



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

EVALUACIÓN DE GENERACIÓN DE ENERGÍA A PARTIR DE LODO RESIDUAL
PRETRATADO CON AMILASA Y ÁCIDO PERACÉTICO UTILIZANDO CELDAS DE
COMBUSTIBLE MICROBIANAS

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

PRESENTA:
LUCÍA GONZÁLEZ ESPINOZA

TUTOR PRINCIPAL
DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL
AGUA

COMITÉ TUTOR
DR. IVÁN MORENO ANDRADE, INSTITUTO DE INGENIERÍA-UNAM
DR. EDSON BALTAZAR ESTRADA ARRIAGA, INSTITUTO MEXICANO DE
TECNOLOGÍA DEL AGUA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., ABRIL 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Moreno Andrade Iván

Secretario: Dr. De Los Cobos Vasconcelos Daniel

1^{er}. Vocal: Dr. Estrada Arriaga Edson Baltazar

2^{do}. Vocal: Dra. Silva Martínez Ana Elisa

3^{er}. Vocal: Dra. Mijaylova Nacheva Petia

Lugar donde se realizó la tesis:

INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA DEL AGUA

TUTOR DE TESIS:

DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA

FIRMA

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, por las facilidades que me brindaron para el desarrollo del posgrado y la realización de tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme estudiar y crecer dentro de la máxima casa de estudios.

A la Dra. Petia Mijaylova, por toda la confianza, el apoyo, la escucha y los conocimientos que me brindó en toda esta etapa.

Al Dr. Edson Estrada y al Dr. Iván Moreno, por ayudarme con sus cuestionamientos y comentarios para guiarme y enriquecer mi trabajo.

A los profesores miembros del jurado:

Dra. Ana Elisa Silva Martínez

Dr. Edson B. Estrada Arriaga

Dr. Iván Moreno Andrade

Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos

Por su ayuda y todas las aportaciones valiosas que realizaron al trabajo.

A la Dra. Jennifer Bañuelos, por su asesoría y apoyo con equipos para análisis electroquímico.

A la Mtra. Sara Pérez Castrejón, por su guía para realizar el análisis estadístico de resultados.

A Danilo Gamboa y a Alberto Esquivel por compartirme sus conocimientos y brindarme su ayuda.

A todos mis compañeros de maestría por darme su amistad, tiempo y apoyo.

Dedicatorias

A mis padres, que me han impulsado siempre, que me han escuchado, aconsejado y acompañado en esta etapa. Los quiere mucho su roomie.

A mis hermanos, que aún a distancia siempre están para mí. Gracias por escucharme, ayudarme y ser mi ejemplo a seguir. Los extraño y quiero mucho.

A mis amigos de la maestría Marimar, Raúl, Jaime y Marco. Hicieron que el tiempo de investigación y aprendizaje fuera aún más divertido y cálido.

Seguimos danzando

Resumen

El crecimiento de la población mundial ha propiciado un incremento en el consumo de energía eléctrica y de agua potable. El aumento de consumo de agua lleva al incremento de plantas de tratamiento de agua y de la cantidad de lodos residuales que se generan en ellas, los cuales deben de ser estabilizados para evitar contaminación en el ambiente. Por ello, se investiga sobre nuevas tecnologías como las celdas de combustible microbianas (CCM) que, además de darle tratamiento al lodo residual, producen energía eléctrica. En esta investigación, se evaluó la generación de energía y la remoción de materia orgánica a partir de lodo residual pretratado con α -amilasa y ácido peracético (APA) utilizando celdas de combustible microbianas.

Como experimentos preliminares se probaron 7 dosis de cada pretratamiento y se midió el incremento en la DQOs/DQOt, disminución de SSV y producción de AGV. De estos resultados se seleccionaron dosis de 90 y 120 mg de enzima/ g ST como pretratamiento enzimático y de 200 y 250 mg de APA/g ST como pretratamiento con ácido peracético, y se aplicaron en las celdas de combustible microbianas. En los experimentos de CCM se emplearon reactores de acrílico de dos cámaras con forma cilíndrica y electrodos de cepillo de carbono como ánodo y cátodo. Estos experimentos se realizaron en dos fases experimentales, en la primera fase se realizó una inoculación y cuatro ciclos (cada ciclo con una duración de 15-20 días), en la segunda fase se inoculó nuevamente desde cero el ánodo de los reactores control y con pretratamiento enzimático y se corrieron dos ciclos más.

Los resultados mostraron que el pretratamiento enzimático tuvo la mayor producción de energía con una densidad de potencia de $1.78 \pm 0.45 \text{ mW/m}^2$ y $2.07 \pm 0.57 \text{ mW/m}^2$ con 90 y 120 mg/L de la enzima, respectivamente, pero sin diferencias significativas con el reactor sin pretratamiento. Los reactores con pretratamiento con ácido peracético presentaron un impacto negativo en la densidad de potencia y densidad de corriente. En los resultados de remoción de materia orgánica, medida como DQO soluble, se tuvo una mejora significativa solo con 90 y 120 mg/L de la enzima, obteniendo remociones $66 \pm 4\%$ y $66 \pm 5\%$, respectivamente. En las curvas de potencia se tuvieron las densidades de potencia máxima en el reactor control y en los reactores donde se aplicaron 90 y 120 mg/L de enzima, cuando se empleó la resistencia externa de 100Ω y en los reactores en los cuales se usó APA en dosis de 200 y 250 mg/L, con 216Ω y 550Ω respectivamente. Por medio de la voltametría cíclica se observó la formación de biopelícula electroactiva en todas las condiciones, teniendo una mayor actividad bio-catalítica los reactores con pretratamiento enzimático.

Los resultados obtenidos sugieren que los pretratamientos de lodo residual con la enzima α -amilasa y el ácido peracético en las condiciones empleadas, logran incrementar la materia orgánica soluble, pero no son apropiados para incrementar la generación de corriente eléctrica empleando el lodo pretratado como sustrato anódico en celdas de combustible microbianas.

Abstract

The growth of the world population has led to an increase in the consumption of electricity and drinking water. The increase in water consumption leads to an increase in water treatment plants and the sewage sludge generated in them, which must be stabilized to avoid environment pollution. For this reason, research is being carried out on new technologies such as microbial fuel cells (MFC) that, in addition to treat sewage sludge, this produces electrical energy. In this research, energy generation and organic matter removal from sewage sludge pretreated with α -amylase and peracetic acid using microbial fuel cells were evaluated.

As preliminary experiments, 7 doses of each pretreatment were tested and the increase in SCOD/TCOD, decrease in VSS and production of VFA were measured. From these results, the doses of 90 and 120 mg of enzyme/ g TS of the enzymatic pretreatment and 200 and 250 mg of APA / g TS of the pretreatment with peracetic acid (APA) were selected and applied in the microbial fuel cells. Cylindrical-shaped two-chamber acrylic reactors and carbon brush electrodes as anode and cathode were used in the MFC's experiments. These experiments were performed in two experimental phases, in the first phase an inoculation and four cycles were carried out (each cycle with a duration of 15-20 days), in the second phase the anodes of the control and enzymatic pretreatment reactors were re-inoculated from scratch and two more cycles were run.

The results showed that the enzymatic pretreatment had the highest energy production with a power density of 1.78 ± 0.45 mW/m² and 2.07 ± 0.57 mW /m² of 90 and 120 mg of enzyme/ g TS reactors, but they had no significant differences with the reactor operated with sludge without pretreatment. Reactors with peracetic acid pretreatment had a significant negative impact on power density and current density. In the results of organic matter removal, there was only a significant improvement with the reactors with 90 and 120 mg of enzyme/ g TS of the enzymatic pretreatment in the removal of soluble COD with $66 \pm 4\%$ and $66 \pm 5\%$ respectively. In the power curves, the maximum power densities were achieved in the control reactors, 90 and 120 mg of enzyme/ g TS when the external resistance of 100 Ω was used and with 200 and 250 mg of APA/ g TS reactors it was with an external resistance of 216 Ω and 550 Ω respectively. By means of cyclic voltammetry, the formation of electroactive biofilm was observed in all conditions, and the reactors with enzymatic pretreatment showed the highest bio-catalytic activity.

The results obtained suggest that the sewage sludge pretreatments with the enzyme α -amylase and peracetic acid in the tested conditions allows to increase the soluble organic matter, but they

are not appropriate for the enhancement of the electricity generation using the pretreated sludge as anodic substrate in microbial fuel cells.

Índice

1. Introducción.....	15
2. Objetivos e hipótesis	18
2.1 Objetivo general.....	18
2.2 Objetivos específicos	18
2.3 Hipótesis.....	18
3. Marco teórico.....	19
3.1 Sistemas electroquímicos	19
3.2 Celdas de Combustible Microbianas	20
3.2.1 Definición y principios de operación	20
3.2.2 Diseño de Celdas de Combustible Microbianas.....	22
3.2.3 Materiales de ánodos y cátodos	24
3.2.4 Membranas intercambiadoras de protones.....	28
3.2.5 Microorganismos en CCM	29
3.2.6 Sustratos en CCM	33
3.2.7 Parámetros de operación	35
3.3 Lodos residuales como sustrato anódico	36
3.3.2 Pretratamiento con enzimas	42
3.3.3 Tratamiento con Ácido Peracético	44
3.4 Evaluación electroquímica de las CCM.....	46
3.4.1 Voltaje de circuito abierto y pérdidas de voltaje	47
3.4.2 Curvas de polarización	48
3.4.3 Curvas de potencia.....	49
3.4.5 Voltametría cíclica	50
3.4.6 Espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIE).....	52
4. Metodología	54
4.1 Pruebas preliminares	54
4.1.1 Pretratamiento con enzimas	54
4.1.2 Pretratamiento con ácido peracético	54
4.2 Sistema experimental de CCM.....	55
4.2.1 Configuración de las Celdas de Combustible Microbianas	55
4.3 Inoculación del ánodo y cátodo.....	57
4.4 Parámetros analíticos para caracterización química	59
4.4.1 DQOt y DQOs	59
4.4.2 Ácidos Grasos Volátiles.....	60

4.4.3 Sólidos Suspendidos Totales y Sólidos Suspendidos Volátiles	61
4.5 Técnicas de caracterización electroquímica.....	61
4.5.1 Curvas de polarización	62
4.5.2 Voltametría cíclica	62
4.5.3 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica	63
4.6 Técnicas de caracterización de biopelícula.....	63
4.7 Diseño experimental	64
4.7.1 Pruebas preliminares.....	64
4.7.2 Experimentos en CCM	64
5. Resultados y discusión.....	66
5.1 Pruebas preliminares	66
5.2 Resultados de Celdas de Combustible Microbianas	74
5.2.1 Resultados de producción de energía eléctrica	76
5.2.2 Remoción de materia orgánica medida como DQO.....	86
5.2.3 Eficiencia coulombica	88
5.2.4 Influencia de la DQOs inicial en la producción de energía	92
5.2.5 Resultados de remoción de SST y SSV	94
5.2.7 Seguimiento de pH en cámaras anódica y catódica	98
5.2.8 Caracterización de biopelícula anódica	99
5.2.9 Caracterización electroquímica.....	101
5.2.10 Influencia de la temperatura en la producción de electricidad.....	109
6. Conclusiones.....	111
7. Recomendaciones.....	113
8. Referencias	114
9. Anexos	132
Anexo 1: Cálculo de la cantidad de reactivo empleada respecto a cada dosis y sus resultados.	132
Para calcular la cantidad de enzima y ácido peracético (APA) que se aplicó en las pruebas preliminares, se emplearon las siguientes fórmulas con análisis dimensional, tomando en cuenta que el volumen del lodo a pretratar fue de 0.1L, la concentración inicial de los lodos fue de 16 g ST/L y la densidad del ácido peracético es de 1.12g/mL.....	132
Anexo 2: Ficha técnica de membrana Nafion™ N117 empleada en experimentos.	133
Anexo 3: Resultados de experimentos preliminares: DQOs, DQOs/DQOt, SST, SSV, Ácido acético y Ácido propiónico.	134
Anexo 4: Resultados de medición de DQO soluble que aportan por sí mismos la enzima y el ácido peracético.....	135

Anexo 5a: Resultados producción de energía fase 1	136
Anexo 5b: Resultados producción de energía fase 2	137
Anexo 6a: Resultados de remoción de materia orgánica en CCM primera fase.....	138
Anexo 6b: Resultados de remoción de materia orgánica en CCM segunda fase	140
Anexo 7a: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados eléctricos.	142
Anexo 7b: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados de remoción de materia orgánica.....	143
Anexo 8: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados eléctricos y remoción de materia orgánica para pruebas extra de lodo pretratado por sonicación y sonicación con APA 250 mg/ g ST.....	144

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de una Celda de Combustible Microbiana	20
Figura 2. Celdas de combustible microbianas de dos cámaras.	23
Figura 3. Mecanismos de transporte de electrones	31
Figura 4. Proceso de degradación de materia orgánica.....	38
Figura 5. Curva de polarización. Fuente: modificado de Zhao et al. (2008).	49
Figura 6. Voltamograma cíclico	50
Figura 7. Gráfico de Nyquist. Fuente: elaboración propia.	53
Figura 8. Pruebas preliminares de pretratamiento de lodo residual	55
Figura 9. CCM de dos cámaras. a) Esquema del sistema experimental. b) CCM de dos cámaras utilizada para el proyecto.	55
Figura 10. Lodo granular anaerobio para inóculo.	58
Figura 11. DQOs y DQOs/DQOt de lodo pretratado a diferentes dosis de enzima y APA.	67
Figura 12. DQO soluble que aporta cada reactivo a determinadas dosis de enzima y ácido peracético.....	69
Figura 13. Sólidos suspendidos totales y volátiles del lodo pretratado a diferentes dosis con a) Enzima α amilasa, b) Ácido peracético.	70
Figura 14. Lodo centrifugado. A) Sin pretratar, B) Con APA, C) Con Enzimas.	71
Figura 15. Ácidos Grasos Volátiles de lodo pretratado a diferentes dosis de enzima y ácido peracético (APA). a) Ácido acético, b) Ácido propiónico.	71
Figura 16. Sistema experimental de dos cámaras cilíndricas.	74
Figura 17. Vista de planta del sistema experimental de CCM de dos cámaras.....	75
Figura 18. Voltaje generado por CCM con lodo anódico de control (sin pretratamiento).....	77

Figura 19. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con enzima 90mg/ g ST .	78
Figura 20. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con enzima 120 mg/ g ST.	78
Figura 21. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con APA 200 mg/ g ST...	80
Figura 22. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con APA 250 mg/ g ST...	80
Figura 23. Densidad de corriente en CCM.....	83
Figura 24. Densidad de potencia en CCM.....	84
Figura 26. Remoción de DQOt en CCM.	86
Figura 27. Remoción de DQOs en CCM.	87
Figura 28. Eficiencia coulombica en CCM.	88
Figura 29. DQOs inicial vs. Densidad de corriente generada	92
Figura 30. Remoción de SST en CCM.	95
Figura 31. Remoción de SSV en CCM.	96
Figura 32. Remoción de DQOt en cámara catódica.	97
Figura 33. pH de efluente de cámara anódica.	98
Figura 34. pH de efluente de cámara catódica.	99
Figura 35. Contenido de SSV en biopelícula de electrodos anódicos.	100
Figura 36. Curvas de polarización y de potencia en el ciclo 1.....	102
Figura 37. Curvas de polarización y potencia del ciclo 3	103
Figura 38. Voltamperometrías cíclicas de CCM.....	105
Figura 39. Gráfico de Nyquist de las cinco condiciones empleadas	106
Figura 40. Estado de las MIP al término de los experimentos con CCM.....	107
Figura 41. Gráfico de Nyquist de membranas intercambiadoras de protones. Resistencia de solución (Rs) y Resistencia de transferencia de carga (Rtc).....	108
Figura 42. Relación de producción de voltaje respecto a la temperatura.....	109

Índice de tablas

Tabla 1. Materiales de ánodos de carbono.....	25
Tabla 2. Sustratos utilizados en celdas de combustible microbianas.....	34
Tabla 3. CCM con diferentes lodos residuales como sustrato	37
Tabla 4. CCM con pretratamiento del lodo anódico	41
Tabla 5. Dimensiones de electrodos.....	56
Tabla 6. Nutrientes de cámara catódica	58
Tabla 7. Elementos traza de cámara catódica.....	59
Tabla 8. Experimentos preliminares	64
Tabla 9. Experimentos de escalamiento en CCM de dos cámaras.....	65
Tabla 10. Variables de respuesta de los experimentos en CCM.....	65
Tabla 11. Características de lodo residual del sedimentador secundario	66
Tabla 12. Resumen de estudios de pretratamientos de lodo residual con resultados de solubilización.....	68
Tabla 13. Costos de pretratamiento.....	73
Tabla 14. Selección de dosis para aplicar en CCMs.....	73
Tabla 15. Condiciones probadas en reactores de CCM de dos cámaras.	74
Tabla 16. Resumen de resultados de investigaciones sobre CCM	90

1. Introducción

En la actualidad existen problemas ambientales importantes propiciados principalmente por el uso de energía de fuentes fósiles, los cuales cubren el 68% de la demanda energética global (Malhotra, 2020). Esta fuente de energía tiene como deficiencias los siguientes puntos: 1) el recurso es de carácter finito y agotable; 2) genera gases de efecto invernadero que ocasionan el calentamiento global; 3) desprende gases y partículas que contaminan el aire; 4) se contamina suelo y agua durante su extracción y procesamiento.

Aunque se ha tratado de disminuir el uso de energías convencionales mediante el empleo de fuentes de energías renovables, todavía no se logran reemplazar completamente, ya que, éstas presentan problemas en eficiencia, alto costo y falta de planes de disposición final de los materiales empleados. Por otro lado, el incremento de población que se ha presenciado en los últimos años y el estilo de vida actual, han propiciado un aumento en la demanda energética cada vez más grande. Por esta razón, la investigación en el desarrollo de tecnologías alternativas para la generación de energía se ha vuelto una prioridad a nivel mundial y es necesaria su continuación.

A su vez, el incremento de la población ha producido un aumento en el consumo de agua, que propicia una mayor producción de agua residual y, en consecuencia, un aumento en la producción de lodos residuales. Los procesos empleados para el tratamiento del agua residual generan lodos residuales que necesitan ser estabilizados para eliminar patógenos, olores y la atracción de vectores. Anualmente se producen entre 6 y 10 millones de toneladas de lodos residuales en países como USA y China (Mian *et al.*, 2019). En México se calcula una producción cercana a 640,000 toneladas al año (IMTA, 2017). El tratamiento de esta cantidad de lodos residuales con las tecnologías actuales, tienen un gran peso en el costo de operación de las plantas de tratamiento de agua, llegando a representar entre el 25 y 60% del costo total (Prandota *et al.*, 2016).

Como propuesta de solución a las dos problemáticas anteriores, se investiga el desarrollo de una reciente e interesante tecnología: Las Celdas de Combustible Microbianas (CCM). Las CCM son sistemas bio-electroquímicos que generan energía eléctrica sin utilizar fuentes fósiles y producen una baja cantidad de CO₂ (Simeon *et al.*, 2021). Esta

tecnología tiene un doble beneficio, ya que puede emplear el agua y lodos residuales como materias primas, convirtiendo directamente residuos en energía eléctrica.

Las CCM consisten en la conversión de energía química a energía eléctrica por medio de microorganismos. Los microorganismos metabolizan y degradan la materia orgánica rompiendo enlaces moleculares, los cuales tienen un gran contenido energético (Slate et al., 2019). Generalmente una CCM tiene dos compartimentos con un ánodo y un cátodo y se encuentran separados por una membrana intercambiadora de protones. En el ánodo se encuentran los microorganismos que metabolizan los compuestos orgánicos generando electrones y protones. Los electrones son transferidos de la superficie del ánodo hacia el cátodo por medio de un circuito externo, mientras los protones migran pasando por la membrana hacia la cámara catódica donde se combinan con el oxígeno del aire para reducirse a agua con los electrones que captan directamente del cátodo (Chaturvedi et al., 2016).

Una de las limitantes importantes en el funcionamiento de una CCM es la baja producción de energía eléctrica, que tiene relación con la baja velocidad de reducción del oxígeno en la cámara catódica. Se han empleado alternativas como utilizar compuestos como el ferricianuro como aceptor de electrones o la implementación de catalizadores como el platino. No obstante, para ello se debe regenerar el reactivo y es de costo muy elevado (Slate et al., 2019; Zhang G. et al., 2011). Por su parte, se ha iniciado el empleo de biocátodos, los cuales son electrodos catódicos con una biopelícula de microorganismos, los cuales actúan como catalizadores, teniendo como resultado un aumento en la velocidad de reducción del oxígeno y disminución en la resistencia interna (Zhang et al., 2012; Zhang et al., 2019).

Existe una segunda limitante en la operación de CCMs con lodo residual como sustrato anódico. Por las características y composición del lodo residual, se ha observado que la etapa de hidrólisis es un punto crucial en la degradación del lodo, ya que, además de necesitar un largo tiempo de retención, los microorganismos que tienen la capacidad de generar electricidad se alimentan de los compuestos hidrolizados como los ácidos grasos volátiles, y sin ellos la generación de energía disminuye (Zhen et al., 2017).

Por lo anterior, esta investigación tiene como propósito estudiar el funcionamiento de celdas de combustible microbianas biocatólicas, empleando como sustrato anódico lodo residual con y sin pretratamiento. El pretratamiento del lodo residual se realizará con el objetivo de favorecer el proceso de hidrólisis e incrementar la materia orgánica soluble disponible para los microorganismos. Como pretratamientos se probará hidrolizar el lodo residual mediante la enzima α -amilasa y el ácido peracético, los cuales se han visto capaces de incrementar la materia orgánica soluble (Yang et al., 2010; Ao et al., 2020).

Esta investigación pretende generar una aportación al conocimiento sobre el efecto del pretratamiento del lodo residual con enzima α -amilasa y ácido peracético sobre el desempeño de las celdas de combustible microbianas biocatólicas a nivel laboratorio.

2. Objetivos e hipótesis

2.1 Objetivo general

Evaluar la aplicación de la enzima α -amilasa y el ácido peracético como pretratamientos de lodo residual empleado como sustrato anódico en celdas de combustible microbianas biocatódicas.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar las dos mejores dosis de enzima y ácido peracético de acuerdo con el incremento de la materia orgánica soluble obtenido en el lodo residual, para su posterior aplicación en CCM.
2. Determinar el efecto del pretratamiento con la enzima α -amilasa y el ácido peracético sobre la producción de energía eléctrica y la remoción de materia orgánica en las CCM.

2.3 Hipótesis

Los pretratamientos de lodo residual con la enzima α -amilasa y el ácido peracético, incrementarán la materia orgánica soluble en el lodo pretratado, lo cual podría mejorar la producción de energía eléctrica en las celdas de combustible microbianas.

3. Marco teórico

3.1 Sistemas electroquímicos

Un sistema electroquímico es una celda constituida por dos electrodos conductores unidos externamente por un cable conductor, los cuales se encuentran dentro de soluciones electrolíticas separadas físicamente. La separación de las soluciones puede darse por medio de una membrana o por un puente salino. En una de las soluciones se lleva a cabo una reacción de oxidación (ánodo) y en la otra solución una reacción de reducción (cátodo) (Gómez et al., 2002).

Las celdas electroquímicas pueden dividirse en dos tipos: celdas galvánicas y celdas electrolíticas. Las celdas galvánicas producen energía eléctrica a partir de reacciones químicas y las celdas electrolíticas consumen energía eléctrica para llevar a cabo reacciones químicas (Scott y Yu, 2015). Estos dos sistemas han sido empleados en la remoción de contaminantes por procesos de oxidación y reducción.

Dentro de los sistemas electroquímicos empleados en el área ambiental, se han utilizado microorganismos para catalizar reacciones electroquímicas que involucran el transporte de electrones. Existen 4 tipos de sistemas bio-electroquímicos que se diferencian en su aplicación y modo de operación:

1. Celdas de Electrólisis Microbianas (CEMs): sistema al que se le aplica corriente eléctrica de una fuente externa para llevar a cabo reacciones que formen productos inorgánicos como el hidrógeno.
2. Celdas de Electrosíntesis Microbianas (CESMs): celda en el que se aplica electricidad como fuente de energía para que microorganismos sintetizen compuestos orgánicos como el acetato a partir del CO₂ (Nevin et al., 2010).
3. Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): sistema electroquímico que convierte materia orgánica en energía por medio de microorganismos. En el ánodo se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica y en el cátodo la reducción de oxígeno (Farias, 2016).

4. Celdas de Desalinización Microbianas (CDMs): son una variante de las CCM ya que tienen la misma estructura de una cámara anódica y una catódica, pero en medio de ellas existe una cámara intermedia que contiene agua de mar. El agua se desaliniza gracias a la migración de los iones hacia la cámara anódica y catódica que se da por el gradiente de potencial entre el ánodo y el cátodo (Li et al., 2017).

3.2 Celdas de Combustible Microbianas

3.2.1 Definición y principios de operación

Una Celda de Combustible Microbiana es un sistema bio-electroquímico el cual funciona gracias al transporte de electrones producidos por microorganismos al degradar materia orgánica. El sistema se compone de un ánodo y un cátodo sumergidos en soluciones acuosas dentro de cámaras separadas por una membrana como se observa en la figura 1.

