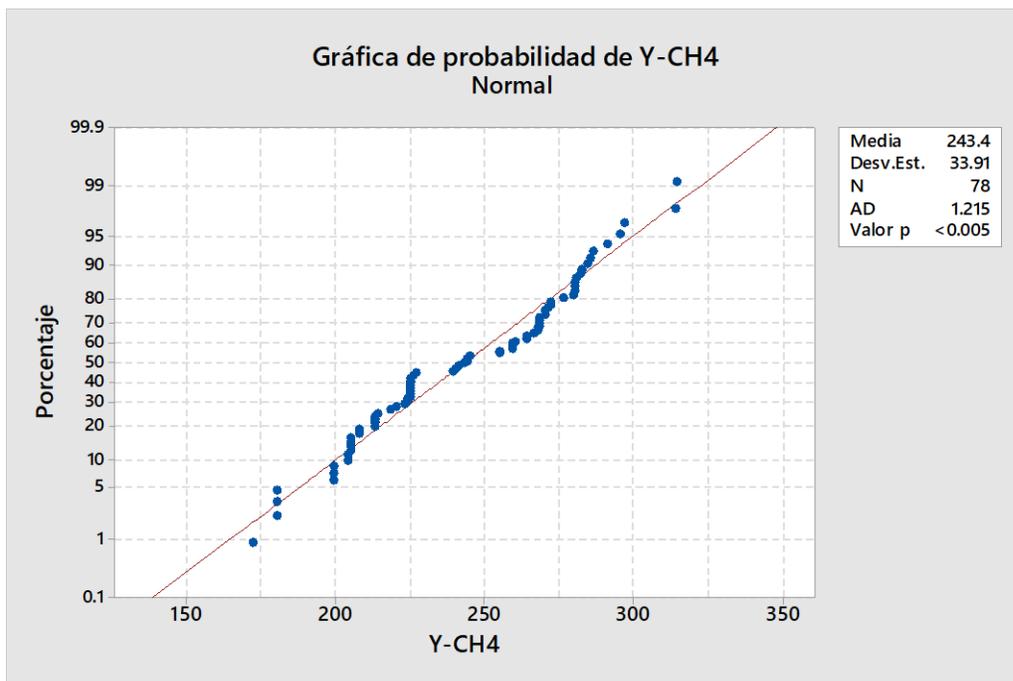


Figura 1.2 Prueba de normalidad de rendimiento de metano.

ANEXO 2 Prueba estadísticas

En las Tablas 2.1, 2.3, 2.5 y 2.7 se muestra el análisis que arrojó la prueba Kruskal-Wallis, esta se realizó a través de Excel 365 y en complementó de software Real Statistics Resource. Mientras las Tablas 2.2, 2.4, 2.6 y 2.8 se muestra un ejemplo de cómo se realizó la prueba de Bonferroni para determinar entre que variables de respuesta había o no diferencia significativa.

Tabla 2.1 Prueba de Kruskal-Wallis para tasa de producción de metano

	13.3	25.6	37.8	50	
median	267	336	442	433	
rank sum	45	219	343	296	
count	9	13	10	10	42
r^2/n	225	3689.307692	11764.9	8761.6	24440.80769
H-stat					33.3973933
H-ties					33.40052656
df					3
<i>p-value</i>					0
<i>alpha</i>					0.05
sig					yes

Tabla 2.2 Prueba de Bonferroni para tasa de producción de metano

CONTRAST KW			
<i>group</i>	<i>contrast</i>	<i>R-mean</i>	<i>size</i>
1		5	9
2	1	16.84615385	13
3		34.3	10
4	-1	29.6	10
	0	-12.75384615	42

CHI-SQ TEST				Alpha	0.0125
<i>std err</i>	<i>chi-sq</i>	<i>df</i>	<i>p-value</i>	<i>chi-crit</i>	<i>sig</i>
5	6	3	0.106408616	11	no