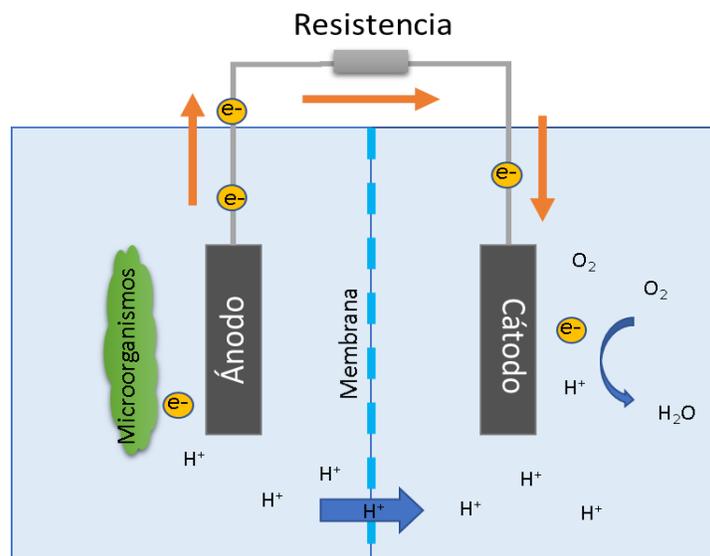
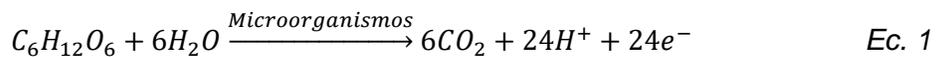


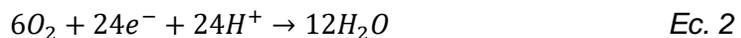
Figura 1. Esquema de una Celda de Combustible Microbiana

En la cámara anódica se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica por microorganismos planctónicos y microorganismos en biopelícula formada en el ánodo. Durante este proceso se producen electrones y protones que migran hacia la cámara catódica. El electrón viaja del ánodo al cátodo por medio de un circuito externo formado por un cable con un resistor y el protón migra hacia la cámara catódica cruzando una membrana que divide las dos cámaras. Dentro de la cámara catódica se realiza la reducción del aceptor de electrones utilizando los protones y electrones transportados. En el caso de la figura 1, el aceptor de electrones es el oxígeno, que al reducirse forma agua. En las ecuaciones 1 y 2 se muestra como ejemplo las reacciones de oxidación de glucosa y reducción de oxígeno.

Reacción anódica



Reacción catódica



Los microorganismos que pueden degradar materia orgánica, producir electrones y liberarlos hacia el exterior de la célula, se conocen como microorganismos electrogénicos (Serment et al., 2017). Una vez estando en el exterior de la membrana celular, si no encuentran aceptores de electrones inmediatos, entran en contacto con el ánodo y se transportan hacia el cátodo. Entonces, para la generación efectiva de energía se evita el contacto directo de los microorganismos del ánodo con moléculas aceptoras de electrones como el oxígeno, razón por la cual es necesario que la cámara se mantenga en condiciones anaerobias. Por su parte, las cámaras catódicas pueden ser utilizadas como aerobias y anaerobias.

De acuerdo con Fernández-Hernández y sus colaboradores (2015), los beneficios del empleo de CCM en comparación de otras tecnologías que generan electricidad a partir de la materia orgánica son los siguientes:

- Las CCM se operan de manera eficiente en condiciones ambientales, por lo que no es necesario implementar energía extra para mantener una temperatura en específico.
- A diferencia de la digestión anaerobia y la producción de metano, no requiere de un tratamiento de gas, ya que los gases que se desprenden son principalmente CO₂.
- En algunos diseños de CCM no se necesita de energía extra para brindar aireación para el cátodo, cuando este se encuentra aireado pasivamente.
- Las CCM tienen el potencial de emplearse en lugares donde no se tiene infraestructura eléctrica, así como de expandir las fuentes de energía que se utilizan para satisfacer las necesidades energéticas.
- En comparación con la digestión anaerobia, se genera menor cantidad de lodos.

3.2.2 Diseño de Celdas de Combustible Microbianas

El esqueleto de una celda de combustible microbiana puede tener diferentes arquitecturas construidas principalmente de acrílico o vidrio. Cuando se diseña una CCM se busca ser económicamente viable, que los materiales sean asequibles y que su manufactura o fabricación no sea complicada para que pueda escalarse y de ser posible llegar a una producción en masa (Logan, 2008). A continuación, se presentan algunos diseños empleados en CCMs:

- a) De una sola cámara: estas celdas también se llaman celdas con cátodo al aire y puede tener o no membrana intercambiadora de protones. En las que tienen membrana, esta se combina con el electrodo catódico reduciendo el espacio que existe entre el ánodo y el cátodo. En comparación con las CCM de dos cámaras, con las celdas de una sola cámara se obtienen beneficios como el ser más económicas al reducir el costo de operación al no utilizar aireadores ni sustratos como catolitos. Por su lado, la celda que no utiliza una membrana de protones tiene un menor costo, así como una menor resistencia interna,

produciendo mayor densidad de corriente. Sin embargo, cuando no se tiene una membrana de separación, el oxígeno se infiltra en la cámara catódica, funcionando como un aceptador de electrones no deseado y propiciando el crecimiento de microorganismos aerobios, con lo que se reduce la eficiencia coulombica (Mohan et al., 2019; Sun et al., 2014).

- b) De dos cámaras: es una de las principales arquitecturas que se utilizan en las CCM y consiste en una cámara anódica y una catódica, separadas físicamente por una membrana intercambiadora de protones que evita el flujo de oxígeno dentro de la cámara anódica. En un inicio los estudios se realizaron con las dos cámaras de igual volumen, teniendo comúnmente dos diseños: celda tipo-H y celda normal, presentados en la figura 2 (Sun et al., 2013).

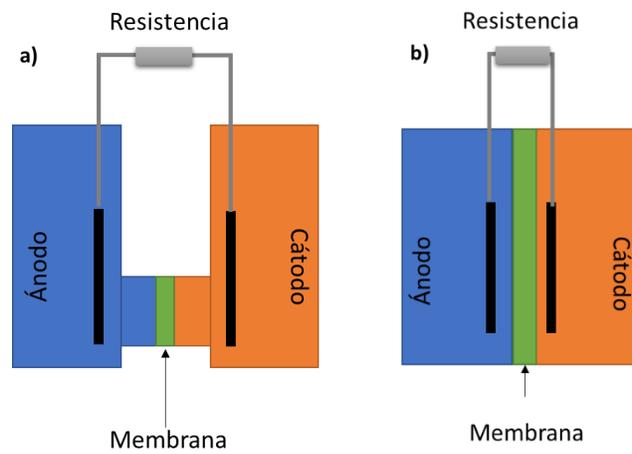


Figura 2. Celdas de combustible microbianas de dos cámaras. a) Diseño tipo-H, b) Diseño tipo cubo.

La celda tipo-H al ser una celda económica y de fácil construcción, es empleada para realizar pruebas y comparar el efecto que tienen diferentes materiales de electrodos o sustratos empleados, pero si se utiliza este diseño como uso final, no es tan conveniente ya que produce una baja densidad de corriente por la distancia de separación que existe entre los electrodos. Por su parte, en la celda tipo cubo se encuentran los electrodos cercanos y el área de la membrana es mayor incrementando la densidad de corriente y el costo.

En estudios posteriores con el fin de mejorar las características del reactor, se han probado otras estructuras de celda como tubulares, hexagonales, rectangulares, etc. (Abhilisha et al. 2018); las formas circulares evitan que existan zonas muertas o de acumulación, con lo que los microorganismos pueden aprovechar de todo el sustrato de la cámara. También se han utilizado reactores de dos cámaras con flujos ascendentes, que hace que el reactor sea de flujo continuo y se pueden aprovechar mejor los ánodos y cátodos empacados como los de gránulos de grafito que dan una mayor área de superficie donde se puede formar la biopelícula (Mohan et al., 2019).

- c) CCM apiladas: se han empleado CCM conectadas en serie y en paralelo con la intención de incrementar la corriente y el voltaje producido. Las celdas en paralelo han obtenido buenos resultados al generar una mayor corriente, así como más rápida degradación del sustrato (Aelterman et al., 2006). Pero en el caso de las celdas conectadas en serie se han visto algunos problemas de inversión de voltaje (Oh y Logan, 2006) y disminución de corriente.

3.2.3 Materiales de ánodos y cátodos

Las características de los materiales que conforman las CCM son de alta importancia ya que afectan al funcionamiento y eficiencia de la celda. De acuerdo con Logan (2009) y Rinaldi et al. (2008), los materiales empleados como ánodo deben de tener alta conductividad eléctrica, resistencia a la corrosión, biocompatibilidad, resistencia mecánica, alta porosidad y área de superficie específica, ser económicos y de fácil construcción en caso de que se requiera hacer una CCM a gran escala. Los materiales utilizados como ánodo se dividen en materiales de carbono y de metal.

3.2.3.1 Materiales de carbono

Los materiales de carbono son muy utilizados en CCM ya que presentan estabilidad química, alta conductividad, alta área específica de la superficie, biocompatibilidad y bajo costo. Algunas de las deficiencias de este tipo de electrodos es que llegan a durar un corto tiempo de uso, son frágiles y los poros llegan a obstruirse con la biopelícula

disminuyendo su eficiencia (Scott y Yu, 2015). A continuación, se presenta una tabla comparativa de algunos de los diferentes tipos de electrodos que han sido estudiados para el funcionamiento de CCM.

Tabla 1. Materiales de ánodos de carbono.

Material en ánodo	Características	Eficiencia
Carbón reticulado vítreo (RCV)	Es un material frágil, conductivo, rígido y puede encontrarse con diferentes tamaños de poro. (Lepage et al., 2012).	170 mW m ⁻² utilizado como ánodo. Lepage et al (2012)
Filtro de carbón	Es un buen soporte para el crecimiento de bacterias y tiene una alta resistencia mecánica pero una baja área de superficie. (Hidalgo et al., 2016).	100-285 mWm ⁻² (Li et al., 2012).
Grafito granular	Tienen una alta área específica de superficie y buena conductividad.	8.3 Wm ⁻³ (Li et al., 2014)
Papel de carbón	Material rígido, un poco frágil, de baja área específica de superficie y poca porosidad (Santoro et al., 2014).	190 mW m ⁻² . (Gurung et al., 2015).
Tela de carbón	Es un material de alta área específica de superficie, porosidad, conductividad eléctrica y flexibilidad, pero es costoso (Guerrini et al., 2014; Santoro et al., 2013).	103 mWm ⁻² (Wang et al., 2013)
Plato de grafito	Material con alta resistencia mecánica, baja área de superficie y alta conductividad. (Dewan et al., 2008).	202 mW m ⁻² . (Samsudeen et al., 2015)
Cepillo de fibra de carbón	Material que tiene un centro de titanio con fibras de carbono alrededor. El centro de titanio incrementa la conductividad y las fibras el área de superficie y porosidad (Liao et al., 2015).	184 mWm ⁻² (Xin et al., 2019), 40 Wm ⁻³ (Zhang G. et al., 2012b).

Es importante mencionar que la tabla anterior es un resumen de resultados obtenidos en diferentes investigaciones que tienen diferentes condiciones de operación y diferentes sustratos, por lo que es difícil poder comparar entre ellos su eficiencia real. Sin embargo, en comparaciones de electrodos dentro de una misma investigación y con las mismas condiciones de operación, se ha visto que los electrodos de cepillo de fibra de carbón/grafito han logrado generar mayores densidades de potencia en comparación con el plato de grafito, gránulos de grafito y tela de carbón (You et al., 2009; Rusli et al., 2019). Esto gracias a su baja resistencia óhmica, alta área superficial, porosidad, buena distribución y apertura de las fibras, y alta conductividad.

3.2.3.2 Materiales metálicos

Los materiales metálicos siguen siendo estudiados ya que con ellos se logra reducir parte de la resistencia interna al tener una elevada conductividad, también tienen buena resistencia mecánica, pero es difícil conseguir la formación de la biopelícula sobre el ánodo y la mayoría de los materiales se corroen por el analito. Los materiales que más se han estudiado han sido el cobre, acero inoxidable, titanio, plata, aluminio, oro, entre otros (Dumas *et al.*, 2007; Erable y Bergel, 2009; Scott y Yu, 2015).

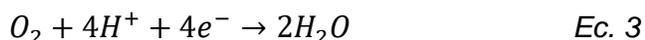
Otras estrategias que pueden aplicarse en los electrodos, tanto metálicos como de carbono, son la modificación de la superficie por medio de tratamientos químicos, adición de nanopartículas, nanocomposites o por revestimiento con polímeros (Scott y Yu, 2015).

3.2.3.3 Materiales para cátodos

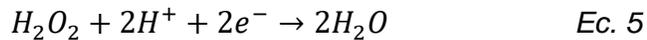
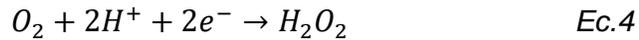
Los materiales utilizados para cátodos generalmente son los mismos o similares a los empleados en el ánodo, pero presentan como problema a resolver la baja velocidad de reducción del aceptor de electrones. El proceso de reducción del oxígeno es bastante complejo ya que es necesario que el oxígeno, el cátodo y los protones se encuentren para que ocurra una reacción. Por esta razón se utilizan moléculas mediadoras artificiales y catalizadores en el cátodo.

La reacción de reducción del oxígeno por medio de catalizadores abióticos sigue generalmente dos rutas, la ruta ácida y la alcalina. Cuando el medio es ácido se pueden tener dos mecanismos, uno por reducción directa que involucra $4e^-$ y tiene como producto agua (Ec. 3) y otro por reducción de dos etapas. En la reacción de dos etapas, en la primera se produce peróxido de hidrógeno utilizando dos electrones y en la segunda etapa el producto es agua (Ec. 4 y Ec. 5). La ruta alcalina por el otro lado utiliza OH^- y tiene como producto intermediario $HO_2^- + OH^-$ empleando $2e^-$ y en la segunda etapa el producto final OH^- utilizando otros $2e^-$ (Ec. 6 y Ec. 7) (Ezeta, 2011; Santoro *et al.*, 2017).

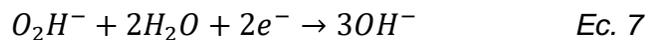
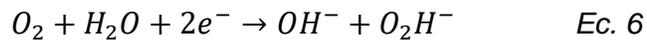
a) Ruta directa



b) Ruta indirecta ácida



c) Ruta indirecta alcalina



En la reducción de oxígeno, se prefieren las reacciones directas al no tener productos secundarios y al transferirse mayor cantidad de electrones consumiendo menos oxígeno. El platino, tiene la característica de lograr la reducción de oxígeno por medio de la ruta directa de $4e^-$, con muy baja producción de intermediarios, lo que lo hace preferente como catalizador (Santoro *et al.*, 2017; Das, 2018).

Sin embargo, el uso de platino como catalizador incrementa de manera significativa el costo de operación y la toxicidad en el catolito. Otros materiales que han sido utilizados como catalizadores son: los metales de transición como el dióxido de manganeso y óxido de plomo; compuestos macrocíclicos metálicos; nano estructuras de carbono como los nanotubos y nanofibras dopados con nitrógeno; y los polímeros conductores como el politiofeno, la polianilina y el polipirrol (Liew *et al.*, 2014).

3.2.3.4 Biocátodos

El crecimiento de microorganismos sobre la superficie de los cátodos cumple una función como biocatalizador, lo que disminuye el costo de operación al evitar el uso de catalizadores como el platino o la utilización de mediadores como el ferricianuro, implicando también la disminución de la generación de residuos y el incremento en la sostenibilidad del proceso (Chen *et al.*, 2008; Zhang, Fu y Zhang, 2019). Otra ventaja que

presenta la implementación de biocátodos es la eliminación de sustancias no deseadas en el agua como los nitratos y metales como el Fe (III) y el Mn (IV) (He y Angenent, 2006).

Para la selección del material del cátodo en donde se necesita que se desarrolle una película microbiana se debe de considerar que la resistencia eléctrica del electrodo sea baja y que se facilite el crecimiento de una biopelícula de microorganismos con un material biocompatible y con alta porosidad (Zhang *et al.*, 2012). Sin embargo, es importante aclarar que se debe de evitar la formación de una película muy gruesa ya que esto puede volverse perjudicial para la celda (Behera *et al.*, 2010).

Aunque el tema de investigación de CCM con biocátodos es reciente, ya se han realizado a la fecha diversos estudios sobre el empleo de diferentes materiales utilizados como biocátodos. Entre ellos se han probado sobre todo materiales de carbón como el plato de grafito, fieltro de grafito, papel de carbono, carbón activado empacado, cepillo de fibras de grafito, entre otros (Behera *et al.*, 2010; Zhang G. *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2010). También se ha probado el combinar materiales, por ejemplo, el cepillo de fibras de grafito con gránulos de carbón activado o grafito, con lo que se ha tenido una disminución del tiempo de arranque del reactor y un incremento en la densidad de potencia (Zhang G. *et al.*, 2011).

3.2.4 Membranas intercambiadoras de protones

Una membrana intercambiadora de protones (*PEM*) tiene la función de transportar los protones generados en la cámara anódica hacia la cámara catódica evitando el flujo de oxígeno hacia la zona anódica. Existen otros materiales para realizar el transporte de protones como los puentes salinos o membranas intercambiadoras de cationes, pero no logran tener la misma eficiencia de la celda y no evitan el paso del oxígeno (Du *et al.*, 2007).

De acuerdo con Valenzuela (2006), características que hacen que las *PEM* tengan un buen funcionamiento como parte de una CCM son:

- Buena conductividad protónica.
- Aislante eléctrico: evita el paso de los electrones generados en la cámara anódica.
- Estabilidad mecánica y química que resiste la compresión y pH bajos.

- Evita el flujo de gases.

Una de las membranas más empleadas para realizar estudios de CCMs es la Nafion™ desarrollada por DuPont (Du et al., 2007). La membrana está compuesta por el polímero politetrafluoroetileno (PTFE) y cadenas de doble éter que terminan en grupos sulfónicos (SO₃H). Este material es estable en medios ácidos y básicos y puede soportar temperaturas de 235°C (Valenzuela, 2006).

La membrana de Nafion™ requiere de un proceso de activación en el que se fijan iones H⁺ que hace que se dé una conducción de carga positiva a través de la membrana. Existen diferentes métodos de activación, pero generalmente se utiliza un tratamiento en medio ácido para la incorporación de los iones H⁺ (Valenzuela, 2006).

3.2.5 Microorganismos en CCM

En las CCM los actores que permiten el funcionamiento de este sistema bioelectroquímico son los microorganismos electrogénicos. Como se mencionó anteriormente, estos microorganismos tienen la habilidad de transferir electrones hacia el exterior de su membrana celular para que estos encuentren un aceptor terminal de electrones. Esta transferencia sucede como parte de su proceso metabólico y tienen la capacidad de donar electrones (como sucede en el ánodo), pero también de aceptar electrones (como sucede en los biocátodos).

3.2.5.1 Microorganismos anódicos

Los microorganismos electrogénicos presentes en el ánodo son también conocidos como microorganismos exoelectrogénicos, ánodo-respiratorios, electroactivos, etc. (Das, 2018). Generalmente estos pertenecen al filo Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroides (Verma et al., 2021); y se encuentran en casi todos los tipos de ecosistemas: agua residual, sedimentos marinos, suelo, lodo residual etc. (Das, 2018). El primer descubrimiento o identificación de microorganismos que pueden transmitir electrones directamente fue el de las bacterias que realizan la reducción desasimilatoria de metales como el hierro y el magnesio en ambientes naturales (Lovley et al., 2004). Entre estas se

encuentran los géneros: *Geobacter*, *Rhodoferrax*, *Shewanella* (Chaudhuri and Lovley, 2003; Bond and Lovley, 2003; Kim et al., 2002).

En el estudio de estos microorganismos presentes en las CCM se ha tratado de determinar los mecanismos de transferencia de electrones que se llevan a cabo y qué especie o cepa es la óptima para emplearse en la producción de energía. Lo último es algo complejo ya que se ha visto que los microorganismos se comportan de manera diferente dependiendo de su ambiente y las condiciones de operación (Logan, 2009; Verma et al., 2021).

3.2.5.2 Mecanismos de transferencia extracelular de electrones

Hasta la fecha los mecanismos de transferencia de electrones se dividen en: Transferencia de Electrones Directa (TED) y Transferencia de Electrones Indirecta (TEI). La TED se puede realizar por medio de proteínas de la superficie externa de la membrana llamadas citocromos y por medio de apéndices conductores llamados pilis. La TEI se presenta gracias a compuestos mediadores (Santoro et al. 2017). A continuación, se describen los tres mecanismos de transferencia de electrones (figura 3).

a) Mediadores

Los compuestos considerados como mediadores en el transporte de electrones de la célula al ánodo son compuestos orgánicos que pueden ser agregados de manera artificial (exógenos) o secretados naturalmente (endógenos). Estos compuestos también conocidos como mediadores redox pueden reducirse de manera reversible, es decir, durante el proceso metabólico el mediador funciona como aceptor de electrones y se reduce, cuando se encuentra cerca del ánodo se vuelve a oxidar liberando el electrón en la superficie (Chen et al. 2014; Zhang et al. 2018).

En el caso de bacterias que no son electrógenas, es necesario adicionar compuestos mediadores artificiales como el azul de metileno, metil viológeno, antraquinona-2-6-disulfonato y la resazurina, pero estos pueden llegar a ser tóxicos para algunos tipos de microorganismos y también se ha visto que afectan el metabolismo de la materia orgánica inhibiendo la formación de determinados productos (Allen and Bennetto, 1993; Sund et al., 2007; Watanabe et al., 2009).

Como mediadores endógenos se han encontrado las quinonas segregadas por la bacteria *Shewanella putrefaciens*, la pioacina producida por *Pseudomonas aeruginosa*, las flavinas segregadas por *S. oneidensis*, etc. (Aiyer, 2020). Ahora, parte de las bacterias que son electrógenas utilizan mediadores que son secretados por ellas mismas como las flavinas y derivados de la fenazina. Un punto interesante es que estos mediadores naturales pueden ser utilizados también por otros microorganismos diferentes a los que secretaron estos los mediadores (Scott y Yu, 2015).

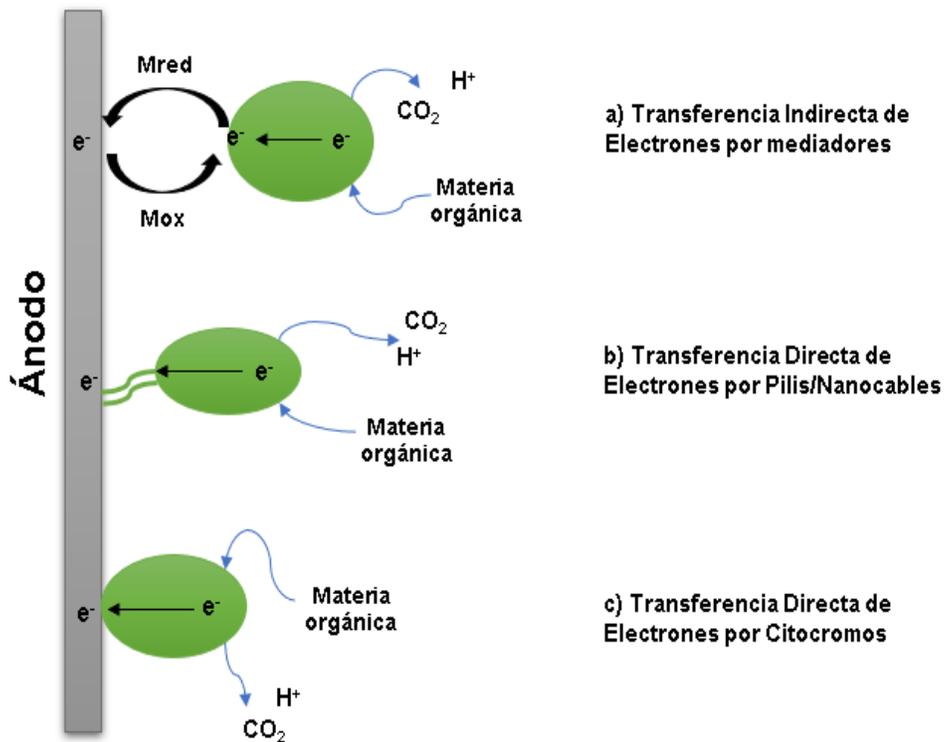


Figura 3. Mecanismos de transporte de electrones. a) Transferencia por mediadores. b) Transferencia por nanocables. c) Transferencia por citocromos.

b) Pilis conductores/ nanocables

Los nanocables son un conjunto de citocromos y proteínas periplásmicas y de la membrana externa, los cuales transportan electrones del interior de la célula a la superficie alcanzando un aceptor de electrones externo (Aiyer 2020; Sure et al. 2016). Este tipo de apéndices extracelulares se han encontrado de un tamaño de 50 a más de 150 nm de diámetro y decenas de micras de longitud (Verma et al., 2021).

c) Superficie celular

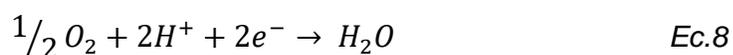
La transferencia directa de electrones en la superficie de la célula se realiza gracias los citocromos tipo-c lo cuales son proteínas localizadas en las membranas de las bacterias. Estas proteínas transportan electrones vinculando la membrana interna, el periplasma y la membrana externa (Lower et al., 2001). Se ha identificado este mecanismo en las especies *Geobacter* y *Shewanella*, las cuales son conocidas por generar densidades de corriente altas (Aiyer, 2020). Este mecanismo de transferencia se prefiere sobre los compuestos mediadores, ya que no dependen de la transferencia de masa.

3.2.5.3 Microorganismos catódicos

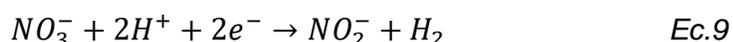
En la cámara catódica a diferencia de la anódica, se pueden tener microorganismos aerobios o anaerobios. Dependiendo del objetivo que tiene la cámara catódica (remoción de nutrientes, reducción de un compuesto en específico, etc.), se elige el aceptor de electrones que se utilizará y, por consiguiente, si el proceso se realiza en presencia de oxígeno. En la cámara catódica aerobia el aceptor de electrones es el oxígeno (ver *Ec. 7*) y puede utilizar como mediadores de electrones al Hierro y al Manganeseo. Estos metales se reducen al aceptar el electrón del cátodo y posteriormente se oxidan donando el electrón al oxígeno por medio de bacterias oxidantes como *Leptothrix discophora*, *Thiobacillus ferrooxidans* y *Pseudomonas fluorescens* (He et al., 2017).

En la cámara anaerobia se tiene principalmente como aceptor de electrones al nitrógeno en forma de nitrato (*Ec. 8*), pero también pueden tener esta función el sulfato, hierro, manganeseo y dióxido de carbono (Behera et al., 2010; Clauwaert et al., 2007; He et al., 2006).

Reducción aerobia:



Reducción anaerobia en presencia de nitratos:



Otro factor que tiene influencia sobre el tipo de microorganismos es el sustrato o catolito utilizado. Por ejemplo, en una cámara catódica anaerobia en la que se utiliza una solución de nitrato como sustrato, se ha observado el crecimiento de microorganismos reductores de nitrógeno pertenecientes a diferentes géneros y familias como *Nitrosomonas sp* y *Azovibrio*, *Rhodobacteraceae*, *Pseudomonas* y *Flavobacteriaceae* (Chen et al., 2008).

3.2.6 Sustratos en CCM

3.2.6.1 Sustrato anódico

Una variable importante que afectan al aspecto biológico de la celda es el tipo de sustrato empleado, el cual puede ser desde compuestos puros como la glucosa, como mezclas complejas de materia orgánica como los lodos residuales.

Para que se puedan llevar a cabo oxidaciones de materia orgánica compleja como azúcares, proteínas y compuestos de cadenas largas, es necesario un consorcio de que incluya bacterias fermentativas y electrogénicas. Al inicio del proceso de degradación, las bacterias fermentativas consumen la materia orgánica y forman metabolitos o compuestos más simples y fáciles de degradar que después pueden ser aprovechados por las bacterias electrogénicas.

Se ha visto que cuando se utiliza como sustrato para el crecimiento de los microorganismos la glucosa, las bacterias fermentativas se desarrollan en mayor cantidad que las electrogénicas y cuando se emplea acetato como sustrato pasa lo contrario, las bacterias electrogénicas son las dominantes (Pandey et al., 2016). Por ello, durante el periodo de crecimiento de la biopelícula y estabilización de la celda, se emplea en muchas investigaciones el acetato como fuente de materia orgánica. A continuación, en la tabla 2 se muestran algunos de los sustratos que han sido utilizados en la cámara anódica con las características del experimento. Como se observa, los sustratos empleados provienen de fuentes muy diferentes, y, sin embargo, todos son aprovechados generar energía. El poder obtener energía de tantas fuentes de materia orgánica es uno de los beneficios principales de las CCM. Como este trabajo se enfoca específicamente en el uso de lodo residual como sustrato anódico, se hablará de este sustrato de forma más amplia en un apartado más adelante.

Tabla 2. Sustratos utilizados en celdas de combustible microbianas (CCM).

Configuración CCM	Sustrato	Concentración	Densidad de potencia máxima	Referencia
Una cámara	Acetato	800 mg DQO/L	506 mWm ⁻²	Liu et al., 2005
Dos cámaras	Glucosa	6.7 mM, 1,152mgDQO/L (Calculado)	2160 mWm ⁻²	Catal et al., 2008
Una sola cámara con cátodo al aire	Agua residual farmacéutica recalcitrante	7.98 g DQO/L	205.61 mWm ⁻²	Velvizhi et al., 2012
CCM de flujo ascendente	Agua residual doméstica	238.7 mg DQO/L	481 mWm ⁻²	Jiang et al., 2013
Dos cámaras	Agua residual de destilería	3200 mg DQO/L	202 mWm ⁻²	Samsudeen et al., 2015
Dos cámaras	Agua residual de aceite de palma	2680 mg DQO/L	451.26 mWm ⁻²	Nor et al., 2015
Cámara dual tipo GC	Agua residual de refinería petrolera	250 mg DQO/L	330 mWm ⁻²	Guo et al., 2016
Dos cámaras	Agua sintética	1.625 g/L CH ₃ COONa	350 mWm ⁻²	Tursun et al., 2016

3.2.6.2 Sustrato catódico

A diferencia de la cámara anódica, el sustrato empleado no busca un contenido alto de materia orgánica ya que no se necesita la generación de electrones ni un alto crecimiento de biomasa. En vez de esto se busca reducir la resistencia interna y brindar buenas condiciones para el desarrollo de microorganismos (Logan, 2008). Por ello, el catolito se constituye comúnmente por una solución de nutrientes, una fuente de carbono como glucosa o levadura, metales traza y una solución tampón o alcalinidad que nivele el pH. Como nutrientes puede contener: K₂HPO₄, KH₂PO₄, NH₄Cl, MgCl₂, CaCl₂ y NaHCO₃ (Tursun et al., 2016; Wei et al., 2011); y metales traza como: FeSO₄ 6H₂O, MnSO₄, ZnSO₄ 7H₂O, H₃BO₃ y CuSO₄ 5H₂O (Jadhav y Ghangrekar, 2008).

Además de utilizar soluciones preparadas con nutrientes, se han hecho pruebas con agua residual como sustrato catódico, sin embargo, se debe tener cuidado ya que promueve

el crecimiento del grosor de la biopelícula, lo que puede reducir la producción de electricidad (Behera et al., 2010).

3.2.7 Parámetros de operación

Los parámetros de trabajo que caracterizan un sistema de CCM y que son determinantes en su funcionamiento son la carga orgánica, la temperatura y el pH.

1. Carga orgánica

Como primer parámetro se tiene la concentración de materia orgánica empleada para la alimentación de los microorganismos dentro de la cámara anódica. La carga orgánica afecta tanto el crecimiento de las bacterias como la cantidad de energía generada. El emplear concentraciones bajas hace que se acabe más rápido el sustrato y que se produzca una baja corriente eléctrica, sin embargo, cuando se tienen concentraciones muy altas, se impulsa el crecimiento de bacterias no electrogénicas reduciendo de igual manera la generación de energía (Santos et al., 2017).

2. Temperatura

La elección de la temperatura de operación va a depender de la temperatura óptima a la que se desarrollan las bacterias electrogénicas y fermentativas. Este parámetro es muy importante en el funcionamiento de una CCM tanto en la etapa de aclimatación como en la etapa de operación.

Durante la aclimatación se ha visto afectado el tiempo necesario para que las bacterias formen una biopelícula estable y activa, llegando a transcurrir 40 días con una temperatura de 15 °C en comparación con 3.5 días que se necesitaron a una temperatura de 35°C (Patil et al., 2010). Además, se ha visto afectada la densidad de corriente que se obtiene de biopelículas generadas a diferentes temperaturas, obteniendo mayor corriente eléctrica a mayor temperatura. Sin embargo, a temperaturas superiores de 50°C el efecto es contraproducente (Sun et al., 2014).

Ahora, en la etapa de operación se han estudiado los cambios en el voltaje producido cuando se varía la temperatura y se ha encontrado que de 25°C a 40°C es un rango

adecuado de temperatura para el crecimiento microbiano y la producción de energía (Harshitha *et al.*, 2019).

3. pH

Las bacterias electrogénicas tienen un buen crecimiento dentro de un rango de pH que va de 6.5 a 8.5 (Mateo *et al.*, 2017) y es conocido que se tienen desprendimientos y daños de la biopelícula de manera irreversible si se llega a un pH menor de 5 y mayor a 11 (Patil *et al.*, 2011), por lo que se debe de controlar la concentración de protones en las dos cámaras para evitar la inhibición bacteriana. Se ha demostrado también que el medio alcalino o el uso de una solución reguladora en la cámara anódica mejora el flujo de protones generados dentro de la biopelícula del ánodo hacia afuera de la misma. Por otro lado, el tener en la cámara catódica un pH bajo ayuda a llevar a cabo la reducción del oxígeno con una mayor cantidad de protones disponibles para realizar la reacción de reducción (Jung *et al.*, 2011).

Por último, como los microorganismos metanogénicos compiten con los electrogénicos en el consumo de sustrato, se evita que se desarrollen los primeros mediante el control del pH. El rango de pH en el que pueden vivir los microorganismos metanogénicos es de pH 6.6-7.5 (Contreras y Vidal, 2015), por lo que es preferible tener un pH fuera de este rango en la cámara anódica.

3.3 Lodos residuales como sustrato anódico

En los últimos años el incremento de la población ha forzado un aumento en la demanda de agua y su tratamiento, generando grandes cantidades de lodos residuales difíciles de disponer. El lodo residual contiene patógenos, metales y algunos contaminantes orgánicos que pueden causar riesgo de salud a la población y al medio ambiente, por lo que también necesitan tener un apropiado tratamiento y disposición (Zhen *et al.*, 2017). Sumando a esto, el costo que representa el tratamiento de lodos en una planta de tratamiento de aguas es el 50% del costo total de operación. Con esta situación se ha

intentado buscar alternativas de estabilización y tratamiento de lodos residuales de las plantas de tratamiento de agua (Appels et al., 2008).

Como alternativa a la tradicional digestión anaerobia, las celdas de combustible microbianas han logrado tratar lodo residual de distinta procedencia y con diferentes características, generando energía eléctrica. Algunos de los estudios que se han realizado con lodos residuales como sustrato, se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. CCM con diferentes lodos residuales como sustrato

Configuración CCM	Sustrato	Densidad de potencia máxima	Aceptor de electrones	Referencia
Cámara con cátodo al aire	Lodo anaerobio	92.4 W m ⁻³	Oxígeno	Martin et al., (2010)
Tres cámaras	Lodo residual	13.2 W m ⁻³	Oxígeno	Zhang et al., (2012)
Dos cámaras	Lodos activados	38.1 W m ⁻³	K ₃ Fe (CN) ₆	Wang et al., (2013)
Dos cámaras	Lodo digerido	12.67 W m ⁻²	Oxígeno	Oh et al., (2014)
Dos cámaras	Lodos salinos de aguas residuales domésticas	41 W m ⁻³	K ₃ Fe (CN) ₆	Karthikeyan y Selvam (2016)
Dos cámaras	Lodo anaerobio	1.38 W m ⁻³	Oxígeno	Vicari et al., (2018)
Tres cámaras (desalinizadora)	Lodos de planta de agua residual	1.97 W m ⁻³	Oxígeno	Meng et al., (2019)

Los lodos residuales tienen una alta concentración de materia orgánica, con esto se tiene una alta cantidad de energía aprovechable contenida dentro de las moléculas orgánicas, lo que los hace una buena opción como sustrato de CCM. La materia orgánica de los lodos residuales puede dividirse en materia soluble e insoluble. Las bacterias electrogénicas consumen de manera sencilla la materia soluble, pero la materia insoluble y los compuestos complejos son difíciles de degradar.

La degradación de materia orgánica de manera anaerobia se divide principalmente en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis y/o electrogénesis (figura 4). La hidrólisis se lleva a cabo gracias a enzimas extracelulares que secretan algunas bacterias hidrolíticas que pertenecen a diversos géneros como Clostridium, Micrococcus, Bacillus, etc. (Parra, 2015) Estas enzimas rompen las cadenas de los polímeros de alto peso molecular como orgánicos: proteínas, carbohidratos y lípidos; y

se forman moléculas solubles que ya pueden ser absorbidos por bacterias como fuente de alimento. En la acidogénesis, los compuestos hidrolizados se fermentan y se transforman en alcoholes, ácidos grasos volátiles de cadena corta, H₂ y CO₂. Posteriormente, en la acetogénesis se produce acetato, H₂ y CO₂ a partir de los productos de la acidogénesis (Cámara y Laines, 2011; Parra, 2015). Como último paso, el ácido acético y los otros ácidos grasos volátiles son consumidos por microorganismos metanogénicos (en el caso de producción de metano) y electrogénicos (en el caso de generación de energía eléctrica).

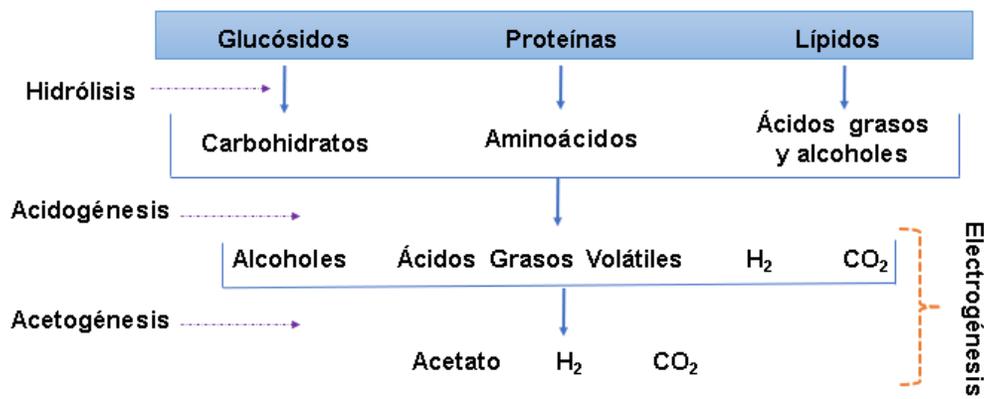


Figura 4. Proceso de degradación de materia orgánica. (Figura modificada de Zhao *et al.* 2017).

Se conoce que el paso limitante en el proceso de digestión anaerobia es la hidrólisis. Al ser un paso muy lento, disminuye la capacidad de degradación de materia orgánica, se necesita un largo tiempo de retención y un extenso volumen de reactor. Sin embargo, se han empleado técnicas de pretratamiento como: ultrasonificación, fermentación, microondas (Yu, Kabutey y Ding, 2017), entre otras; las cuales han logrado incrementar la eficiencia de degradación de materia orgánica y de producción de energía.

3.3.1 Pretratamientos de lodos residuales

Como se mencionó el objetivo principal que tienen los procesos de pretratamientos de lodos residuales es el incrementar la velocidad de la hidrólisis, propiciando el aumento de la DQO soluble. Sin embargo, se obtienen otros beneficios con el pretratamiento como: la disminución del TRH, con lo que se necesita un menor volumen de reactor; mejora en

la estabilización de los lodos; mejora en el proceso de deshidratación; e incremento en la generación de energía (Tyagi y Lo, 2011; Yu et al., 2017, Yusoff et al., 2013).

Las técnicas de pretratamiento de lodo residual pueden dividirse en físicas, químicas y biológicas. Dentro de las técnicas físicas se ha empleado el uso de microondas, sonicadores, homogenización con alta presión, hidrólisis térmica, etc. (Yusoff et al., 2013; Jiang et al., 2010b; Zhang Y. et al., 2013; Javashree et al., 2014). Por parte de las técnicas químicas se han realizado tratamientos alcalinos, ácidos y de oxidación (Zhen G. et al., 2017). Y como pretratamientos biológicos se han aplicado procesos de predigestión (digestión termofílica de bajo TRH con posterior digestión mesofílica), hidrólisis enzimática, fermentación oscura, etc. (Ge et al., 2011; Chookaew et al., 2014; Zhen GY et al., 2016). La mayoría de estos pretratamientos se han investigado para la obtención de metano en digestores anaerobios y son pocos los que a la fecha se han probado en celdas de combustible microbianas.

En la aplicación de celdas de combustible microbianas, se han llevado a cabo algunos estudios con diferentes tipos de pretratamientos como la ozonación, microondas, sonicación, pretratamientos térmicos, químicos, entre otros (Yusoff et al., 2013; Jiang et al., 2010b; Yang et al., 2013; Jayashree et al., 2014; Oh et al., 2014). En cada uno de ellos se han observado mejoras en la generación de energía eléctrica, las cuales se han planteado como consecuencia del incremento de DQOs.

Además de que se ha visto un efecto en la concentración de DQOs y en la energía generada, el estudio realizado por Yusoff y sus colaboradores en el 2013, dedicado a pretratamiento mediante microondas, afirma que el tipo de pretratamiento influye en la morfología de la biopelícula y en la composición microbiana del ánodo. En este caso en particular se presentó una mayor cantidad de bacterias del filo Bacteroidetes en las celdas con mayor generación de energía las cuales fueron pretratadas con microondas. En la Tabla 4 se muestra el resumen de algunos estudios de pretratamiento de lodo para CCM.

El mecanismo por el que se busca el aumento de la materia orgánica soluble es mediante la ruptura de la membrana de las células, la solubilización de las Sustancias Poliméricas Extracelulares (SPE) y la ruptura de los flóculos del lodo. Las SPE son biopolímeros de

un alto peso molecular que se generan por secreciones de bacterias y lisis celular (Zhang et al., 2016). Este conjunto de sustancias ayuda en un inicio a las bacterias durante su etapa de colonización a adherirse a una superficie y formar colonias. Posteriormente estas sustancias son las responsables de la forma, protección y estabilidad del flóculo.

La composición de las SPE incluye componentes como los ácidos nucleicos extracelulares (1%-10%), proteínas (1%-60%), polisacáridos extracelulares (40%-95%), lípidos (1%-40%), células microbianas (2%-5%) y otras sustancias, siendo los polisacáridos el mayor constituyente (Arunasri et al., 2019). Estos compuestos, además de ser importantes por su función en el desarrollo de las bacterias y los flóculos, son de importancia en el tratamiento de lodo residual ya que llegan a representar el 80% de la masa de los lodos activados (Liu et al., 2003).

Por lo anterior, se ha seguido realizando estudios para encontrar nuevos métodos que mejoren la solubilización de las SPE. Además de los pretratamientos de lodos mostrados en la tabla 4, se conocen opciones de pretratamientos que pueden ser prometedoras si se aplican en celdas de combustible microbianas, como es el caso del uso de enzimas o compuestos oxidantes como el ácido peracético

Tabla 4. CCM con pretratamiento del lodo anódico

Pretratamiento	Configuración CCM	Concentración inicial del lodo	Electrodos	Aceptor de electrones	Densidad de potencia máxima		Remoción de DQO _t		Referencia
		(g/L)			*S/T	*C/T	S/T	C/T	
Microondas	Dos cámaras	29-31 de ST	Tela de carbón ánodo y cátodo	Oxígeno	10 mW/m ²	42 mW/m ²	40%	55%	Yusoff et al., (2013)
Ozono	Dos cámaras	29-31 de ST	Tela de carbón para ánodo y cátodo	Oxígeno	10 mW/m ²	21 mW/m ²	40%	50%	Yusoff et al., (2013)
Fermentación	Una cámara	16.5 de SST	Ánodo de cepillo de fibra de carbón y cátodo de tela de carbón.	Oxígeno	0.24 W/m ²	0.32 W/m ²	-	-	Yang et al., (2013)
Congelamiento	Dos cámaras	28.6–28.7 de ST	Ánodo y cátodo de cepillo de fibra de carbón	Ferricianuro de potasio	8.5 W/m ³	10.2 W/m ³	25.3%	66.2%	Chen Y. et al., (2014)
Térmico	Tipo H	14 ST	Ánodo y cátodo de hoja de grafito	Oxígeno	0.5W/m ³	0.715W/m ³	42%	54%	Jayashree et al. (2014).
Hidrólisis y fermentación	Dos cámaras	19.98 SST	Ánodo de tela de carbón y cátodo de placa de grafito	Ferricianuro de potasio	-	1.05 W/m ³	-	90%**	Zhang Y. et al., (2019)
Fenton	Dos cámaras	Se utilizó el sobrenadante	14 fieltros de carbono para cada ánodo y cátodo	Ferricianuro de potasio	0.45 W/m ³	8.15 W/m ³	52.5%**	70.7%**	Zhang X. et al. (2019)

*S/T: sin tratamiento, C/T: con tratamiento. **DQO soluble.

3.3.2 Pretratamiento con enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos, proteínas que aceleran la velocidad de las reacciones químicas que ocurren en la célula. Estas, de acuerdo con la reacción química que catalizan, se dividen en 6 grupos: oxidorreductasas, transferasas, ligasas, isomerasas, liasas e hidrolasas. Las últimas, son de interés para el pretratamiento de lodo residual, ya que, son un grupo que se encargan de catalizar las reacciones de hidrólisis. Entre ellas se encuentran: la lipasa, proteasa, amidasa, celulasa, amilasa, etc. Y cada una rompe enlaces específicos de las moléculas como los enlaces peptídicos, glucosídicos, etc. (Herrera, 2015), formando compuestos más simples y solubles.

En estudios de pretratamiento de lodo residual, se han probado algunas de estas enzimas provenientes de microorganismos existentes en el medio ambiente, así como también enzimas comercializadas por diferentes marcas de reactivos químicos. Estas se han aplicado principalmente en lodo residual para la obtención de metano, y hay un estudio en el que se han probado en celdas de combustible microbianas.

En el 2010, Yang y sus colaboradores exploraron la hidrólisis de lodo residual a 40°C con enzimas comerciales α -amilasa y proteasa, en donde observaron que podía aumentar la relación de DQOs/DQOt, incrementando la dosis empleada de cada enzima. En la dosis más alta de 18% (peso enzima/ ST), alcanzaron la máxima relación de DQOs/DQOt de 22.1% con proteasa y 26.2% con amilasa.

Posteriormente se presentaron estudios sobre pretratamiento enzimático para obtención de metano. Yu y sus colaboradores en el 2013, lograron incrementar un 18.6% la generación de biogas con un pretratamiento a 37°C por 28 h con la enzima α -amilasa, gracias al incremento en DQOs de 1,500 a 3,200 mg O₂/L y en AGV de 133 mg/L a 1719 mg/L en comparación con el blanco. De igual manera, en otro estudio se pudo incrementar 1.5 veces la DQOs obteniendo 3,470.5 mg O₂/L durante el pretratamiento a 60°C con enzimas endógenas provenientes de hongos, lo que incrementó 1.5 veces la producción de biometano (Yin et al., 2016).

Por su parte, en la aplicación de enzimas como pretratamiento de lodo residual para CCM, solo existe un estudio realizado por Xin y sus colaboradores en el 2019 en donde

utilizaron una mezcla de enzimas: lisozima, α -amilasa, proteasa y celulasa. Como procedimiento, se realizó el pretratamiento al lodo residual con las enzimas a 37°C y posteriormente se fermentó por 10 días a 35°C. Al término de este periodo, se separó el líquido fermentado de los sólidos y sólo se agregó la fase líquida como sustrato en las CCM de una cámara con cátodo al aire. Con este procedimiento se tuvieron como resultados 0.184W/m² de densidad de potencia y un voltaje de 0.64V con una resistencia externa de 500 Ω .

En la investigación anterior, no se expuso de manera clara que haya sido un beneficio emplear las enzimas como pretratamiento de lodo residual en CCM ya que no realizan una comparación con un experimento control al que no se le haya hecho el pretratamiento. Por otro lado, para poder comparar con otras técnicas de pretratamiento en CCM se tendría que usar como sustrato el lodo completo y no solo la parte líquida.

Por lo anterior, en este trabajo se probará el uso de la enzima comercial α -amilasa como pretratamiento de lodo residual, la cual ya ha sido empleada para la producción de metano (Yang et al., 2010; Yu et al., 2013), pero realizando el pretratamiento a temperatura ambiente. El que sea a esta temperatura, y no en el rango estudiado de 37-60°C, es ya que las CCM tiene como ventaja el que pueden trabajar a temperatura ambiente a diferencia del digester anaerobio, por lo que el pretratamiento se realizará a la misma temperatura para evitar el consumo de energía y adición de equipos. Además, se realizará la comparación del funcionamiento de las CCM con y sin pretratamiento de lodo anódico.

La elección de utilizar la enzima α -amilasa como pretratamiento en este trabajo se hizo considerando los estudios que la han empleado para provocar hidrólisis en el lodo residual, así como también por su naturaleza de funcionamiento. Esta es una proteína que rompe específicamente los enlaces 1-4 glucosídicos presentes en polímeros como el almidón, convirtiéndolo en productos de bajo peso molecular como la glucosa, maltosa y maltotriosa (Mikawlawng, 2016). Con estos productos de hidrólisis enzimática se plantea que se podrá continuar de manera más sencilla con los siguientes pasos en la degradación de materia orgánica: producción de ácidos grasos por microorganismos fermentativos y generación de electricidad por microorganismos electrogénicos.

3.3.3 Tratamiento con Ácido Peracético

Un segundo tratamiento que no se ha estudiado en el ámbito de celdas de combustible microbianas, es la utilización de ácido peracético como oxidante de materia orgánica. El ácido peracético (APA) es una mezcla de equilibrio cuaternario de ácido acético, ácido peracético y peróxido de hidrógeno de acuerdo con la siguiente reacción:



Esta mezcla es un fuerte oxidante, con poder similar al cloro y tiene la ventaja de que no se ha visto que se formen productos tóxicos con su uso. A partir del ácido peracético se forman radicales hidroxilo (Kitis, 2003), los cuales reaccionan con moléculas orgánicas produciendo radicales orgánicos. Estos radicales pueden seguir reaccionando con otras moléculas orgánicas provocando una reacción en cadena la cual puede llegar hasta la mineralización (Terán, 2016).



Desde la época de los 60's, el ácido peracético ha sido empleado como desinfectante y esterilizante en industrias farmacéuticas, textiles, industrias de comida, etc. Utilizando este compuesto en la limpieza de superficies y equipos, con el beneficio de no necesitar de un enjuague posterior a su aplicación (Kitis, 2003). Más adelante, cuando se descubrió que el cloro formaba subproductos de desinfección como cloraminas, trihalometanos, etc., se comenzó a utilizar el APA como su sustituto en el tratamiento de agua residual para la desinfección del efluente (Lubello et al., 2001; Macêdo et al., 2019; Veschetti et al., 2013). Siguiendo con las investigaciones del APA en tratamiento de agua se obtuvo que, además de tener un gran efecto bactericida, es capaz de oxidar compuestos orgánicos refractarios, y con un desempeño aún mejor cuando se utiliza en conjunto con

luz UV, catalizadores metálicos u ondas ultrasónicas; compitiendo con otros Procesos de Oxidación Avanzada (POA) como: Fenton, ozonización, UV/H₂O₂, etc. (Ao et al., 2020; Sharma et al., 2014; Wu et al., 2020).

Otro punto a favor de este compuesto oxidante es que se desintegra solo en agua y ácido acético el cual puede ser también utilizado por las bacterias como fuente de carbono. Por estas razones este compuesto se ha utilizado en algunos trabajos como pretratamiento de lodos residuales en procesos de generación de energía como lo es la producción de biogás y la generación de hidrógeno.