Tabla 2.3 Prueba de Kruskal-Wallis para rendimiento de metano

	13.3	25.6	37.8	50	Resultados
Median	267.515924	282.326369	255.5	206	
Rank sum	208.5	430	208.5	56	
Count	9	13	10	10	42
r ² /n	4830.25	14223.0769	4347.225	313.6	23714.1519
H-stat					28.5691158
H-ties					28.5783787
Df					3
p-value					2.7461E-06
Alpha					0.05
Sig					yes

Tabla 2.4 Prueba de Bonferroni para para rendimiento de metano

CONTRAST KW			
<i>group</i>	<i>contrast</i>	<i>R-mean</i>	<i>size</i>
14		23.1666667	9
24.5	1	33.0769231	13
37.2		20.85	10
49	-1	5.6	10
	0	-38.6769231	42

CHI-SQ TEST		Alpha	0.00833333
-------------	--	-------	------------

<i>std err</i>	<i>chi-sq</i>	<i>df</i>	<i>p-value</i>	<i>chi-crit</i>	<i>sig</i>
5.15929188	56.1983594	3	3.8108E-12	11.7388805	yes

Tabla 2.5 Prueba de Kruskal-Wallis para eficiencia coulombica.

	13.3	25.6	37.8	50	Resultados
median	127	97	86	93	
rank sum	341	263	127	172	
count	9	13	10	10	42
r ² /n	12920.11111	5320.692308	1612.9	2958.4	22812.10342
H-stat					22.575438
H-ties					22.575438
df					3
p-value					4.95063E-05
alpha					0.05
Sig					yes

Tabla 2.6 Prueba de Bonferroni para para eficiencia coulombica.

CONTRAST KW			
<i>group</i>	<i>contrast</i>	<i>R-mean</i>	<i>size</i>
14		37.88888889	9
24.5		20.23076923	13
37.2	1	12.7	10
49	-1	17.2	10
	0	-4.5	42

CHI-SQ TEST				Alpha	0.0125
<i>std err</i>	<i>chi-sq</i>	<i>df</i>	<i>p-value</i>	<i>chi-crit</i>	<i>sig</i>
5.48634669	0.672757475	3	0.879592179	10.86130267	no

Tabla 2.7 Prueba de Kruskal-Wallis para eficiencia energética con flujo de metano.

	13.3	25.6	37.8	50	
median	79.15061886	153.4338935	78.76520387	79.55285564	
rank sum	165	461	185	179	
count	10	11	11	11	43
r ² /n	2722.5	19320.09091	3111.363636	2912.818182	28066.77273
H-stat					46.01335768
H-ties					46.01335768
df					3
p-value					5.63452E-10
alpha					0.05
sig					yes

Tabla 2.8 Prueba de Bonferroni para eficiencia energética con flujo de metano.

CONTRAST KW			
<i>group</i>	<i>contrast</i>	<i>R-mean</i>	<i>size</i>
14		16.5	10
24.5	1	41.90909091	11
37.2	-1	16.81818182	11
49		16.27272727	11
	0	25.09090909	43

CHI-SQ TEST				Alpha	0.0125
<i>std err</i>	<i>chi-sq</i>	<i>df</i>	<i>p-value</i>	<i>chi-crit</i>	<i>sig</i>
5.354126135	21.96117624	3	6.64558E-05	10.86130267	yes

Tabla 2.9 Prueba de Kruskal-Wallis para eficiencia energética con flujo de metano y flujo de hidrógeno.

	13.3	25.6	37.8	50	
median	75.00231903	143.4906798	60.25269364	68.54121906	
rank sum	162	465	130	146	
count	9	13	10	10	42
r ² /n	2916	16632.69231	1690	2131.6	23370.29231
H-stat					26.28433427
H-ties					26.28433427
df					3
p-value					8.31547E-06
alpha					0.05
sig					yes

Tabla 2.10 Prueba de Bonferroni para eficiencia energética con flujo de metano y flujo de hidrógeno.

CONTRAST KW			
<i>group</i>	<i>contrast</i>	<i>R-mean</i>	<i>size</i>
14		18	9
24.5	1	35.76923077	13
37.2		13	10
49	-1	14.6	10
	0	21.16923077	42