Appels y sus colaboradores en el 2011, lograron aumentar la DQOs de 2580 mg O₂/L a 8,413 mg O₂/L y los AGV de 328 mg/L a 8,413 mL empleando 100 g APA/ kg ST durante las pruebas preliminares. Sin embargo, al aplicar el pretratamiento en el biodigestor, la mejor dosis empleada fue de 25 g APA/kg ST, la cual incrementó un 21% la generación de biogás. En este trabajo, se observó que concentraciones mayores de APA fueron contraproducentes, ya que se generaba una cantidad significativa de ácidos grasos volátiles, los cuales disminuyeron el pH y provocaron la inhibición de microorganismos metanogénicos. Por su parte, en los estudios de generación de hidrógeno, se logró con este pretratamiento tener un sistema estabilizador de lodos y generador de hidrógeno, el cual lo señalan como económicamente factible de acuerdo con algunos investigadores (Aiken et al., 2019; Escapa et al., 2012).

Durante el proceso de pretratamiento de lodo residual con ácido peracético, se ha visto que es importante la dosis aplicada, ya que no debe de ser tan alta para evitar que se llegue a la mineralización de la materia orgánica, pero debe de ser suficiente para lograr la hidrólisis de los compuestos complejos. Siguiendo esta idea, los productos formados varían también dependiendo de la dosis, como es el caso de los ácidos grasos volátiles. Esto es de gran importancia ya que, por un lado, un tipo de sustrato puede beneficiar el crecimiento de ciertas especies de microorganismos en el reactor y, por otro lado, se ha visto que la existencia de un solo sustrato como el ácido acético o la combinación de varios ácidos grasos tienen un efecto en su velocidad de degradación y en la producción de energía (Freguia *et al.*, 2010, Chang *et al.*, 2011).

Por las características del ácido peracético presentadas en este apartado, se decidió probar también éste compuesto químico para dar pretratamiento al lodo residual que se empleará como sustrato anódico en celdas de combustible microbianas.

3.4 Evaluación electroquímica de las CCM

Para cuantificar la eficiencia de los sistemas electroquímicos microbianos en términos de generación de electricidad, se mide la energía generada como la potencia producida, esto es el producto del voltaje (V) de la celda por la corriente (I). Los parámetros principales que se estudian para evaluar el comportamiento eléctrico de las CCM son el voltaje, densidad de potencia, densidad de corriente, resistencia interna y la eficiencia coulombica.

1. Voltaje (V): el voltaje es la diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos y está en función de la corriente y de la resistencia externa. Generalmente se varía la resistencia externa y se mide el voltaje (Zhao et al., 2008).
2. Intensidad de Corriente (I): para el cálculo de la intensidad de corriente, se sigue la ley de Ohm en que la intensidad $I = V/R_{ext}$, en donde R_{ext} es la resistencia externa y V es el voltaje. La intensidad de corriente se expresa en mA (miliamperes) (Logan et al., 2006)
3. Densidad de potencia (DP): la potencia que genera la celda se mide como el producto del voltaje por la corriente, sin embargo, para poder comparar este valor con otras arquitecturas de CCM, tiene que expresarse en función del área superficial del ánodo o del volumen de la cámara anódica. Así, la densidad de potencia es la potencia por unidad de área del electrodo anódico o potencia por unidad de volumen del sustrato (Logan et al., 2006).
4. Densidad de corriente (DC): La densidad de corriente se calcula de manera similar a la densidad de potencia ya que es la relación de la intensidad de corriente entre el área de contacto del ánodo, expresada en mA/m^2 (Logan et al., 2006).
5. Eficiencia Coulómbica (EC): Otro parámetro que sirve para caracterizar el funcionamiento de una CCM es la eficiencia Coulómbica, que expresa la relación

entre el total de Coulombs transferidos al ánodo provenientes de la degradación del sustrato y el máximo de Coulombs que se podrían generar si todo el sustrato degradado produjera corriente.

$$EC = \frac{\text{Coulombs transferidos}}{\text{Coulombs totales en el sustrato}} \quad \text{Ec. 13}$$

Los Coulombs transferidos se calculan mediante la integración de la corriente en el tiempo y, en el caso de una CCM que trabaja por lotes, se evalúa durante el periodo de tiempo t_b por medio de la siguiente ecuación:

$$EC = \frac{M \int_0^{t_b} I dt}{F b v_{\text{ánodo}} \Delta DQO} \quad \text{Ec.14}$$

En donde M es el peso molecular del oxígeno, F es la constante de Faraday, b es el número de electrones intercambiados por mol de oxígeno, $v_{\text{ánodo}}$ es el volumen de líquido en el compartimento anódico y ΔDQO es el cambio en la DQO en el tiempo de residencia que tuvo el sustrato en la cámara anódica.

3.4.1 Voltaje de circuito abierto y pérdidas de voltaje

El voltaje máximo que podría ser obtenido por el sistema de una CCM se mide mediante un potenciómetro cuando el sistema no está conectado de ánodo a cátodo por medio de una resistencia externa, con lo que aún no existe una generación de corriente; a este se le conoce como voltaje de circuito abierto (Zhao et al., 2008). Durante el funcionamiento de la celda, el voltaje sufre caídas o también llamados sobrepotenciales por diferentes motivos.

El voltaje de la celda se expresa con la siguiente ecuación:

$$E_{\text{celda}} = E_c - n_{\text{act},c} - n_{\text{con},c} - E_a - n_{\text{act},a} - n_{\text{con},a} - n_{\text{ohm}} \quad \text{Ec.15}$$

En donde E_c y E_a son los potenciales de circuito abierto del cátodo y el ánodo respectivamente, n_{act} son las llamadas pérdidas de voltaje por activación o transferencia de carga, n_{con} son las pérdidas por transporte de masa y n_{ohm} son las pérdidas óhmicas (Zhao et al., 2008). Cada pérdida mencionada representa una resistencia en el sistema y la suma de estas resistencias da la resistencia interna de la celda.

Las pérdidas de activación se dan por pérdidas de energía en forma de calor y las pérdidas de energía durante los mecanismos de transferencia de electrones, estas están tan asociadas a las características de la superficie de los electrodos. Se pueden disminuir este tipo de pérdidas mediante el uso de catalizadores, biopelículas, incrementando la superficie del electrodo o la temperatura (Das, 2018).

Las pérdidas de transporte de masa se dan por el flujo másico no ideal de los sustratos hacia los electrodos o de los productos formados desde los electrodos al medio. Por último, las resistencias óhmicas se dan por una resistencia al flujo de protones y de electrones, en donde se involucran las características de los materiales como los electrodos, el electrolito, las membranas, etc. (Logan, 2008).

3.4.2 Curvas de polarización

Cuando ocurre un cambio en el potencial del electrodo y este deja de estar en equilibrio gracias al paso de una corriente eléctrica, se dice que ocurrió una polarización. Las curvas de polarización son el gráfico de los cambios en el potencial del electrodo o del voltaje de la celda en función de la corriente eléctrica. Estos pueden medirse en el ánodo, el cátodo o la celda completa por medio de un potenciostato.

Generalmente una curva de polarización tiene tres regiones características (Zhao et al., 2008), las cuales se presentan en la figura 5 y se describen a continuación:

- Región 1: se encuentra en el comienzo de la curva en donde se tiene el voltaje de circuito abierto (VCA) con corriente cero. Esta es una región que tiene una caída de voltaje por los sobrepotenciales de activación del ánodo y del cátodo relacionados con la baja velocidad de reacciones que se realizan en la superficie de los electrodos.

- Región 2: es una segunda caída de voltaje que se observa lenta (con menor pendiente) dada por los sobrepotenciales óhmicos (n_{ohm}) generados por las resistencias en el electrolito, las membranas, la biopelícula, etc.
- Región 3: es la última caída de voltaje que se relaciona a la transferencia de masa (n_{conc}). Esta se da a corrientes altas con los cambios en las concentraciones de los reactivos y productos en la interfase entre el electrolito y el electrodo. Ocurre cuando el reactivo no se puede suministrar en la zona del electrodo donde se necesita para mantener la generación de corriente.

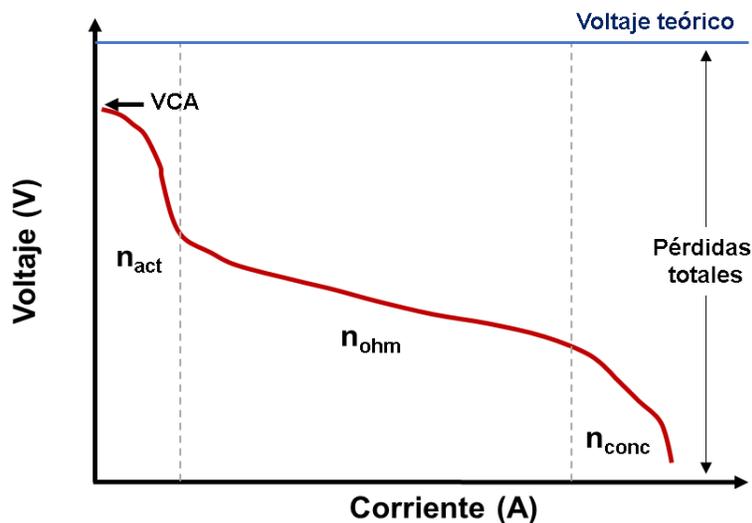


Figura 5. Curva de polarización. Fuente: modificado de Zhao et al. (2008).

Con las curvas de polarización se puede observar cada resistencia que tiene la celda y cuando la curva de polarización es lineal, la resistencia interna es directamente proporcional a la pendiente de la línea.

3.4.3 Curvas de potencia

Una curva de potencia describe la densidad de potencia en función de la corriente generada y se calcula mediante la curva de polarización. Al inicio de la curva no se muestra una potencia ya que no existe corriente con el voltaje de circuito abierto, pero a partir de ahí la curva incrementa hasta un punto máximo y después de este punto vuelve a disminuir debido a las pérdidas óhmicas hasta el punto en que no hay producción de potencia. Cuando la resistencia interna está dada mayoritariamente por resistencias

Óhmicas, se tiene una curva de potencia simétrica en forma de semicírculo y generalmente el punto de potencia máximo se da cuando la resistencia interna es igual a la resistencia externa (Logan et al., 2006).

3.4.5 Voltametría cíclica

La voltametría cíclica es una técnica electro-analítica utilizada comúnmente en sistemas electroquímicos para el estudio de las reacciones redox. Esta técnica se realiza empleando un potenciostato, una celda y tres electrodos: electrodo de trabajo, contra electrodo y electrodo de referencia. En ella, se aplica un barrido de potencial de manera triangular desde un valor inicial de potencial hasta un valor final y en reversa, midiendo como respuesta la corriente generada (Das et al., 2018; Mohan et al., 2019). Para realizar el análisis, se grafica la respuesta de corriente (I) en función del potencial aplicado (E) como se observa en la figura 6.

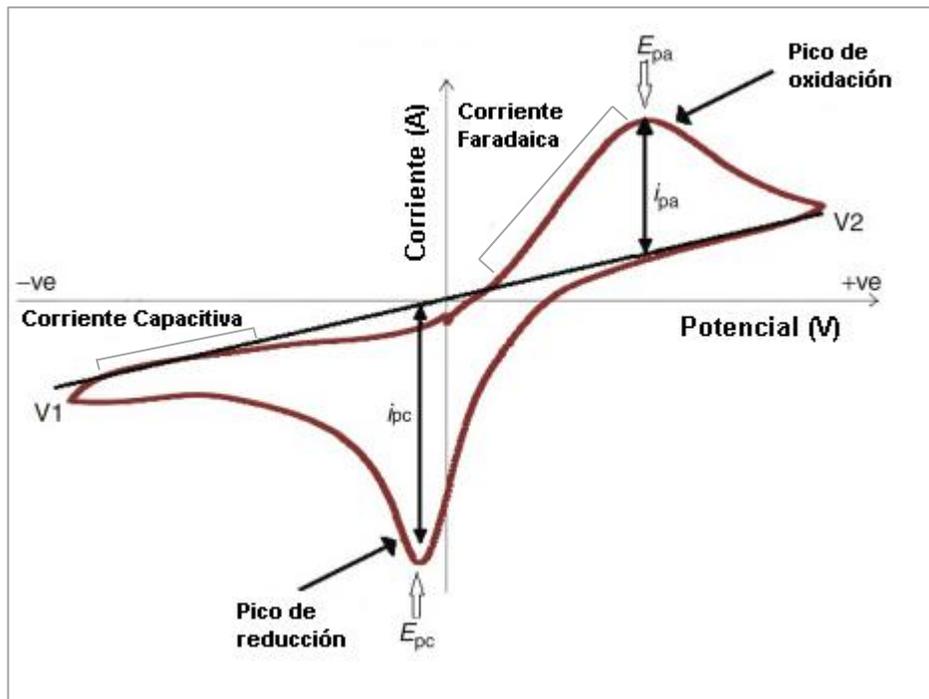


Figura 6. Voltamograma cíclico. Fuente: Guy y Walter, (2016).

Para que ocurra una reacción de oxidación se realiza un barrido hacia potenciales positivos y se ve cómo incrementa la corriente hasta llegar a un máximo (parte superior derecha de la Figura 6) llamado corriente de pico anódico (I_{pa}). Este punto máximo se

alcanza cuando todo el reactivo cercano a la superficie del electrodo reaccionó, por lo que posterior a ese pico se empieza a disminuir la corriente. Al ir hacia potenciales negativos, ocurre ahora una reducción y se observa en la parte inferior izquierda la corriente de pico catódico (I_{pc}).

Una manera de obtener un aproximado del potencial formal del par redox es mediante el promedio del potencial anódico y catódico (Das, 2018):

$$E_f = \frac{E_a + E_c}{2} \quad \text{Ec. 16}$$

El potencial obtenido del par redox en una reacción reversible, puede compararse con los potenciales estándar de literatura para reconocer qué reacción está sucediendo. Sin embargo, en los sistemas complejos como el agua y lodos residuales es difícil hacerlo al tener más de una reacción ocurriendo al mismo tiempo. En algunas situaciones también sucede que existen reacciones químicas irreversibles con los productos de la reacción electroquímica, por lo que ahora la reacción electroquímica se observa como irreversible (Das, 2018).

En CCM se emplea la VC principalmente para caracterizar el sistema sobre los mecanismos de transferencia de electrones, llegando a conocer los siguientes puntos:

1. La existencia de reacciones redox reversibles. La reversibilidad se puede conocer mediante la razón entre la intensidad de corriente de pico anódica y catódica (I_{pa}/I_{pc}), así como si la distancia de separación entre los potenciales de pico es de $59.2\text{mV}/n$, en donde n es el número de electrones transferidos.

De igual manera, se tiene una reacción reversible cuando el potencial de pico es independiente de la velocidad de barrido. Cuando se es reversible, se espera que el transporte de carga sea más rápido que el transporte de masa (Zhao *et al.*, 2008).

2. Qué tipo de reacciones se tienen, si es por especies absorbidas o si es por procesos de difusión. Esto mediante el estudio a diferentes velocidades de barrido. Al incrementar la velocidad de barrido se incrementa la intensidad de corriente, si

el incremento es de manera lineal, se relaciona con especies absorbidas y si el incremento tiene una razón de raíz cuadrada, se relaciona con procesos de difusión (Babauta *et al.*, 2012; Harnish y Freguia, 2012).

3. El efecto que tiene el sustrato y la biopelícula. Para observar el efecto del sustrato se hace VC con electrodo sin biopelícula y con biopelícula empleando sustrato nuevo. Para observar la biopelícula, se corre una VC con electrodo con biopelícula y sin biopelícula (Zhao *et al.*, 2008).
4. Existencia de metabolitos. Para observar el efecto de los metabolitos se corre VC con un electrodo sin biopelícula en un electrolito con sustrato que ya fue consumido (Zhao *et al.*, 2008).

3.4.6 Espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIE)

La impedancia electroquímica es una técnica empleada para analizar los procesos fisicoquímicos en soluciones e interfase sólido-líquido y sólido-sólido, ayudando a la identificación de las diferentes pérdidas de voltaje que se tienen en el sistema (Bard y Faulkner, 2001; Zhao *et al.*, 2008). El procedimiento se basa en aplicar una señal de corriente alterna a un electrodo, midiendo la respuesta que se tiene en corriente a diferentes frecuencias. Los resultados se pueden representar mediante el gráfico de Nyquist, el cual en el eje X muestra la parte real (Z_{real}) de la impedancia y el eje Y, la parte compleja o imaginaria (Z_{imag}) (Das, 2018). Cada punto mostrado en la gráfica (línea azul de la Figura 7), es la impedancia a una determinada frecuencia. Las frecuencias bajas se encuentran en el lado derecho y las frecuencias altas son en el lado izquierdo.

La resistencia Óhmica (R_s) se determina generalmente a frecuencias altas, en donde el inicio de la curva intercepta el eje real Z. Esta se debe a las pérdidas por la separación entre los electrodos, los materiales empleados, la resistividad de la membrana, la concentración del electrolito, etc. (Das, 2018). La resistencia de transferencia de carga (R_{tc}) se observa a frecuencias medias, la cual se mide en el semicírculo que se muestra en la figura. La resistencia a transferencia de carga entre electrolito y electrodo se puede ver disminuida con la presencia de una biopelícula, la actividad biocatalítica de los microorganismos, la presencia de compuestos mediadores, etc. Por último, la resistencia

de transferencia de masa o resistencia de difusión (R_w) se observa como la línea que sube al terminar el semicículo.

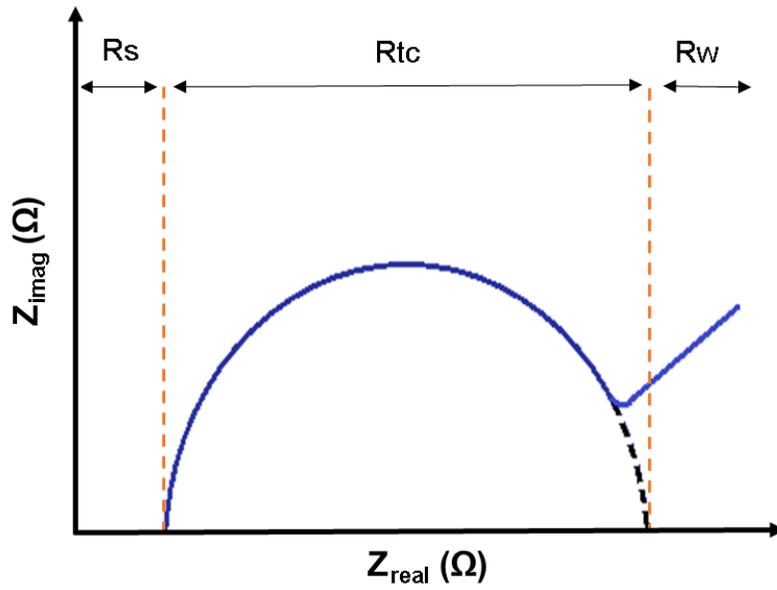


Figura 7. Gráfico de Nyquist. Fuente: elaboración propia.

4. Metodología

En este apartado se mencionarán los materiales empleados y las técnicas utilizadas durante la investigación experimental de este proyecto.

4.1 Pruebas preliminares

4.1.1 Pretratamiento con enzimas

Se realizaron como pruebas preliminares el pretratamiento con la enzima α -amilasa de Sigma-Aldrich (CAS: 9000-90-2) con 50U/mg (una unidad corresponde a la cantidad de enzima que libera 1 μ mol de maltosa por minuto a pH 6.9 a 25 ° C). Para esto se homogenizó 200 mL de lodo mediante agitación en un vaso de precipitados de 250 mL. Posteriormente se agregó la cantidad de enzima correspondiente a la dosis necesaria para cumplir 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 mg de enzima/ g ST (ver Anexo 1). Después de homogeneizar se mantuvo en agitación de 140-150 rpm a temperatura ambiente (23-27°C) por 5 horas de acuerdo con metodologías aplicadas para pretratamiento de lodos con enzimas (Yang et al. 2010, Yu et al., 2013). Al término del pretratamiento se llevó a pH 6 el lodo pretratado añadiendo H₂SO₄ 1M.

4.1.2 Pretratamiento con ácido peracético

Se empleó una solución de ácido peracético (APA) del 15% de Persan Active. Esta solución es una mezcla de equilibrio de APA (15%), peróxido de hidrógeno (10%), ácido acético (36%) y agua (39%). Para el pretratamiento, se introduce una muestra de lodo de 200 mL en un vaso de precipitados y se añade una cantidad apropiada de APA de acuerdo con las dosis de 25, 50 100, 150, 200, 250 y 300 mg de APA/ g ST (Anexo 1). Se mantuvo cada prueba agitando a 140-150 rpm durante 2 horas a temperatura ambiente mediante una plancha de agitación, siguiendo la metodología que presentaron Appels y sus colaboradores en el 2011. Como el pH disminuyó hasta 4-5 con el pretratamiento, se agregó NaOH 1M hasta llegar a pH 6.

Terminando el tiempo de pretratamiento para los dos métodos, se tomaron muestras de 50 mL de lodo pretratado y se le realizaron como análisis Sólidos Totales (ST), Sólidos

Volátiles (SV), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), Demanda Química de Oxígeno Total (DQOt), DQO soluble (DQOs) y Ácidos Grasos Volátiles (AGV).



Figura 8. Pruebas preliminares de pretratamiento de lodo residual

4.2 Sistema experimental de CCM

4.2.1 Configuración de las Celdas de Combustible Microbianas

Las celdas que se emplearon tienen una estructura cilíndrica de 12 cm de diámetro y 13 cm de altura. Estas se encuentran divididas a la mitad de manera transversal para tener así una cámara anódica y una catódica, como se muestra en la figura 9.

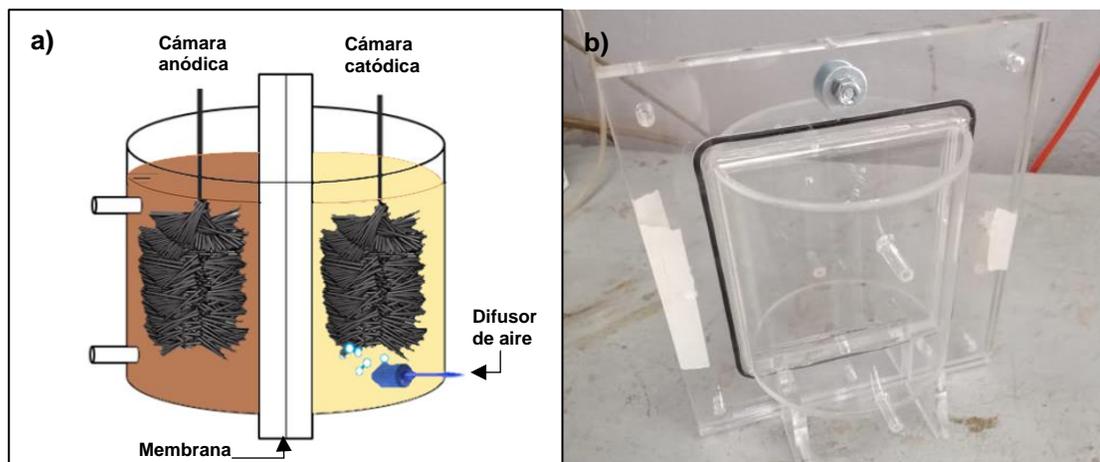


Figura 9. CCM de dos cámaras. a) Esquema del sistema experimental. b) CCM de dos cámaras utilizada para el proyecto.

Cada cámara se encontró separada por una membrana de intercambio protónico. En la parte superior de las cámaras se realizaron dos orificios, uno de 2mm y otro de 7 mm. El primer orificio fue para colocar el ánodo/cátodo y el segundo colocar el electrodo de referencia durante las pruebas electroquímicas.

La parte lateral de la cámara anódica tienen dos perforaciones de 6 mm de diámetro, uno en la parte superior y otro en la parte inferior con la función de alimentar, vaciar y realizar la recirculación hidráulica. Por su parte, la cámara catódica tiene un orificio lateral en la parte inferior en donde se introdujo un difusor de aire.

Tanto el anolito como el catolito se llenaron hasta una altura de la cámara de 11.8 cm, por lo que se tuvo un volumen de trabajo de 668 mL.

4.2.2 Preparación de electrodos y membranas

4.2.2.1 Electrodos

Se emplearon como electrodos cepillos de fibras de carbono con tallo de acero inoxidable. Las dimensiones se muestran en la Tabla 5.

El pretratamiento de los electrodos se basó en la técnica empleada por Feng y sus colaboradores en el 2010. Para iniciar, los electrodos se sumergieron en acetona durante una noche. Al día siguiente se enjuagaron con agua destilada y fueron sumergidos primero en una solución de 200 mg/L de peroxidisulfato de amonio y enseguida en una solución de ácido sulfúrico concentrado de 100 mL/L durante 15 minutos. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada y se secaron en una mufla a 450°C durante 30 minutos. Por último, se lavaron tres veces con agua destilada antes de su utilización.

Tabla 5. Dimensiones de electrodos

Parte del electrodo	Dimensiones
Largo total	12 cm
Largo del cepillo	9 cm
Diámetro del cepillo	5 cm
Diámetro de las cerdas	7.2 μm
Área superficial calculada	1.459 m ²

4.2.2.2 Membrana intercambiadora de protones

Como membrana intercambiadora de protones se utilizó una membrana marca Nafion TM N-117, Dupont Co. La membrana de 117.8 μm de espesor (ficha técnica en Anexo 2), se recortó a las medidas correspondientes del marco que tienen las celdas, dejando medio centímetro más de cada lado de lo que mide el marco donde va la membrana, para asegurar una fija y estable posición entre las cámaras de los reactores.

Una vez recortadas las membranas, se les dio un pretratamiento que se ha empleado ya en diversos estudios (Huarachi et al., 2018; Kim et al., 2007), el cual tiene como finalidad la activación de la membrana. El tratamiento consistió en hervir la membrana en peróxido de Hidrógeno (H_2O_2 al 30%) y posteriormente en agua a una temperatura máxima de 80°C . Después de enfriarse un poco se sumergen en ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.5M y nuevamente en agua desionizada (pH 7), cada uno por periodos de una hora. Después del pretratamiento se almacenaron completamente sumergidas en agua destilada y cubiertas, evitando el contacto con la luz hasta su utilización.

4.3 Inoculación del ánodo y cátodo

Los lodos que se emplearon como inóculo en la cámara anódica fueron extraídos del reactor anaerobio UASB de la PTAR de la empresa “Unipac” ubicada en Acapatzingo, Cuernavaca, Morelos, México. Los lodos utilizados como sustrato se obtuvieron de los sedimentadores secundarios del sistema de lodos activados de la Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) Cerro de la Estrella de la Ciudad de México. ambos lodos se mantuvieron almacenados a 4°C en espera de su utilización.

Para inocular el ánodo se emplearon 50mL de lodo granular anaerobio (previamente molido hasta formar una pasta) como inóculo (Figura 9). Este se mezcló con el lodo residual del sedimentador secundario empleado como sustrato y se ajustó a pH 6 antes de ingresar a la cámara anódica. Es importante mencionar que, desde la etapa de inoculación, se aplicó el pretratamiento del lodo secundario en los reactores que correspondían probar los pretratamientos con enzima como de ácido peracético.

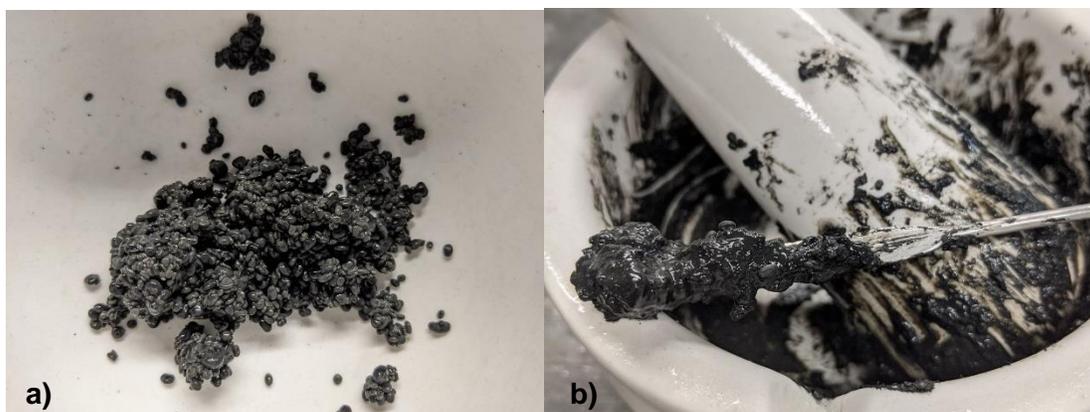


Figura 10. Lodo granular anaerobio para inóculo. A) antes y b) después de ser molido.

En un inicio se consideró comenzar un nuevo ciclo de operación (realizar el recambio o alimentación del reactor) una vez que cayera el voltaje a menos de 50 mV como mencionan algunos autores (Zhang *et al.*, 2019), sin embargo, las caídas de voltaje a las que llegaron los reactores no bajaron de 100mV aún después de 20 días de operación, por lo que se decidió fijar un tiempo máximo para cada ciclo de entre 15-20 días.

Tabla 6. Nutrientes de cámara catódica (Zhang G. *et al.*, 2012).

Nutriente		g/L
NH ₄ Cl	Cloruro de amonio	1.5
KCl	Cloruro de potasio	0.5
MgSO ₄	Sulfato de magnesio	0.5
K ₂ HPO ₄	Fosfato dipotásico	1.2
KH ₂ PO ₄	Fosfato monopotásico	0.14
Fe ₂ (SO ₄) ₃ *H ₂ O	Sulfato de hierro III hidratado	0.01
	Extracto de levadura	0.02

Para realizar la inoculación de la cámara catódica se utilizaron lodos activados de la planta de tratamiento de agua del IMTA. Se planeó inocular con una relación de 10% v/v de lodo respecto al sustrato (Milner *et al.*, 2016; Revelo *et al.*, 2019), sin embargo, como se tenía muy poca biomasa en el reactor de lodos activados por el bajo influente que estaba tratando la planta, se decidió inocular con una relación de 30% v/v de lodo con agua nutritiva y elementos traza. Se administró oxígeno disuelto a la cámara catódica por

medio de un compresor de aire y difusores de piedra porosa. Una vez iniciada la etapa de inoculación se dejaron los reactores a circuito abierto por una semana para que se llevara a cabo la aclimatación de las bacterias. En la Tabla 6 se muestran los constituyentes de la solución nutritiva.

Para la adición de los elementos traza, se empleó 1 mL de una solución con agua purificada con los componentes presentes en la Tabla 7.

Tabla 7. Elementos traza de cámara catódica (Jadhav y Ghangrekar, 2008).

Elemento traza		Concentración
FeSO ₄ 7H ₂ O	Sulfato de hierro heptahidratado	1 g/L
ZnCl ₂	Cloruro de Zinc	70mg/L
MnCl ₂ 4H ₂ O	Cloruro de Manganeso II tetrahidratado	100 mg/L
H ₃ CO ₃	Ácido Bórico	6 mg/L
CaCl ₂ 6H ₂ O	Cloruro de Calcio Hexahidratado	130 mg/L
CuCl ₂ 2 H ₂ O	Cloruro de Cobre bihidratado	2 mg/L
NiCl ₂ H ₂ O	Cloruro de Níquel Hexahidratado	24 mg/L
Na ₂ Mo ₄ 2H ₂ O	Molibdato Sódico Dihidratado	36 mg/L
CoCl ₂ 6H ₂ O	Cloruro de Cobalto II Hexahidratado	238 mg/L

4.4 Parámetros analíticos para caracterización química

Para dar seguimiento del comportamiento de las celdas de combustible, se caracterizó el influente y efluente de los reactores mediante la determinación de materia orgánica y medición de pH desde la etapa de aclimatación. Para ello se vaciaron las dos cámaras y se tomaron dos muestras de 50 mL por cada cámara para su estudio.

4.4.1 DQOt y DQOs

Para la determinación de concentración de materia orgánica se determinó la Demanda Química de Oxígeno Total (DQOt) y la DQO Soluble (DQOs) por el método de tubo sellado de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-AA-030/2-SCFI-2011. Con esta técnica

se puede determinar la cantidad de oxígeno necesario para oxidar completamente la materia orgánica presente en una muestra, por lo que es una forma de representar cuánta materia orgánica se encuentra en la muestra.

Para medir la DQOt del lodo, primero se tomaron 100mL de muestra de las CCM, se agregó H₂SO₄ hasta pH 2 para conservación de la muestra y se guardó a 4°C hasta su análisis. El día del análisis se atemperó el lodo, se homogenizó y se diluyó para tomar de ahí 2 mL los cuales se depositaron en los viales de DQO HACH de alto rango (concentraciones entre 150-1000 mgO₂/L) para digerir durante 2 horas a 150°C.

Para obtener la DQOs se centrifugó la muestra de lodo durante 15 minutos y se filtró el sobrenadante con una bomba de vacío en un filtro de nitrato de celulosa de 0.45 µm. Posteriormente se diluyó el filtrado dependiendo de la muestra. Finalmente se agregaron 2mL de la muestra diluida en los viales HACH de alto rango y se digirió la muestra al igual que con la DQOt.

Después de que terminó la digestión de dos horas, se dejaron enfriar los tubos y se leyó la muestra a una longitud de onda de 600 nm con un espectrofotómetro VIS DR 2800 marca Hach.

4.4.2 Ácidos Grasos Volátiles

Como se mencionó en el marco teórico, la presencia de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en el lodo residual empleado como sustrato anódico es de gran importancia al ser la fuente de alimento de microorganismos electrogénicos. Por ello, en las pruebas preliminares se realizó la medición e identificación de AGV del lodo crudo y con pretratamiento mediante el equipo de cromatografía de gases SRI 8610C. Para realizar el análisis se tomó 50 mL de muestra, se centrifugó por 15 minutos a 3500 rpm, se filtró el sobrenadante mediante un filtro de 0.45 µm y se guardó el filtrado en microtubos de 2 mL. Para preservar la muestra se agregaron 2 gotas de ácido clorhídrico al 50% y se mantuvo en refrigeración a 4°C. Asimismo, se procuró realizar la medición prontamente, sin exceder de 30 días para evitar la degradación de los AGV's.

4.4.3 Sólidos Suspendidos Totales y Sólidos Suspendidos Volátiles

Para conocer la remoción de materia orgánica durante el tratamiento del lodo residual en las celdas de combustible microbianas, se midieron los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015. Se utilizaron 2 mL de muestra en el caso del lodo residual y 15 mL de muestra en el caso del catolito.

4.5 Técnicas de caracterización electroquímica

Para estudiar el funcionamiento de las CCM se monitoreó el voltaje (V) generado en la celda en intervalos de un minuto empleando un sistema de adquisición de datos (ADC22, Pico Technology, Ltd.). Con la medición de voltaje se realizaron las curvas de polarización y potencia, con el fin de observar la resistencia interna (RI), así como la densidad de corriente (DC) y densidad de potencia (DP) de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$P = V * I \quad \text{Ec. 17}$$

$$DP = \frac{\text{Potencia}}{\text{Área de contacto del electrodo (m}^2\text{) o volumen de sustrato (m}^3\text{)}} \quad \text{Ec. 18}$$

En donde:

P es la potencia en W;

V es el voltaje en Volts;

I es la intensidad de corriente en Ampers (A);

DP es la densidad de potencia en W/m² o W/m³;

Para obtener la eficiencia coulombica (EC) en un sistema por lotes se siguió la siguiente ecuación:

$$EC = \frac{M \int I dt}{nFv\Delta DQO} * 100 \quad \text{Ec. 19}$$

En donde:

EC es la eficiencia coulombica en %;

M es la masa molar del O_2 en mg/mol (32,000 mg/mol);

I es la intensidad de corriente en A;

dt es el diferencial del tiempo en segundos;

n es el número de electrones requeridos para reducir el oxígeno en agua;

F es la constante de Faraday (96,500 C/mol);

v es el volumen del anolito en L;

ΔDQO es la concentración removida de DQO en mg/L.

4.5.1 Curvas de polarización

Se realizaron las curvas de polarización mediante la variación de la resistencia externa, de mayor a menor y viceversa en intervalos de 20 minutos, empleando resistencias de 46, 100, 216, 550, 2,170, 9,800, 21,890, 32,590 y 46,600 Ohms. Se midieron los voltajes cada 2 minutos y se tomó el promedio de las últimas dos mediciones. En la primera parte experimental, se realizaron las pruebas de polarización en el primer y tercer ciclo, una vez que se observó estable el voltaje.

4.5.2 Voltametría cíclica

Se caracterizaron los electrodos anódicos mediante voltametría cíclica e impedancia electroquímica empleando el programa Gamry Framework, utilizando el potencióstato Interface 1000 de Gamry Instruments. Para la voltametría cíclica se utilizó como electrodo de referencia el electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl), el electrodo de trabajo fue el ánodo y el contra electrodo el cátodo. Se realizaron las primeras pruebas de caracterización antes de la inoculación, utilizando velocidades de 20, 10, 5 y 1 mV/s, con una ventana de barrido de -0.8 a 0.8 V y área del electrodo de 1.459 m². Las segundas pruebas de voltamperometría se realizaron durante el tercer ciclo a velocidades de 5 y 1 mV/s, ya que se observaron gráficos más claros a velocidades más bajas, además de que son las velocidades que se recomiendan para caracterizar el intercambio de electrones en reactores biológicos (Harnish y Freguia, 2012). Para obtener las

intensidades y potenciales de pico se realizó la medición de manera manual empleando Excel.

4.5.3 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica

Las pruebas de impedancia se realizaron con el mismo equipo y programa que las voltametrías cíclicas. En esta técnica sólo se empleó el ánodo como electrodo de trabajo y cátodo como contra electrodo. Se utilizaron frecuencias de 100kHz a 1Hz, iniciando con voltaje a circuito abierto por 200s.

Para obtener la Resistencia Óhmica (R_s) y la Resistencia a la transferencia de carga (R_{tc}), se utilizó el programa Gramry Echem con el cual se ajustaron los datos del gráfico de Nyquist al modelo de Randles. Se eligió el modelo de Randles al ser un circuito que contiene una resistencia óhmica o de solución, resistencia de transferencia de carga, capacitancia de la doble capa y resistencia de transferencia de masa o a la difusión (Alvarado, 2005).

4.6 Técnicas de caracterización de biopelícula

Para medir cuantitativamente la biopelícula se empleó la técnica de medición de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015. Para obtener la biomasa, se realizó el desprendimiento de la biopelícula de los electrodos por medio de la aplicación de ondas sónicas. Para ello, cada electrodo de manera individual se colocó dentro de un vaso de precipitados con agua destilada y se sonicó por 20 minutos. Terminando el tiempo, se vació el agua con la biomasa desprendida en un contenedor y nuevamente se sonicó el electrodo en agua destilada limpia. Esto se repitió las veces necesarias hasta que ya no se observara biomasa desprendida en el agua destilada después de su sonicación.

Para el cálculo de SST y SSV, se midió el volumen final de agua destilada con biomasa desprendida de cada electrodo y se revolvió muy bien para tomar la muestra. Posteriormente, se filtraron las muestras en los crisoles por duplicado (2mL de muestra por crisol para ánodos y 4mL en el caso de los cátodos). Con el volumen total de agua

con biomasa de cada electrodo y el área del electrodo se obtiene la concentración de biomasa expresado en mg/m² con la siguiente fórmula:

$$Biomasa = SSV \frac{mg}{L} \cdot \frac{Volumen\ total\ (L)}{\text{Área de electrodo}\ (m^2)} = \frac{mg}{m^2} \quad Ec. 20$$

4.7 Diseño experimental

4.7.1 Pruebas preliminares

Como experimentos preliminares se probaron 7 dosis de cada pretratamiento sobre el lodo residual secundario a utilizarse como sustrato anódico (tabla 8). Como blanco/control del experimento, se colocó lodo residual secundario sin pretratar en un vaso de precipitados en agitación el tiempo que dura cada pretratamiento, esto para eliminar cualquier efecto que pueda causar la agitación en las variables de respuesta. Los cálculos de cada dosis se encuentran en el Anexo 1.

Tabla 8. Experimentos preliminares

Pretratamiento	Unidades	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
α -amilasa	mg de enzima/g ST	30	60	90	120	150	180	210
Ácido Peracético	mg APA / g ST	25	50	100	150	200	250	300

Para elegir las dos mejores dosis de cada pretratamiento, se tuvieron como variables de respuesta las siguientes: DQOs, DQOt, SST, SSV y AGVs.

4.7.2 Experimentos en CCM

Las dos dosis de cada tipo de pretratamiento, seleccionadas de los experimentos preliminares, se aplicaron en el lodo residual a emplearse como sustrato anódico en celdas de combustible microbianas de dos cámaras. En la tabla 9 se muestran los experimentos a realizar en el escalamiento, agregando además como blanco una celda

con lodo anódico sin pretratar. Los experimentos se realizaron por duplicado, teniendo un total de 10 experimentos.

Como variables de respuesta para poder evaluar el efecto del pretratamiento en el funcionamiento de la celda, se obtuvieron la eficiencia coulombica, densidad de potencia, densidad de corriente, remoción de DQOt, remoción de DQOs, remoción de SST y SSV, como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 9. Experimentos de escalamiento en CCM de dos cámaras

Variable	Tipo de variable	Niveles
Pretratamiento con α -amilasa	Cuantitativa	1
		2
Pretratamiento con Ácido Peracético	Cuantitativa	1
		2
Lodo sin pretratar (Control)	Cuantitativa	0

Tabla 10. Variables de respuesta de los experimentos en CCM

Variable	Tipo de variable	Unidades
Densidad de Potencia	Cuantitativa	W/cm ²
Densidad de Corriente		A/cm ²
Eficiencia Coulombica		%
Remoción DQO		%
Remoción SSV		%
Remoción de SST		%

5. Resultados y discusión

Como primera parte del estudio, se caracterizó el lodo residual del sedimentador secundario de la planta de tratamiento de agua “Cerro de la estrella”. Posteriormente, se realizó la concentración o dilución del lodo con el objetivo de tener un sustrato anódico con concentración inicial de 16,000 mg/L de ST. En la tabla 11 se muestran las características del lodo secundario a la concentración con la que se llevó a cabo el proyecto. En la tabla se presentan dos lodos residuales secundarios (Lodo “A” y Lodo “B”) ya que los primeros fueron obtenidos en octubre del 2020, con los cuales se realizaron las pruebas preliminares y la primera parte experimental en celdas de combustible microbianas; y los segundos fueron obtenidos en enero del 2021, con los cuales se realizó la segunda parte experimental en celdas de combustible.

Tabla 11. Características de lodo residual del sedimentador secundario

Parámetro	Lodo secundario “A”	Lodo secundario “B”	Unidades
Sólidos totales (ST)	16,350±500	16,250±500	mg/L
Sólidos Volátiles (SV)	11,500±500	11,000±500	mg/L
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	15,300±300	15,200±300	mg/L
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	11,250±500	10,300±500	mg/L
DQO total	19,635±300	18,290±300	mgO ₂ /L
DQO soluble	410±50	745±100	mgO ₂ /L
pH	6.8±0.2	7.1±0.1	
Conductividad	2.29±0.5	2.02±0.5	mS/cm ²

5.1 Pruebas preliminares

En los resultados de los experimentos preliminares se tuvo un incremento en la DQOs y en la relación entre DQOs/DQOt en el lodo pretratado conforme incrementó la dosis empleada de los dos pretratamientos, tanto con la enzima α -amilasa como con APA (figura 11). Dentro del rango de concentración de los reactivos probados se pudo encontrar un punto donde ya no se logró solubilizar más la DQO aunque se incrementara

la dosis. Esto sucedió para la enzima a partir de 180 mg de enzima/ g ST y a partir de 250 mg de APA/ g ST para el ácido peracético.

De igual manera, en la figura 11 se aprecia que la enzima logró alcanzar una mayor concentración de DQOs que el APA con las dosis empleadas. El mayor incremento de DQOs/DQOt alcanzado por el APA fue del 2% inicial al 15.6% mediante la dosis de 250 mg/ g ST; la enzima por su parte logró incrementar de 5% a 15.3% con la dosis de 180 mg/ gST. Los resultados de todos los experimentos preliminares se encuentran en el Anexo 3.

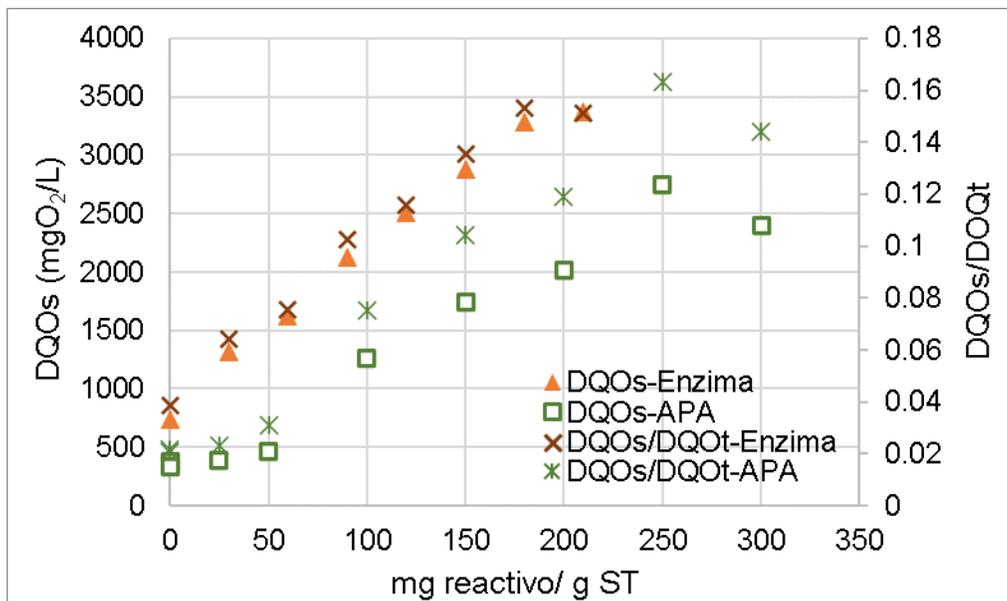


Figura 11. DQOs y DQOs/DQOt de lodo pretratado a diferentes dosis de enzima y APA.

Los resultados anteriores son comparables con investigaciones previas, como se muestran en la tabla 12. El pretratamiento enzimático de este trabajo tuvo mejores resultados que los pretratamientos enzimáticos de Yu y sus colaboradores (2013) y Yin y sus colaboradores (2016). En comparación con Yang y sus colaboradores (2010), el presente trabajo llegó a una menor relación de DQOs/DQOt, sin embargo, alcanzó una DQOs final superior a lo que ellos reportaron (2000 mgO₂/L).

Tabla 12. Resumen de estudios de pretratamientos de lodo residual con resultados de solubilización

Pretratamiento	Condiciones de experimento	Resultado obtenido	Referencias
Presente estudio Enzima α -amilasa	180 mg de enzima/g ST en agitación por 5 horas a temperatura ambiente (23-27°C).	Incremento en la relación de DQOs/DQOt de 4% a 15.3%. Incremento en DQOs de 4.03 veces la inicial.	Presente estudio
Ácido peracético	250mg APA/ g ST con agitación de 2 horas a temperatura ambiente (23-27°C).	Incremento de DQOs/DQOt del 2% al 15.6%. Incremento en DQOs de 7.3 veces la inicial.	
Tratamiento con enzima α -amilasa	180 mg de enzima/g ST en agitación a 40°C por 4 horas.	Incremento de DQOs/DQOt de 1.2% a 26.2%. DQOs final de 2000 mgO ₂ /L.	(Yang et al., 2010)
Tratamiento con enzimas amilasa + proteasa	15 mL de solución enzimática de cada enzima se agregó a 300 mL de lodo. Se agitó por 28 horas a 37°C.	Solubilización máxima de 11.07% de DQOs/DQOt. Incremento de 2.13 veces DQOs. DQOs final de 2500 mg O ₂ /L	(Yu et al. 2013)
Tratamiento con una pasta hongos rica en enzimas hidrolíticas	2g/L de pasta de hongos en agitación durante 24 horas a 60°C.	Incremento en DQOs de 1.4 veces en comparación con el blanco. DQOs final de 3,470 mg O ₂ /L	(Yin et al. 2016)
Tratamiento con ácido peracético al 15%	100 mg de APA/ g ST en agitación por 24 horas.	Incremento de DQOs 3.35 veces la inicial, llegando a 8,659 mgO ₂ /L.	(Apples et al. 2011)
Tratamiento con ácido peracético al 20%	30 mg de APA/ g SST en agitación por dos horas.	Incrementó de 109 a 800 mgO ₂ /L. 7.3 veces la DQOs inicial.	(Sun et al., 2018)

Ahora, el desempeño del pretratamiento con APA de esta investigación, fue inferior comparado con el presentado por Appels y sus colaboradores en el 2011, ya que, empleando 100 mg de APA/ g ST lograron llegar hasta 8,659 mgO₂/L de DQOs. De igual manera, comparando dosis similares al trabajo de Sun y sus colaboradores (2018), se tuvieron menores resultados de DQOs en esta investigación.

Una vez que se observó un incremento en la DQOs por medio del pretratamiento, se realizó una prueba para medir la DQO soluble que aportaba el reactivo por sí mismo, para comprobar que se estuviera observando la hidrólisis del lodo y no sólo la DQO propia del reactivo. Para ello, se realizó el mismo procedimiento de pretratamiento que con el lodo residual, pero en agua destilada y después del tiempo de agitación correspondiente se midió la DQOt. Se decidió medir la DQOt ya que se observó que la enzima se solubilizó rápidamente después de tener contacto con el agua.

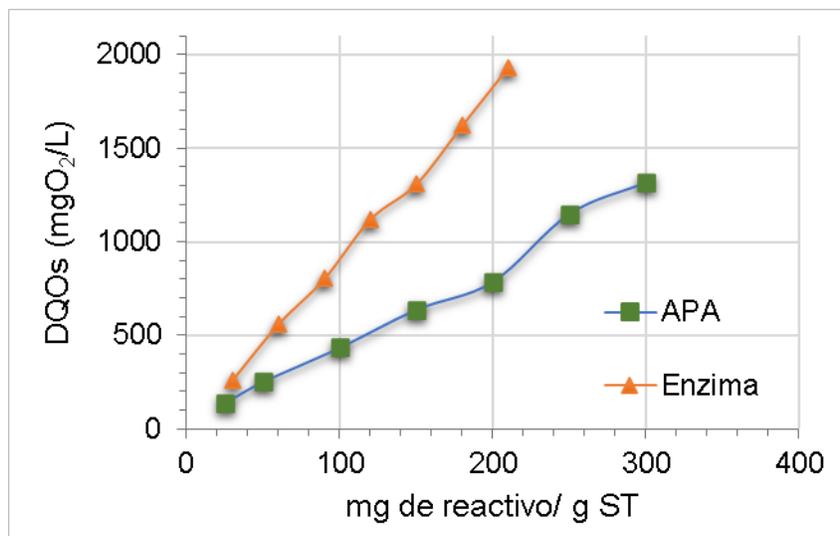


Figura 12. DQO soluble que aporta cada reactivo a determinadas dosis de enzima y ácido peracético.

En la figura 12 se muestra que tanto la enzima como el APA aportan gran cantidad de DQOs, en especial el APA al emplear dosis menores de reactivo en comparación con la enzima. Sin embargo, tomando en cuenta la DQO inicial del lodo y la aportada por el reactivo, si se observó una hidrólisis provocada por los pretratamientos.

En la siguiente figura 13, se presentan los SST y SSV del lodo pretratado. Los sólidos suspendidos del lodo pretratado con APA parecen no tener un cambio notable conforme

incrementa la dosis. Por otro lado, los SST y SSV en el pretratamiento con la enzima van incrementando conforme aumenta la dosis. A dosis altas de enzima, el lodo se presentó con aspecto gelatinoso, como si hubiera tenido un efecto coagulante, pero sin tener adherencia o contacto con las paredes del tubo donde se guardó la muestra. Este incremento en los SSV es contrario a lo deseado y a lo reportado en la literatura. Por ejemplo, Yang y sus colaboradores en el 2010 reportaron una reducción de SSV de más del 50% en 5 horas de pretratamiento con enzima amilasa a 50°C.

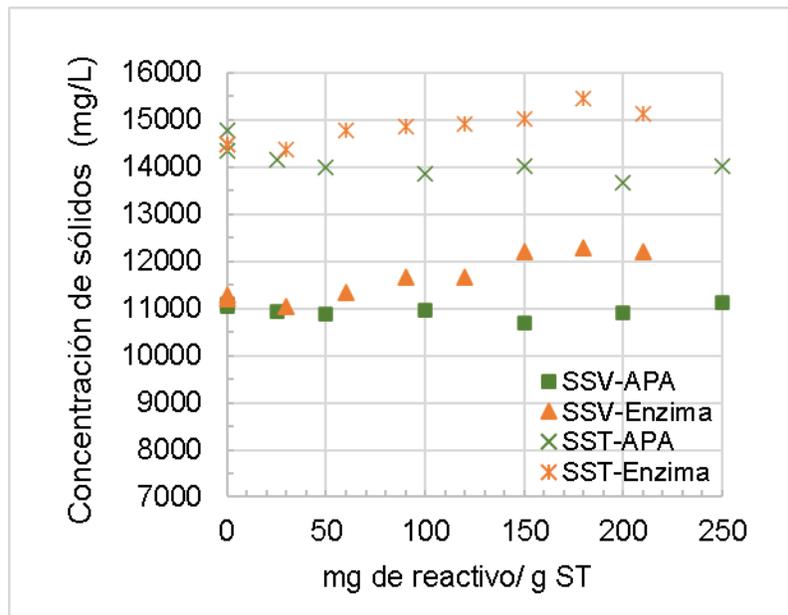


Figura 13. Sólidos suspendidos totales y volátiles del lodo pretratado a diferentes dosis con a) Enzima α amilasa, b) Ácido peracético.

Una observación que se tuvo durante los pretratamientos es que cuando se centrifugó la muestra para realizar la DQOs, se observó que el lodo sin pretratamiento sedimentaba muy fácil y se mantenía pegado al fondo del tubo falcon. A diferencia, los lodos pretratados, aunque también sedimentaron, se tuvieron más partículas suspendidas (figura 14) y fue más largo el tiempo que tomó filtrar la muestra. Lo que muestra que durante el pretratamiento si existió un rompimiento de flóculos, particulando un poco más el lodo, lo que dificultó su sedimentación y la filtración del sobrenadante.

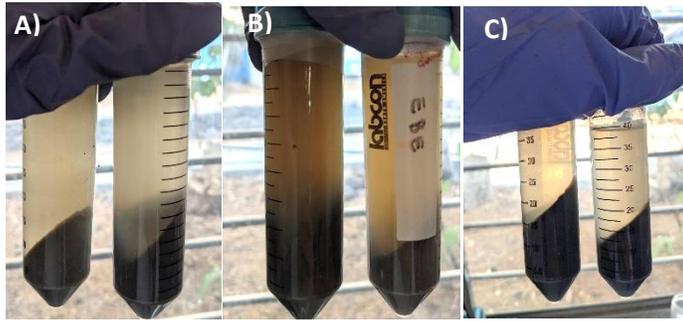


Figura 14. Lodo centrifugado. A) Sin pretratar, B) Con APA, C) Con Enzimas.

Como último análisis químico, se midieron las concentraciones de ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico por medio de cromatografía de gases. El equipo logró identificar en las muestras ácido acético y propiónico, las cuales se presentan en la figura 15.

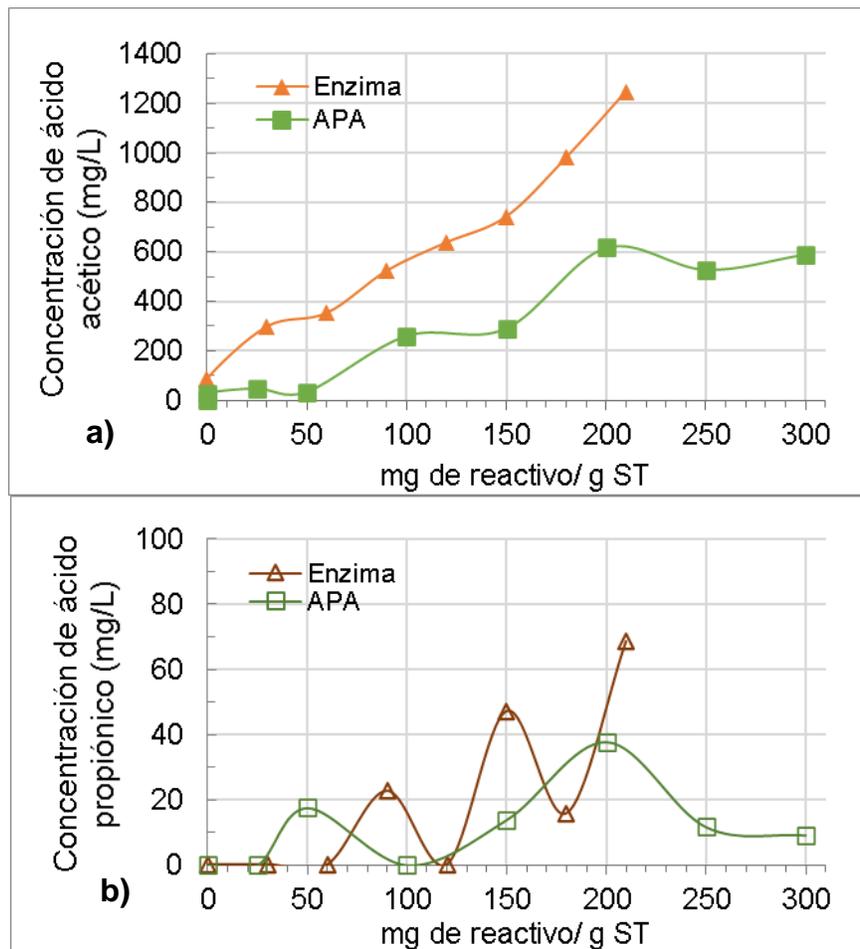


Figura 15. Ácidos Grasos Volátiles de lodo pretratado a diferentes dosis de enzima y ácido peracético (APA). a) Ácido acético, b) Ácido propiónico.

La producción de ácido acético tuvo un comportamiento similar a la DQO soluble obtenida del pretratamiento, ya que conforme aumentó la dosis del reactivo, se incrementó la concentración de ácido acético. La mayor concentración producida de ácido acético se obtuvo con la dosis más alta de la enzima.

El que solo se pudiera detectar ácido acético y ácido propiónico en la muestra de pretratamiento enzimático, concuerda con el estudio de Yu y sus colaboradores del 2013, al obtener una mayor cantidad de ácido acético y concentraciones bajas de propiónico a las 5 horas de pretratamiento con α -amilasa. En ese mismo estudio, se obtuvo una concentración total de AGV cercana a 421 mg/L, la cual es una tercera parte de lo que se logró producir en esta investigación.

El desempeño que tuvo el APA en producir AGV en estos experimentos también fue inferior a lo reportado por Appels (2011), ya que alcanzaron a producir 8,413 mg/L de AGV empleando 100 g APA/ kg ST.

Respecto a la producción de ácido propiónico no se observó un incremento proporcional a la dosis empleada de reactivo en ninguno de los casos. Esto puede deberse a que es muy baja la concentración de ácido propiónico y la variación se puede atribuir a error en la determinación y la curva de calibración. Sin embargo, coinciden las dosis de 210 mg de enzima/g ST y 200 mg de APA/ g ST en obtener la mayor producción de ácido acético y propiónico.

Por último, se comparó el costo que implica cada pretratamiento, como otro punto para poder realizar la elección de las dos concentraciones de cada reactivo, las cuales se aplicarían en las celdas de combustible microbianas. Se hace esto ya que, como se mencionó, el costo de operación dentro de una planta de tratamiento de agua es un tema crucial para su correcto funcionamiento y continuidad a largo plazo.

Los costos presentados en la tabla 13 son sólo los gastos del reactivo utilizado, sin tomar en cuenta los gastos de energía para realizar la agitación durante el pretratamiento.

Tabla 13. Costos de pretratamiento

Enzima α-amilasa		Ácido peracético	
Dosis (mg/ g ST)	Costo \$/Kg lodo tratado	Dosis (mg/ g ST)	Costo \$/Kg de lodo tratado
30	\$ 70.91	25	\$ 0.05
60	\$ 141.81	50	\$ 0.11
90	\$ 212.72	100	\$ 0.21
120	\$ 283.62	150	\$ 0.32
150	\$ 354.53	200	\$ 0.43
180	\$ 425.43	250	\$ 0.54
210	\$ 496.34	300	\$ 0.64

Como los costos de pretratamiento son muy diferentes entre los dos reactivos, se decidió elegir las dosis de APA que generaron una mayor relación de DQOs/DQOt, DQOs y AGVs. Posteriormente, con base a los resultados de esas dosis escogidas, se eligieron las dosis de enzima α -amilasa que tuvieran un rendimiento similar para poder realizar una comparación de su funcionamiento durante el escalamiento a celdas de combustible microbianas. De esta manera se eligieron las dosis presentadas en la siguiente tabla.

Tabla 14. Selección de dosis para aplicar en CCMs

Reactivo	Dosis	DQOs/DQOt (mgO ₂ /L)	DQOs (mgO ₂ /L)	Ácido acético (mg/L)
Ácido peracético	200 mg/g ST	10.7 %	2115.8	616
	250 mg/ g ST	15.6%	2642.3	528.36
Enzima a-amilasa	90 mg/ g ST	10.3%	2321.6	522.9
	120 mg/ g ST	11.9%	2603.55	637.3

Cabe mencionar que además del análisis realizado, se decidió no utilizar las tres dosis más altas de enzima para su aplicación en CCM por el elevado costo y por el incremento observado de SSV en los resultados preliminares.

5.2 Resultados de Celdas de Combustible Microbianas

Posterior a las pruebas preliminares, se instalaron los 10 reactores de celdas de combustible microbianas de dos cámaras cilíndricas. En la figura 16 se presenta el sistema experimental y en la figura 17 una vista en planta de la distribución de los reactores. Como se observa, de cada lado del sistema de adquisición de datos se colocaron 5 reactores con las 5 condiciones a probar, teniendo así cada condición con su duplicado. En la tabla 15, se especifican las condiciones que se probaron en cada reactor, así como la nomenclatura que se usará en la presentación de los resultados en los siguientes apartados.



Figura 16. Sistema experimental de dos cámaras cilíndricas.

Tabla 15. Condiciones probadas en reactores de CCM de dos cámaras.

	Reactores				
	R1 y R6	R2 y R7	R3 y R8	R4 y R9	R5 y R10
Condición/Dosis	Lodo sin pretratar	90 mg de enzima / g ST	120 mg de enzima/ g ST	200 mg de ácido peracético/g ST	250 mg de ácido peracético/g ST
Nomenclatura	Control	E-90	E-120	APA-200	APA-250

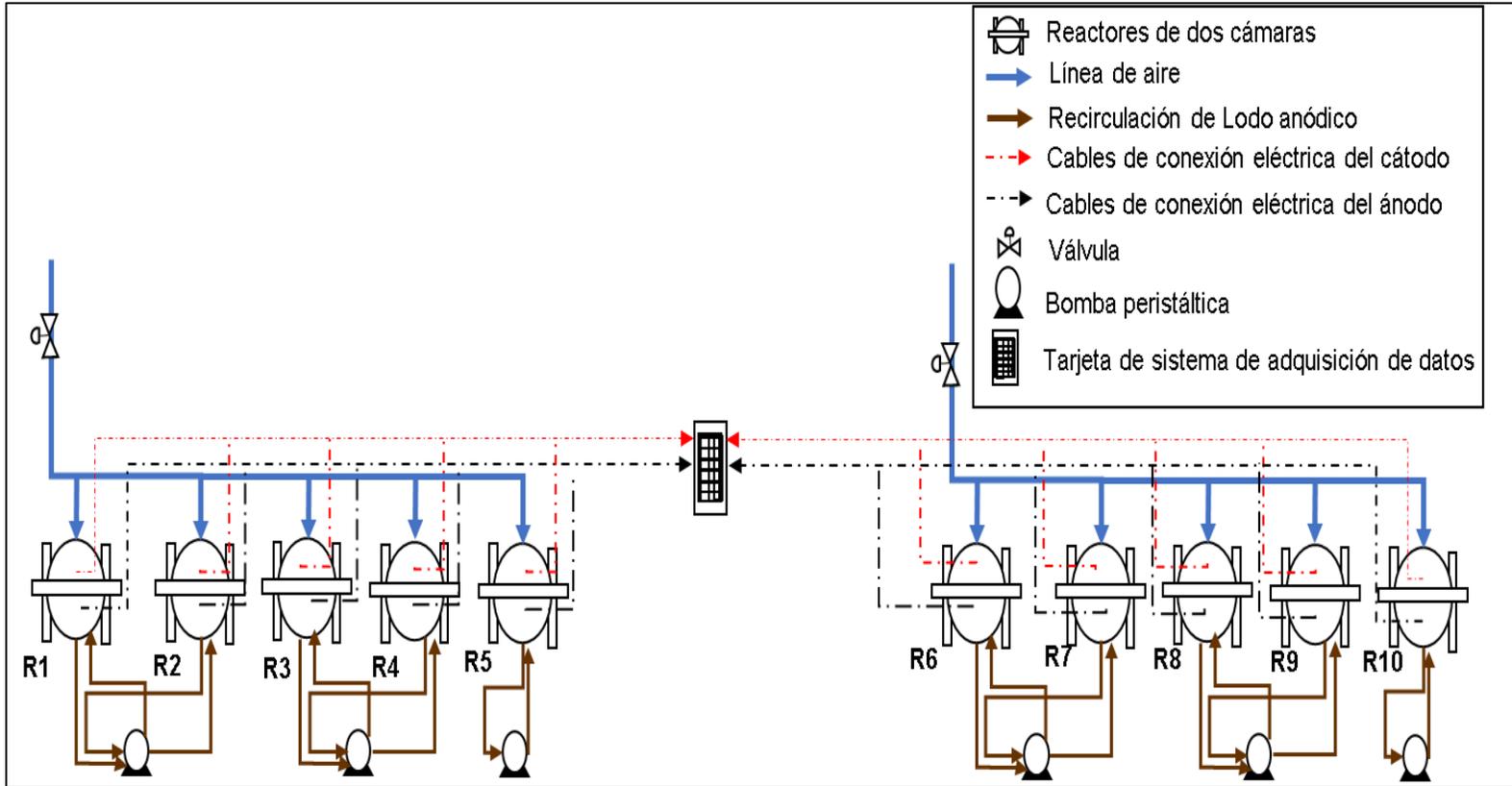


Figura 17. Vista de planta del sistema experimental de CCM de dos cámaras.

5.2.1 Resultados de producción de energía eléctrica

5.2.1.1 Primera fase experimental

Los experimentos de producción de energía con CCM se realizaron en dos fases, en la primera se empleó como sustrato el lodo residual secundario Lodo "A" con el que se realizaron las pruebas preliminares. En esta fase se tuvieron las siguientes etapas: aclimatación, ciclo 1, ciclo 2, ciclo 3 y ciclo 4. En la etapa de aclimatación se realizó la inoculación con lodos granulares anaerobios como inóculo y Lodo "A" como sustrato. Esta tuvo una duración de 8 días a circuito abierto (sin colocar la resistencia para cerrar el circuito), de acuerdo con la metodología de un trabajo anterior, realizado dentro del instituto el cual tuvo buenos resultados con los mismos reactores y en condiciones experimentales similares al reactor control.

En la segunda fase experimental de CCM, se realizó una repetición de la fase 1 con ánodos limpios desde la inoculación, aclimatación, ciclo 1 y ciclo 2 de la cámara anódica, únicamente para los reactores control y reactores con pretratamiento enzimático empleando el lodo residual secundario Lodo "B".

En el caso del ácido peracético se realizó un quinto ciclo durante la fase 1, y mientras se tuvo la fase dos de las otras condiciones, se tuvieron dos ciclos más de APA, sin realizar una nueva inoculación, ni aclimatación, por razones que se explicarán más adelante.

En las figuras 18-22, se presentan los voltajes generados durante las dos fases experimentales. La primera fase se puede identificar con los nombres de cada etapa de color gris en la parte superior de las figuras y la segunda fase tiene el nombre de las etapas de color rosa claro. En cada figura se muestra una condición experimental con su réplica. Las líneas punteadas marcan el inicio de un nuevo ciclo que conlleva el cambio del sustrato anódico y catódico, de los cuales se tomó muestra del influente y el efluente para su análisis. Por su parte, la línea punteada amarilla indica el momento en que se colocó la resistencia de 100 ohms para cerrar el circuito.

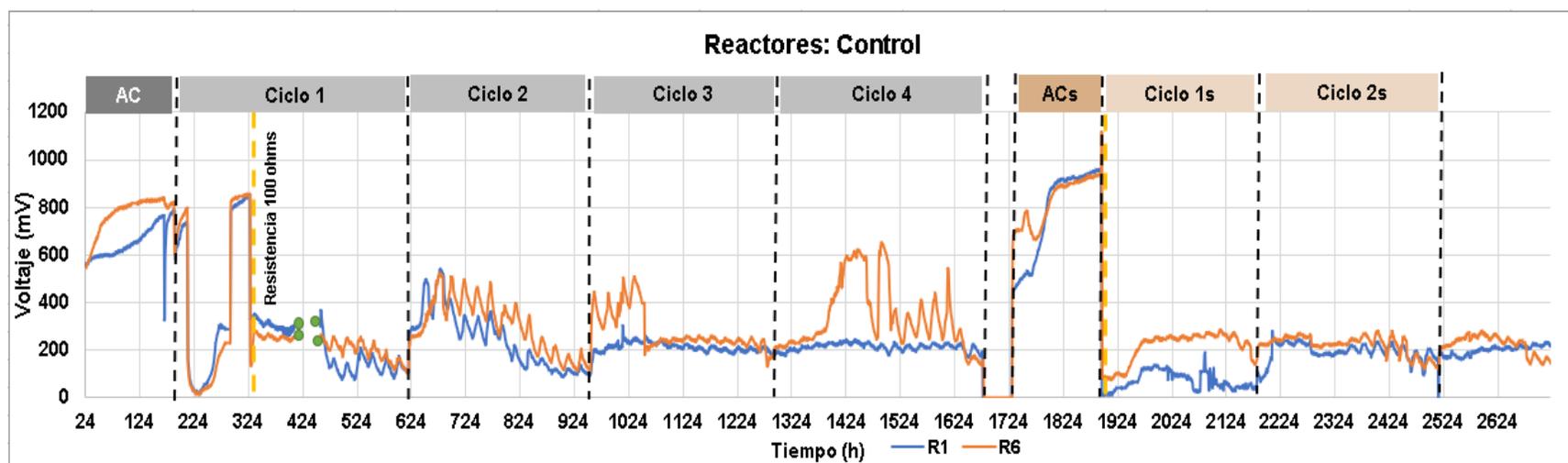


Figura 18. Voltaje generado por CCM con lodo anódico de control (sin pretratamiento).

Durante la etapa de aclimatación (AC) de la primera fase, se puede observar que todos los reactores alcanzaron un voltaje a circuito abierto cercano a 800 mV el cual fue superior al reportado en otros trabajos (Karthikeyan et al., 2016; Oh et al., 2014; Vicari et al., 2018). Al inicio del ciclo 1 se dejó a circuito abierto en los primeros días y alrededor de las 224 horas se realizaron las primeras curvas de polarización, por lo que se ve una caída de voltaje en las figuras. A las 324 horas se colocaron las resistencias de 100 ohms e inició la generación de corriente eléctrica. Durante el ciclo 1, hubo un corte de energía eléctrica dentro del instituto (como se muestra entre las 410-450 horas) y no fue posible registrar el voltaje durante esas horas. Sin embargo, se alcanza a observar que los reactores control obtuvieron como voltaje máximo en este ciclo 315 ± 50 mV, los reactores con pretratamiento enzimático 563 mV y 642 ± 9 mV de E-90 y E-120 respectivamente y por último se tuvieron 554 ± 4 mV y 583 ± 10 mV de APA-200 y APA-250.

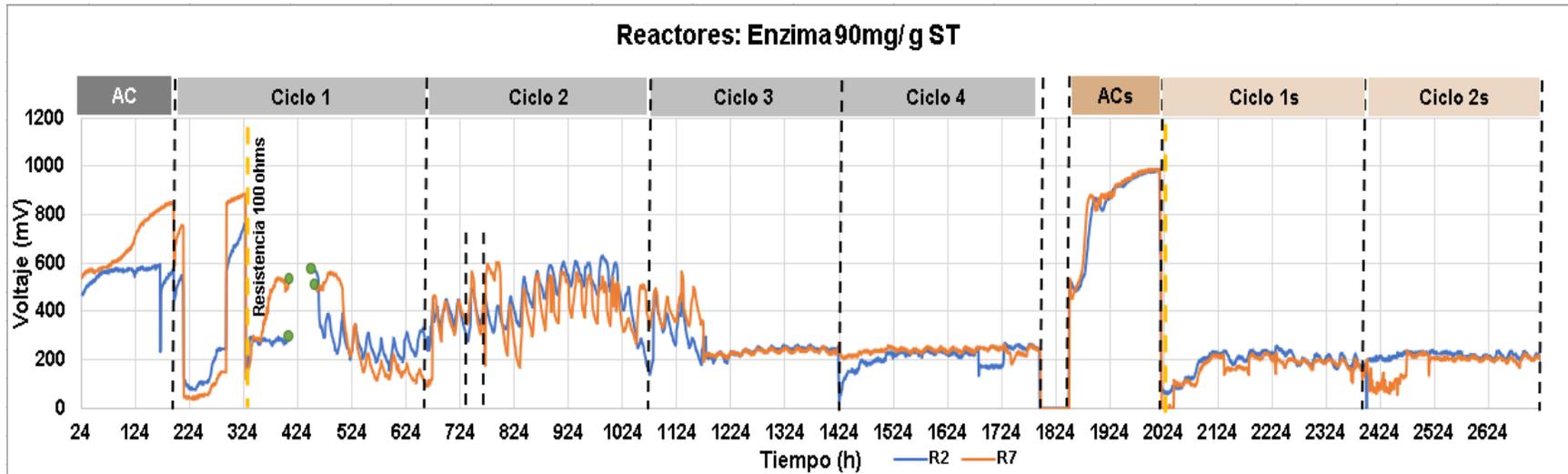


Figura 19. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con enzima 90mg/ g ST.

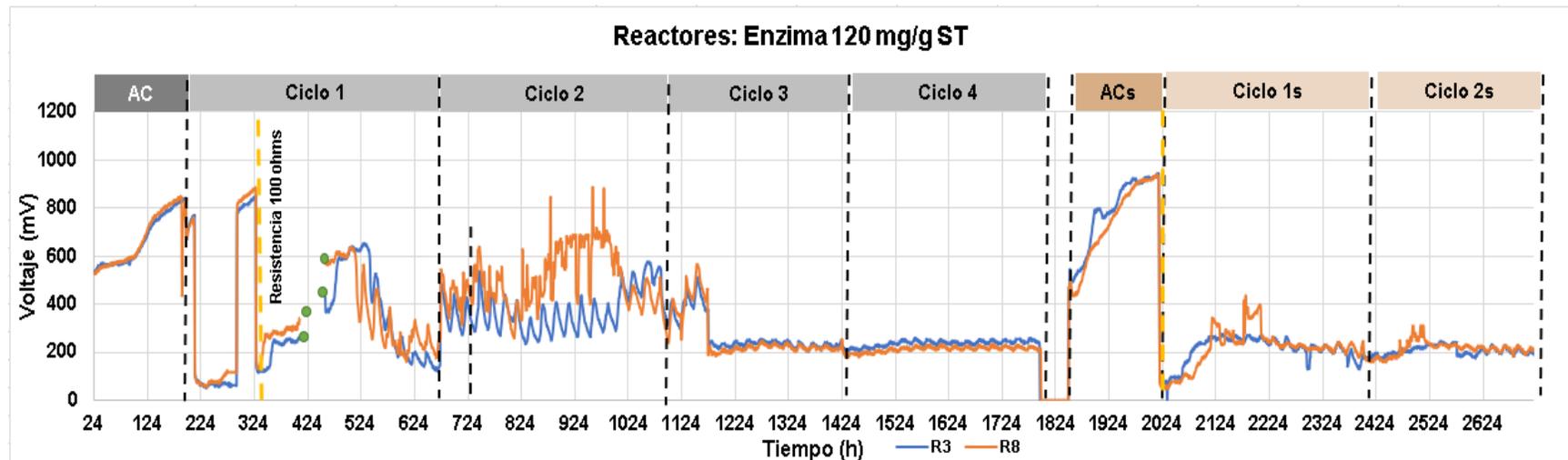


Figura 20. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con enzima 120 mg/ g ST.

Cuando se inició el ciclo 2, se observó de manera inmediata un incremento en el voltaje cuando se agregó lodo nuevo en todos los reactores, excepto en los pretratados con ácido peracético, en estos sólo el reactor R9 tuvo un ligero incremento y después se mantuvo a bajo voltaje.

En las figuras 19 y 20 en los voltajes de los reactores con pretratamiento enzimático se tienen unas líneas punteadas negras cerca de las 730 horas, ya que hubo un problema con los reactores y tuvieron que volver a llenarse con lodo pretratado, por esta razón, a partir de ahí se cuenta como el inicio del segundo ciclo para esos reactores. A lo largo del ciclo 2 se incrementaron los voltajes de los reactores control a 529 ± 10 mV, los enzimáticos se mantuvieron con E-90 de 614 ± 12 mV, E-120 de 641 ± 60 mV y el ácido peracético bajó a 291 ± 120 mV y 286 ± 60 mV de APA-200 y APA-250 respectivamente.

En el tercer ciclo se realizaron las voltamperometrías cíclicas al tercer día de su inicio. Estas tuvieron una duración aproximada de tres horas por reactor. Al finalizar las pruebas, bajaron abruptamente los voltajes y no volvieron a subir el resto del ciclo, como se muestra en los reactores control y con pretratamiento enzimático. Por este motivo, y por deficiencias que se observaron en la remoción de materia orgánica, se decidió poner más inóculo de lodos granulares en el sustrato anódico del ciclo 4, con la esperanza de recuperar los voltajes que se tenían antes de las voltamperometrías.

En el ciclo 4, como se observa en las figuras, sólo se recuperó el voltaje del reactor R6 (reactor control) aún después de haber agregado inóculo. Ahora, en un principio para las pruebas de pretratamiento de lodo residual en celdas de combustible microbianas se había planteado el tener una etapa de aclimatación y mínimo 4 ciclos. Pero al observar que no se recuperaron los reactores en el ciclo 4, se decidió volver a realizar la inoculación desde cero, es decir, realizar limpieza y tratamiento a los electrodos anódicos para la remoción de la biomasa y volver a inocular los reactores control y enzimáticos. Por su parte, como no se observó cambios en los reactores con pretratamiento con ácido peracético después de las voltametrías, se decidió hacer un quinto ciclo y no volver a inocular desde cero.

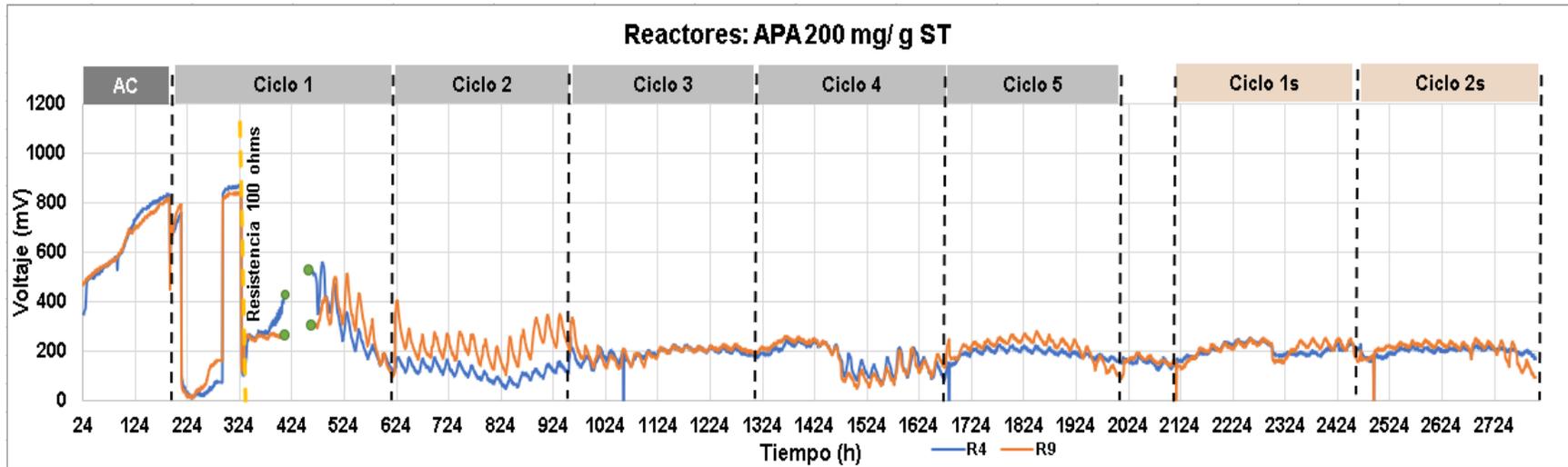


Figura 21. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con APA 200 mg/ g ST.

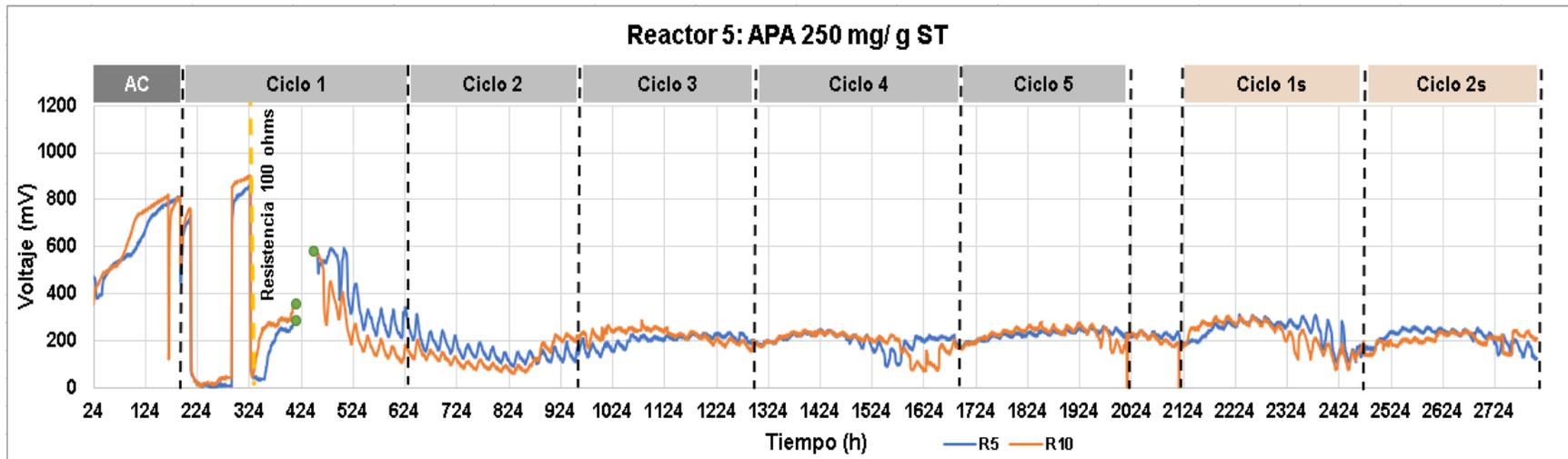


Figura 22. Voltaje generado por CCM con lodo anódico pretratado con APA 250 mg/ g ST.

La decisión de volver a inocular desde cero los ánodos de los reactores control y de pretratamiento enzimático se tomó pensando que tal vez las pruebas electroquímicas afectaron la biopelícula, ya que se ha reportado que es posible causar daños a los microorganismos a determinados valores de los parámetros de análisis, como el potencial aplicado y la velocidad de barrido en la VC o la amplitud en EIE (Marsili et al., 2008; Zhao et al., 2008). Esto explicaría porqué, aunque se agregó más inóculo en el cuarto ciclo, no se recuperó el voltaje. Se piensa que tal vez sufrieron daño los microorganismos cercanos al electrodo y esto provocó la disminución en su funcionamiento eléctrico. Esto se ha visto en electrodos con biopelículas gruesas en las que los microorganismos cercanos al electrodo se inactivan por falta de sustrato y aunque sigue creciendo biopelícula en las capas exteriores, decrece en su producción eléctrica (Behera et al., 2010; Greenman et al., 2021).

5.2.1.2 Segunda fase experimental

La segunda fase experimental en la cual se realizó una nueva inoculación y aclimatación de los reactores control y pretratamiento enzimático, utilizó como sustrato el “Lodo B” con las características presentadas en la tabla 11, ya que el “Lodo A” se había agotado. Así mismo, los lodos granulares anaerobios empleados como inóculo fueron recién adquiridos y se observaron más activos que los empleados en la fase 1 al presentar producción de gases, sin embargo, no se determinó la actividad metanogénica específica para comparar con claridad la actividad de los lodos anaerobios empleados. Cabe señalar que la cámara catódica no se inoculó desde cero, en ellas se conservó el electrodo con la biopelícula que ya se había formado de los ciclos anteriores.

En la segunda fase, no se replicó lo visto en los primeros tres ciclos de la primera fase respecto a la producción de corriente eléctrica. El voltaje máximo alcanzado tanto con los reactores control, como con pretratamiento enzimático, fue cercano a los 300 mV. Esto puede deberse a las características propias del “Lodo B” y lodos granulares anaerobios.

En cuanto a los reactores con pretratamiento de ácido peracético, como se mencionó, se realizaron dos ciclos más durante la segunda fase, sin realizar una nueva inoculación ni etapa de aclimatación. En el último ciclo (ciclo 2s de las figuras 21 y 22) se probó como

experimento extra una técnica acoplada de pretratamiento del lodo anódico de APA con sonicación. Esta prueba se pensó ya que, en la fase 1, no se tuvieron mejores resultados que el control en generación de voltaje empleando APA. Por su parte, en estudios sobre hidrólisis de lodo residual se ha mencionado una mejora cuando se combina la sonicación con APA. Por lo que se quiso hacer una prueba con el fin de tener una pequeña certeza sobre si es posible mejorar el funcionamiento de las CCM con lodo pretratado con APA y que, tal vez pueda considerarse esta técnica para proyectos posteriores.

Para observar el efecto de la técnica de sonicación con APA, se probó lodo pretratado únicamente con sonicación y lodo pretratado con sonicación más APA. El lodo solo con sonicación se empleó como sustrato anódico de los reactores que se habían alimentado los ciclos anteriores con APA-200 (R4 y R9). Al mismo tiempo, se probó lodo pretratado con ácido peracético más sonicación en los reactores de APA-250 (R5 y R10).

Para pretratar el lodo con sonicación (US), se puso lodo a sonicar por 30 minutos a 99 de potencia y después se agitó hora y media. Para el lodo con sonicación-ácido peracético (US-APA) se eligió la dosis APA-250, y se puso a sonicar 30 minutos inmediatamente después de agregar el reactivo, al término de este tiempo se agitó por hora y media. El tiempo de sonicación y la potencia empleada se eligieron de acuerdo con los resultados obtenidos de un trabajo de maestría realizado dentro del mismo instituto, en el cual se empleó el mismo equipo de sonicación para provocar la hidrólisis de lodo residual.

Como resultados de esta prueba extra, en el ciclo 2s de las figuras 21 y 22, se observa que no se tuvo una mejora en la producción de voltaje respecto a los ciclos anteriores y no se observan diferencias entre los reactores con sonicación (R4 y R9) y los reactores con sonicación-APA (R5 y R10).

5.2.1.3 Análisis de resultados de densidad de corriente y potencia

En la figura 23 y 24 se presentan las densidades de corriente y de potencia alcanzadas en los ciclos de cada fase. Los valores de la ordenada son el promedio de los duplicados de cada condición y la barra de error representan la desviación estándar. En las figuras

se colocaron en la parte superior las concentraciones de DQOs del lodo empleado, para diferenciar las dos fases experimentales. De igual manera, en el ciclo 2s se observan las últimas dos barras de color morado en el lugar donde se encuentran normalmente los reactores APA-200 y APA-250. La barra morado oscuro hace referencia al lodo con sonicación (US) y la morada claro es el lodo con APA-250 con sonicación (US-APA).

En la fase 1, los reactores con pretratamiento superaron al control en el ciclo 1. Pero conforme pasaron los ciclos, el control mejoró su desempeño y en el cuarto ciclo superó a todos los pretratamientos.

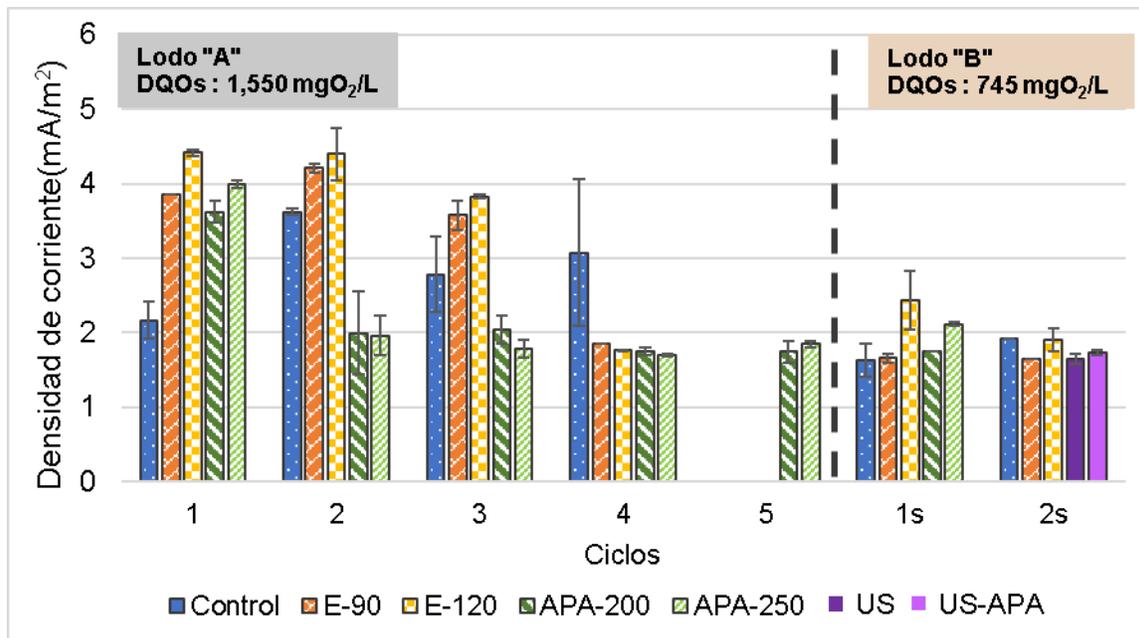


Figura 23. Densidad de corriente en CCM.

Para hacer el análisis de los resultados experimentales, se realizaron comparaciones estadísticas de medias por medio de la prueba T con una significancia de 0.05, los resultados estadísticos de cada experimento se encuentran en los Anexos 7 y 8. Con ello, se determinó si los pretratamientos empleados tenían un efecto significativo en nuestras variables de respuesta en comparación con los reactores de control. Se analizaron los resultados de los ciclos de la primera etapa ya que, en esta se obtuvieron un mayor número de datos bajo las mismas condiciones (lodo residual empleado, lodos granulares, condición inicial de membrana, etc).

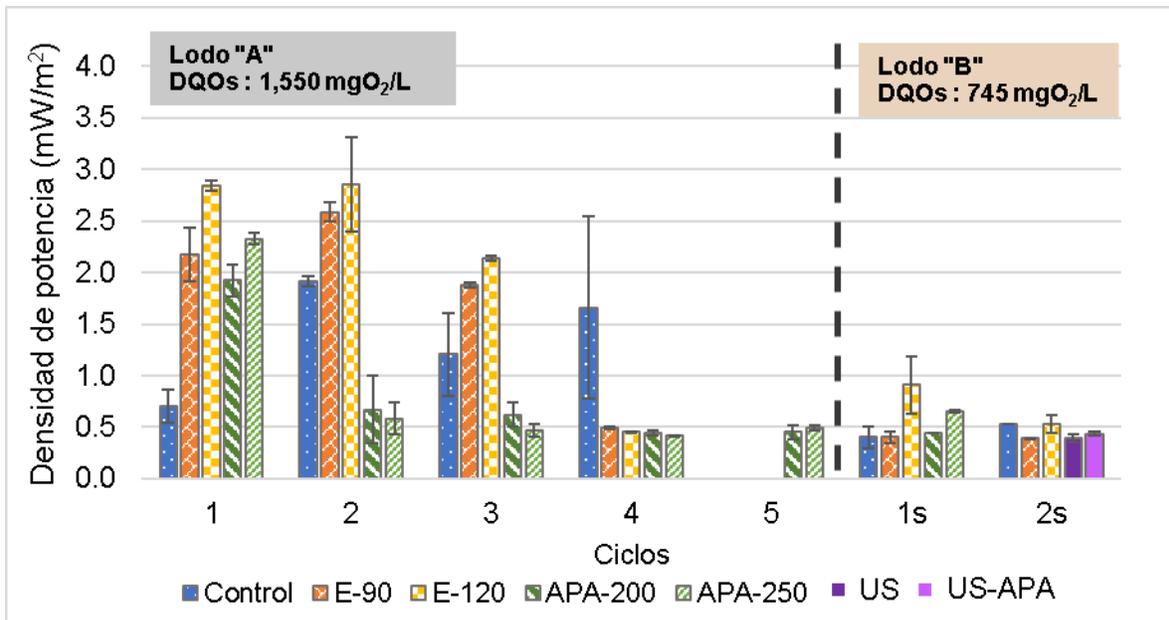


Figura 24. Densidad de potencia en CCM.

Comparando los resultados ciclo por ciclo, se observa una mejora significativa con el pretratamiento enzimático tomando los valores de los primeros tres ciclos (antes de la caída de voltaje), tanto en DC como en DP con valores de $p=0.03$ y 0.014 de E-90 y $p=0.01$ y 0.004 de E-120 respectivamente. Sin embargo, en el análisis general de los datos no se encontraron diferencias significativas entre el control y el pretratamiento enzimático a ninguna dosis y en ninguna de las variables de respuesta: densidad de corriente, densidad de potencia y eficiencia coulombica (ver Anexo 7a). Para el ácido peracético, el primer ciclo se tomó como datos atípicos ya que no se replicaron en otro ciclo esos resultados y en su lugar se tomaron los resultados del quinto ciclo. De esta manera, se observaron diferencias significativas entre el control y los reactores con APA con un valor $p=0.04$ del APA-200 tanto de DC como DP; y valor $p=0.3$ del APA-250 (ver Anexo 7a), mostrando el pretratamiento con APA un efecto negativo significativo en la DC y DP.

Un punto de observarse es que los reactores control, tuvieron una mayor desviación estándar, y en el caso del ciclo 4 es difícil comparar el valor promedio con las otras condiciones, ya que el R1 presentó 0.41 mW/m^2 y el R6 fue de 2.9 mW/m^2 .

En la fase 2, se tuvieron densidades de corriente menores que en la fase 1, que puede tener relación con la DQO soluble del Lodo "B", la posible presencia de más microorganismos metanogénicos y el que no se realizó inoculación nueva en el cátodo.

Los valores máximos promedio de densidad de corriente y densidad de potencia normalizados con el área del electrodo fueron de 2.91, 3.37, 3.6, 2.35 y 2.36 mA/m²; y 1.37, 1.78, 2.07, 0.92 y 0.95 mW/m² para los reactores de control, de E-90, E-120, APA-200 y APA-250, respectivamente. Ahora, los resultados promedios normalizados en el volumen de trabajo fueron de 6.15, 7.12, 7.6, 3.98 y 3.85 A/m³; y 2.89, 3.77, 4.38, 1.15, 1.04 W/m³ de los reactores control, E-90, E-120, APA-200 y APA-250 respectivamente. En la figura 25, se muestran la producción eléctrica promedio de los cuatro ciclos de CCM.

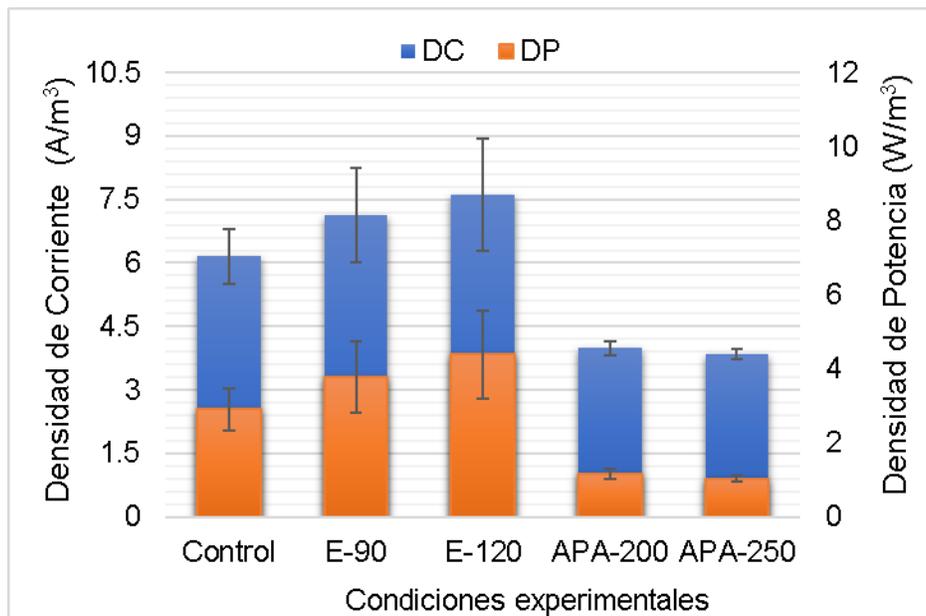


Figura 25. Producción eléctrica promedio obtenida en CCM.

La evaluación de estos resultados mediante su comparación con trabajos previos es compleja, ya que se tienen condiciones muy diferentes en cada investigación como lo son el tipo de electrodo, el área de electrodo, aceptor de electrones, volumen de trabajo etc. Cuando se compara la DP y DC normalizada en el área del electrodo, los resultados de este trabajo se encuentran por debajo de lo reportado como se puede ver en la tabla 16. Sin embargo, si se comparan los resultados normalizados por el volumen de trabajo, se tienen resultados similares y superiores a algunos estudios como es el caso del

pretratamiento térmico (Jayashree et al., 2014), el pretratamiento con hidrólisis y fermentación (Zhang Y et al., 2019) y el pretratamiento enzimático-fermentación (Xin et al., 2019). Con este último trabajo mencionado se observa mejor el cambio en los resultados dependiendo en qué unidades se normalice la producción de energía; cuando es en el área del electrodo obtienen 184 mW/m^2 (mucho mayor a esta investigación), pero si es en volumen de trabajo se tiene 5.12 W/m^3 (cercano a esta investigación).

5.2.2 Remoción de materia orgánica medida como DQO

En las figuras 26 y 27 se muestran las remociones de DQO total y soluble. En los gráficos, el ciclo marcado como "5/A" se refiere al 5to ciclo de los reactores de pretratamiento con ácido peracético que fue al mismo tiempo que la etapa de aclimatación de los reactores control y pretratamiento enzimático. Aunque la línea divisoria (línea negra punteada) se encuentra en el gráfico antes del ciclo 5, la fase 2 inicia con la aclimatación de los reactores. Aclarando que el ciclo 5 del APA todavía utilizó el lodo "A" y hasta el ciclo 1s se empleó el lodo "B" en caso del APA.

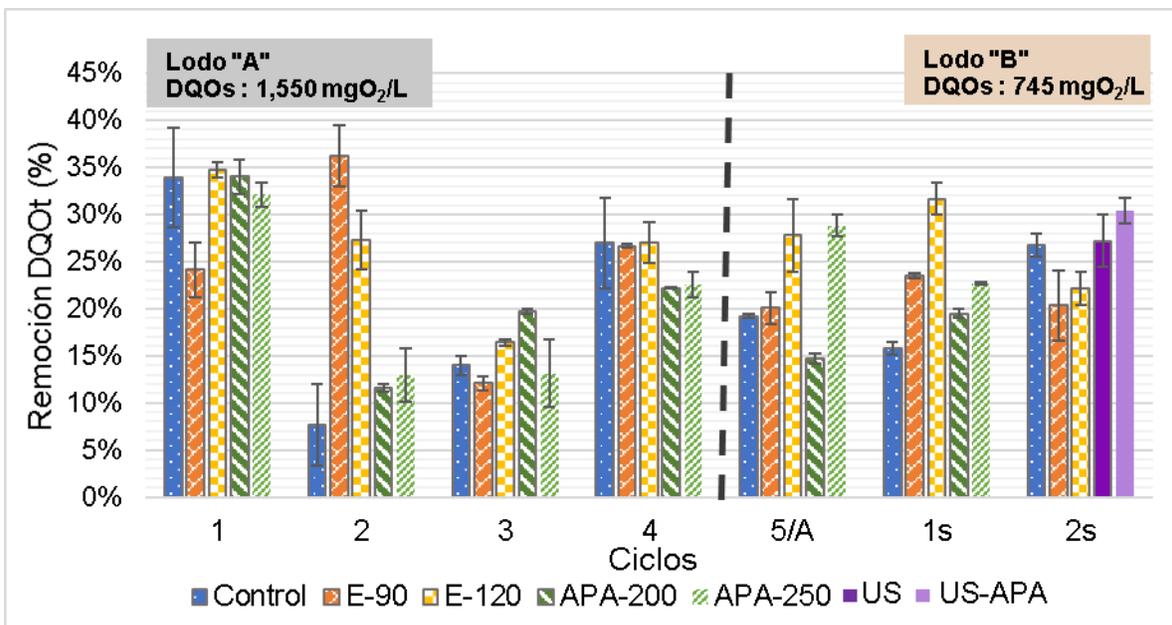


Figura 26. Remoción de DQOt en CCM.

La remoción de DQOt tuvo una disminución notable en el segundo ciclo para el control y pretratamiento con APA, y los reactores con pretratamiento enzimático lo tuvieron hasta

el ciclo 3. Posteriormente, en el ciclo 4 mejoró la remoción después de agregar un poco de inóculo. En promedio, la condición E-90 tuvo el mejor desempeño en la fase 1 y E-120 en la fase 2, pero no se tuvieron diferencias significativas entre el control y los pretratamientos empleados al tener en todas las condiciones un valor p mayor a 0.05 (ver Anexo 7b).

La máxima remoción de DQOt fue de 41.4% del control, 40.73% de E-90, 36.98% de E-120, 37.32% de APA-200 y 33.9% de APA-250. La remoción obtenida en comparación con 41.9%- 63% de trabajos presentes de la tabla 16 es un poco baja, que podría deberse a una baja formación de biopelícula en el electrodo.

El comportamiento de la DQOs fue un poco diferente ya que, en general se mantuvo más constante la remoción, en especial en los reactores con pretratamiento enzimático, los cuales presentaron las mayores remociones en las dos fases. Solo se observó una disminución con el tratamiento APA-250 en el ciclo 2 (figura 27). En este parámetro sí se tuvo un efecto positivo significativo en los reactores con pretratamientos enzimáticos sobre el control con $p = 0.002$ de E-90 y $p = 0.003$ de E-120. En el caso del APA, no hubo diferencias significativas con el control (ver Anexo 7b).

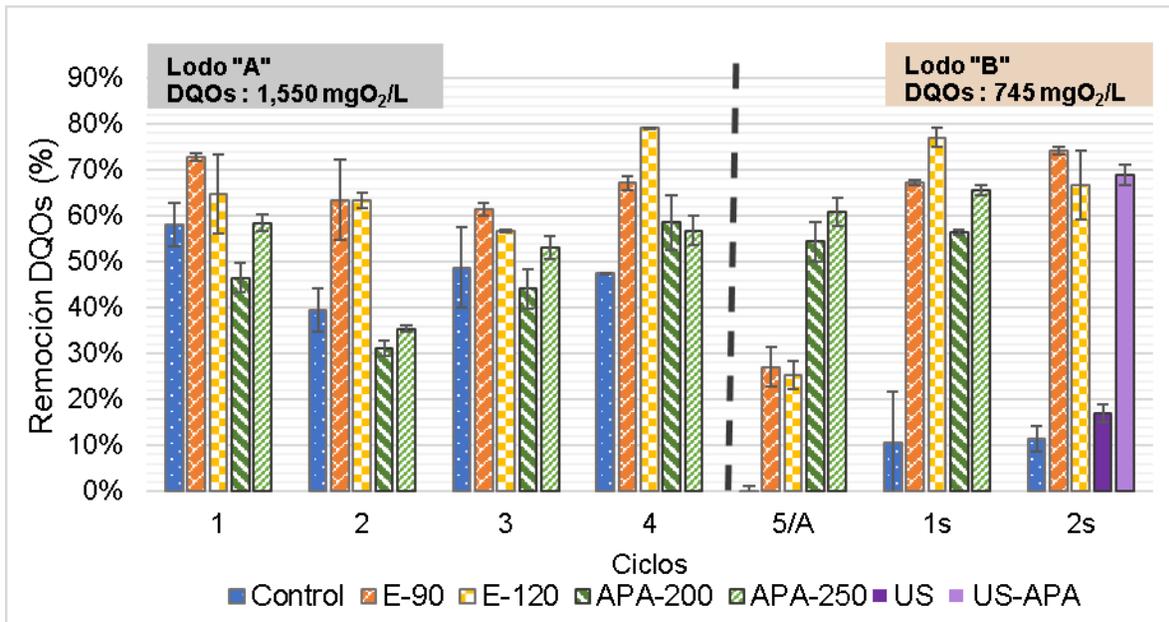


Figura 27. Remoción de DQOs en CCM.

En la figura 27 en etapa de aclimatación de la fase 2, no se observa una columna del control, ya que en estos reactores no se llega a ver una remoción de DQOs durante el corto periodo que dura la aclimatación. También se puede ver que al disminuir la DQOs del influente en la fase 2, disminuyó la remoción en los reactores control.

La remoción máxima de DQOs fue de 64.4% del control, 75.7% del E-90, 80% de E-120, 67.1% de APA-200 y 67.1% de APA-250. En CCM con otro tipo de pretratamientos se reportó remoción del 49-95% de DQOs, siendo más común la remoción entre 75-95%. Por lo que, las condiciones probadas en este trabajo vuelven a quedar un poco bajas a lo esperado. Solo las CCM con pretratamiento enzimático se encontraron dentro del rango reportado.

5.2.3 Eficiencia coulombica

Como se describió en la metodología y el marco teórico, la eficiencia coulombica (EC) relaciona la carga que se genera en la CCM con la carga teórica que podría generar el sustrato consumido. De esta manera, se observan más diferencias en el comportamiento de la EC entre cada condición de cada ciclo, al depender de la remoción de materia orgánica y de la producción de energía eléctrica.

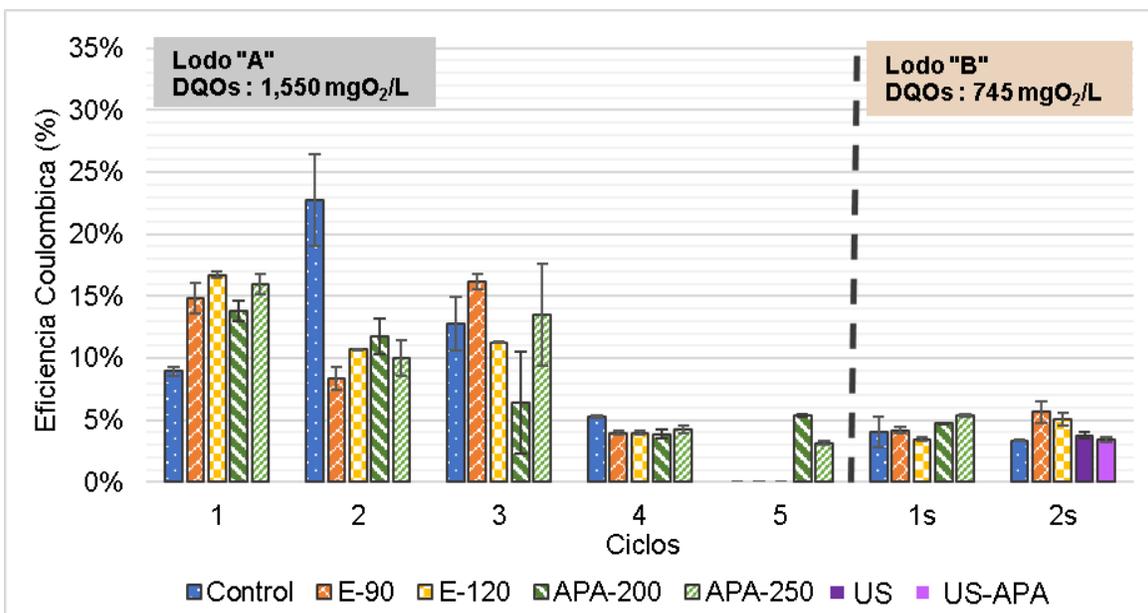


Figura 28. Eficiencia coulombica en CCM.

En la figura 28, se muestra que durante el primer ciclo se tuvo una mayor eficiencia coulombica en los reactores con pretratamiento, principalmente los de dosis altas como sucedió en la DC y DP. Durante el ciclo 2 se tuvo un incremento de manera singular en la EC de los reactores control debido a que la remoción de DQOt en ese ciclo fue muy baja. Ahora, en el ciclo 4, hubo una disminución en comparación con los otros ciclos, dado por la caída de voltaje y por el incremento en la remoción de DQOt que se dio al agregar más inóculo al inicio de ese ciclo. En el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas con el pretratamiento enzimático, pero si hubo un efecto negativo significativo en los reactores con APA (Anexo 3a).

La EC máxima promedio obtenida fue de 12.4%, 10.9%, 10.9%, 9% y 10.9% de los reactores control, E-90, E-120, APA-200 y APA-250 respectivamente. De manera global, la EC presentada en los experimentos fue superior a algunos estudios publicados (tabla 16) como los pretratamientos térmicos, térmico-alcálico, con ozono, microondas, etc. Pero posiblemente es debido a la baja remoción de DQOt que se tuvo en las celdas. En el Anexo 5 se presenta el resumen de los resultados de generación de energía eléctrica de las 10 CCM de dos cámaras cilíndricas.

Un punto que se puede observar en la tabla 16 respecto a la relación entre la remoción de materia orgánica y la producción de energía, es que en los trabajos donde se probaron dos tipos de pretratamiento bajo las mismas condiciones de operación como el de Yusoff y sus colaboradores en el 2013 y Oh y sus colaboradores en el 2014, lograron una mayor producción de energía con el pretratamiento donde se observó mayor remoción de DQO. Esto mismo se observó en este trabajo comparando el pretratamiento con enzimas y con APA, obteniendo una mayor producción de energía con el pretratamiento enzimático en donde se removió una mayor cantidad de materia orgánica. Con ello, se reafirma que, aun teniendo las mismas condiciones de operación y el mismo lodo residual inicial como sustrato, el pretratamiento influye en el desarrollo de la comunidad microbiana y el tipo de microorganismos que hay en ella, lo que afectará en el desempeño eléctrico de las celdas.

Tabla 16. Resumen de resultados de investigaciones sobre CCM.

Pretratamiento	Configuración CCM	Concentración inicial del lodo (g/L)	Electrodos	Aceptor de electrones	Producción de energía			Remoción de materia orgánica			Referencia
					DP	DC	EC	DQOS	DOQt	SSV	
					mW/m ²	mA/ m ²	%	%	%	%	
Enzimático	Dos cámaras	16±1 de ST	Ánodo y cátodo de cepillo de fibra de grafito	Oxígeno	2.07 4.38**	3.6 7.6*	17	80	40.7	36.2	Presente estudio
Ácido peracético	Dos cámaras	16±1 de ST	Ánodo y cátodo de cepillo de fibra de grafito	Oxígeno	0.95 1.15**	2.36 3.98*	15.5	67.1	37.3	33.2	Presente estudio
Enzimático-Fermentación	Una cámara	14.86±0.32 de ST	Ánodo de cepillo de carbón y cátodo de tela de carbón	Oxígeno	184 (5.12** calculado)	-	-	-	-	-	Xin et al., (2019)
Microondas	Dos cámaras	29-31 de ST	Ánodo y cátodo de tela de carbón	Oxígeno	42	0.35	6.3	85	55	-	Yusoff et al., (2013)
Ozono	Dos cámaras	29-31 de ST	Ánodo y cátodo de tela de carbón	Oxígeno	21	0.25	3.7	-	43	-	Yusoff et al., (2013)
Fermentación	Una cámara	16.5 de SST	Ánodo de cepillo de fibra de carbón y cátodo de tela de carbón.	Oxígeno	320	-	57	94	-	-	Yang et al., (2013)
Congelamiento	Dos cámaras	28.6–28.7 de ST	Ánodo y cátodo de cepillo de fibra de carbón	Ferricianuro de potasio	10.2**	-	-	-	66.2	-	Chen Y. et al., (2014)

Térmico	Tipo H	14 de ST	Ánodo y cátodo de hoja de grafito	Oxígeno	0.715**	-	9	-	54	50 ^a	Jayashree et al. (2014).
Hidrólisis y fermentación	Dos cámaras	19.98 de SST	Ánodo de tela de carbón y cátodo de placa de grafito	Ferricianuro de potasio	1.05**	1.78*	-	90	-	-	Zhang Y. et al., (2019)
Ultrasónico	Dos cámaras	6.44 SST	Ánodo y cátodo de varilla de grafito	Oxígeno	9.78	-	31.07	90	-	56.5	Oh et al., (2014)
Térmico/alcalino	Dos cámaras	6.44 SST	Ánodo y cátodo de varilla de grafito	Oxígeno	5.21	-	31.56	75	-	52	Oh et al., (2014)
Térmico/alcalino	Dos cámaras	12±0.3 de SST	Ánodo y cátodo de cepillo de carbón	Ferricianuro de potasio	1240	500	4.8	49	-	-	Geng et al., (2020)
Alcalino	Dos cámaras	12±0.3 de SST	Ánodo de cepillo de carbón y cátodo de fieltro de carbón	Ferricianuro de potasio	650	-	9.5	-	41.9	43.5	Geng et al., (2021)

Nota:

* Se encuentra en A/m³

** Se encuentran en W/m³

^a Se encuentra en SST

5.2.4 Influencia de la DQOs inicial en la producción de energía

Para analizar la influencia de la DQOs inicial sobre la generación de energía, se realizó el gráfico de la figura 29 con los resultados de la fase 1. Las concentraciones de DQOs son las concentraciones iniciales de cada ciclo y de cada una de las condiciones, las cuales se graficaron con su respectiva densidad de potencia máxima generada en ese ciclo. Las líneas sólidas y punteadas son líneas de tendencia que se agregaron sobre el comportamiento de las enzimas (líneas punteadas) y el APA (líneas sólidas) respecto al control en cada ciclo.

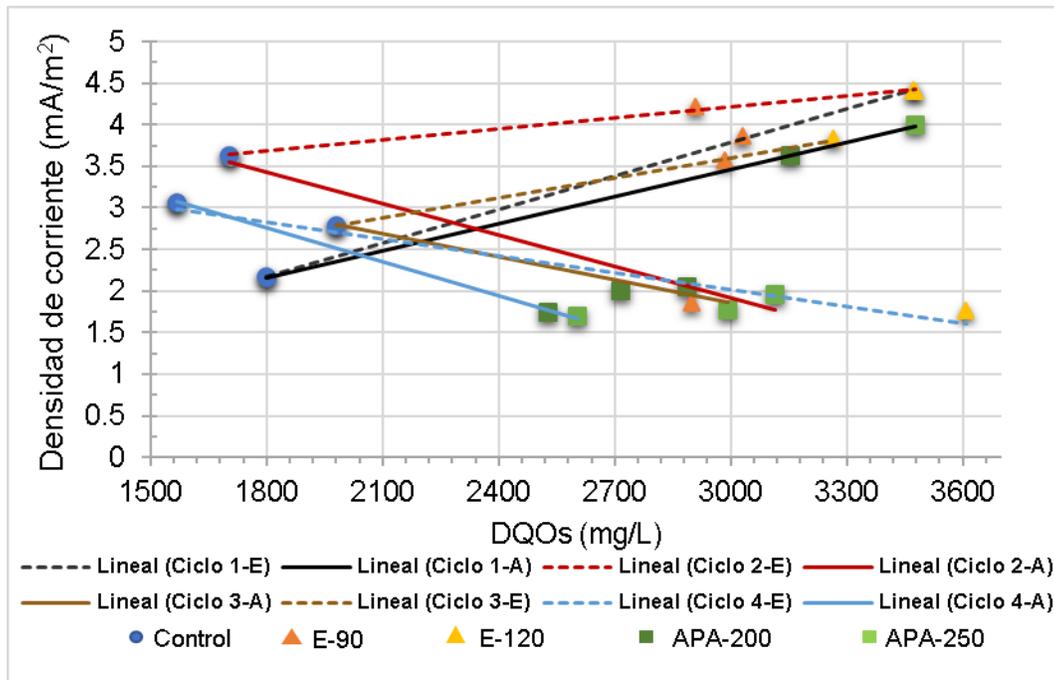


Figura 29. DQOs inicial vs. Densidad de corriente generada.

Solo en el ciclo 1 (líneas negras), se puede ver una relación proporcional del incremento de la DC respecto al incremento en la DQOs inicial tanto con APA como con enzimas. En este ciclo la DQOs crece de 1799 a 3500 mgO₂/L generando una DC de 2.2 a 4.4 mA/m². Sin embargo, en los siguientes ciclos ya no se observó esa proporcionalidad en los reactores con APA, como se ve en la figura.

En los ciclos 2 y 3 (figura 29), se observan caídas de DC las cuales son de los reactores con APA, pero en el caso de los reactores enzimáticos, se sigue viendo una proporcionalidad de DQOs con DC. Finalmente, en el ciclo 4 ya parece no tener ninguna relación la DQOs con la generación de energía.

Con la figura 29 se puede apreciar de mejor manera el cambio en el desempeño eléctrico de los reactores enzimáticos después del ciclo 3. Así como la diferencia en el comportamiento eléctrico entre los reactores con APA y con enzimas, aun cuando se tiene DQOs iniciales similares.

El buen desempeño eléctrico realizado por los reactores control durante la fase 1, se asocia con la DQOs del influente, ya que como se mencionó, el lodo residual crudo con el paso del tiempo sufrió hidrólisis pasando de 375.24 mg O₂/L al inicio de las pruebas preliminares a 1,550 mgO₂/L al inicio de los experimentos con CCM. Lo cual se piensa que impulsó el crecimiento de microorganismos electrogénicos en los reactores control.

Por otro lado, se considera que el efecto negativo del ácido peracético en la producción de energía se relaciona con la presencia de compuestos inhibidores de bacterias electrogénicas causados durante el pretratamiento. Con el ácido peracético a diferencia de la enzima, se tiene un mecanismo de hidrólisis mediante la oxidación de compuestos por medio de diferentes mecanismos de reacción. Por lo que se pueden esperar productos muy diversos a diferencia de la hidrólisis enzimática que rompe enlaces específicos entre polisacáridos.

Se ha observado un comportamiento similar en trabajos previos en donde a dosis más altas de pretratamiento ocurren efectos negativos en el desempeño. Esto se ha atribuido a la formación de subproductos de oxidación desfavorables y a la reducción de nutrientes necesarios para las bacterias (Laguerre et al., 2011; Yusoff et al., 2013).

De igual manera, en el trabajo de Appels y sus colaboradores (2011) se mencionó una inhibición de los microorganismos metanogénicos al utilizar concentraciones elevadas de ácido peracético durante el tratamiento previo a una digestión anaerobia. Esto lo relacionaron con el incremento excesivo de AGV's y disminución del pH, lo cual podría perjudicar a la comunidad metanogénica, sin embargo, no lo estudiaron a fondo. En el caso de esta investigación, se observó también una inhibición de los microorganismos

electrogénicos, pero esta no podría deberse a un decremento en el pH, ya que, después de realizar el pretratamiento se ajustó el lodo a pH 6 antes de ingresar en los reactores, además de que se volvió a medir el pH en el efluente y fue superior a 6.

Se planteó entonces primero una posible inhibición por aldehídos ya que se reportaron como un subproducto de oxidación del APA, sin embargo, en las dosis empleadas no se lograría formar una concentración suficiente 0.5-1 mg/L para producir una inhibición (Dell'Erba et al., 2007). Posteriormente se propuso una inhibición por sodio, ya que se agregó NaOH para incrementar el pH después del pretratamiento, pero la concentración agregada aproximada fue de 0.75g/L de NaOH y se ha reportado que microorganismos desde hidrolíticos hasta metanogénicos pueden vivir de manera normal en concentraciones de sodio de 2.46–24.08 g/L (Zhang *et al.*, 2017). Como última hipótesis se piensa la producción de algún otro subproducto que este inhibiendo a los microorganismos electrogénico.

5.2.5 Resultados de remoción de SST y SSV

En las figuras 30 y 31 se muestran los comportamientos de las variables de respuesta remoción de SST y remoción de SSV, las cuales tuvieron bajas remociones en las dos fases experimentales. Los reactores con pretratamiento enzimático tuvieron mejores remociones en promedio tanto para SST como SSV. Sin embargo, no se tuvieron diferencias significativas con el control (Anexo 7b). En la fase 1, la remoción máxima de SST fue de 30%, 34%, 29%, 35% y 28% de los reactores control, E-90, E-120, APA-200 y APA-250 respectivamente.

La remoción máxima de SSV en los ciclos de la fase 1 fue de 30.2%, 36.2%, 31.6%, 33.2% y 28.3% de los reactores control, E-90, E-120, APA-200 y APA-250 respectivamente. Estos resultados son bajos en comparación con los reportados que se encuentran entre 30-60% de remoción de SSV (tabla 16).

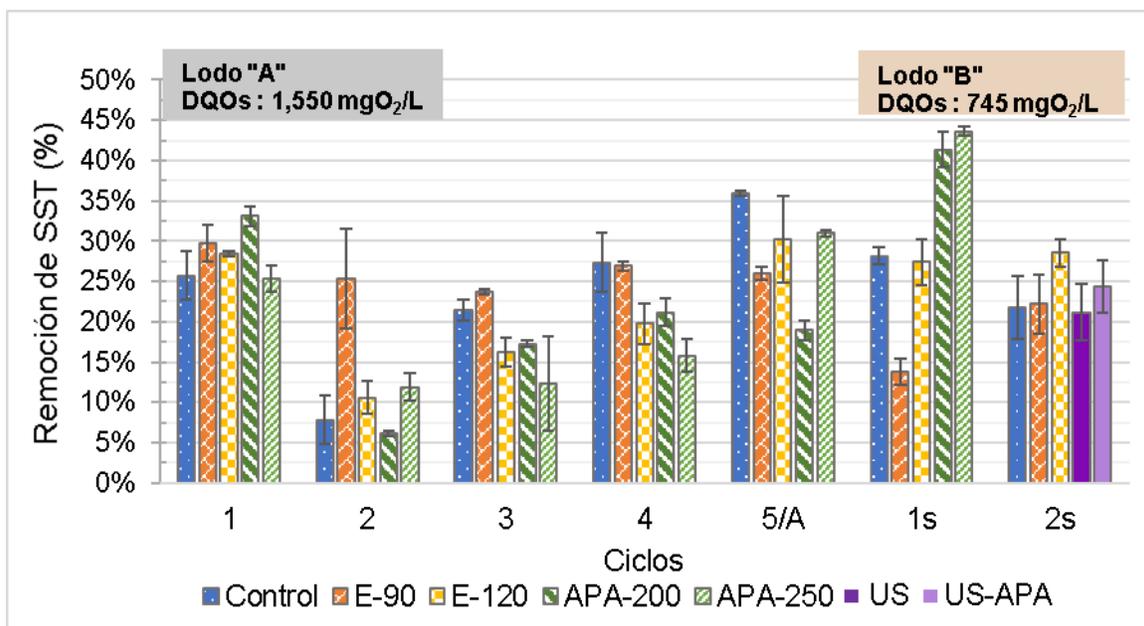


Figura 30. Remoción de SST en CCM.

Los reactores con APA, tampoco mostraron diferencias significativas tanto con SST con $p=0.82$ de APA-200 y $p=0.33$ de APA-250; como con SSV siendo $p=0.95$ de APA-200 y $p=0.42$ de APA-250 (Anexo 7b). Pero puede observarse una mejora constante a partir del ciclo 3 hasta el ciclo 1s.

De manera general, los resultados de remoción de materia orgánica tuvieron un bajo desempeño en comparación con los presentados en literatura sobre celdas de combustible microbianas con pretratamiento de lodo residual. La implementación de pretratamientos en el lodo anódico con ácido peracético y enzima α -amilasa no tuvo efectos significativos en la remoción de materia orgánica en los parámetros de SST, SSV y DQOt. Sólo se logró una mejora significativa en la remoción de DQOs en los reactores pretratados con E-90 y E-120.

En la prueba extra realizada con sonicación y sonicación con APA, tampoco se mostraron diferencias significativas en ninguna de las variables de respuesta (Anexo 8).

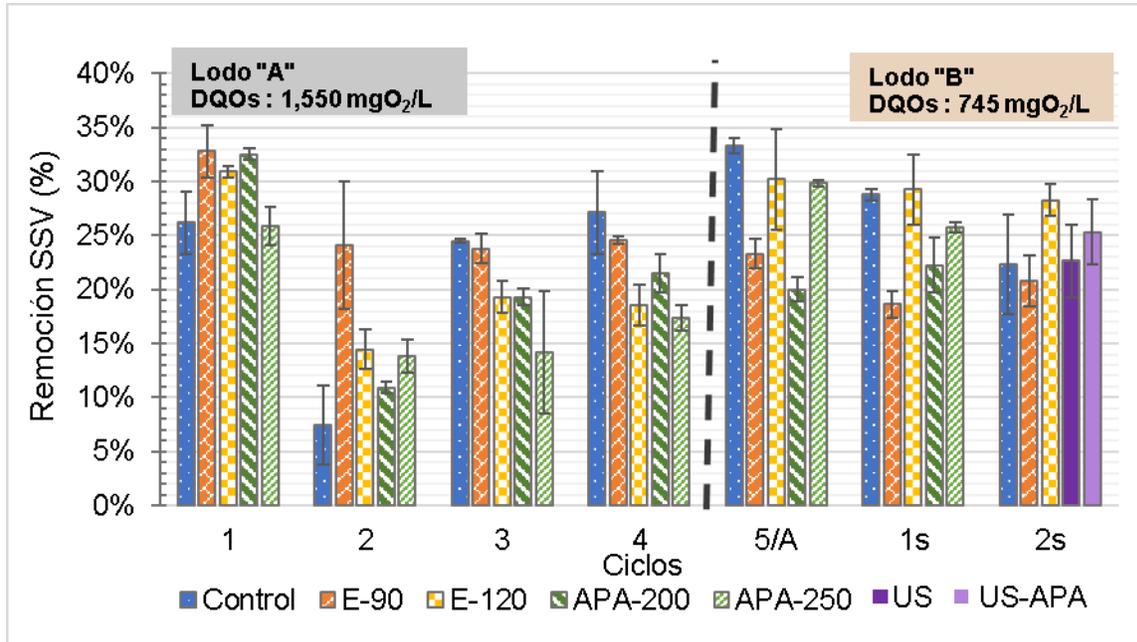


Figura 31. Remoción de SSV en CCM.

Se piensa que la caída durante el segundo ciclo de la primera fase es porque no se formó una biopelícula de microorganismos anaerobios fuerte, y cuando sucedió el inicio del nuevo ciclo (durante el vaciado de los reactores) se removió parte de los microorganismos anaerobios encargados de la digestión del lodo. Logan y sus colaboradores en el 2008 mencionan que se pueden remover fácilmente los mediadores de electrones si éstos no se encuentran fijos en la biopelícula cuando se realiza cambio de sustrato y que, aunque se vuelvan a añadir al sustrato en el siguiente ciclo, no se recupera fácilmente el reactor.

Se propone que tal vez los reactores con pretratamiento enzimático ayudaron a la formación de una mejor biopelícula y que, por ello, no decayó tanto la remoción de DQOt y DQOs en el segundo ciclo en los E-90 y E-120. Por otro lado, al observarse una mejor remoción de DQOs que de DQOt y SSV, se podría pensar que se tuvieron más microorganismos fermentativos que hidrolíticos.

5.2.6 Análisis de la remoción de DQO en la cámara catódica

A continuación, se muestran la remoción de DQOt que se tuvo en la cámara catódica como un apoyo en el análisis del comportamiento de las celdas de combustible.

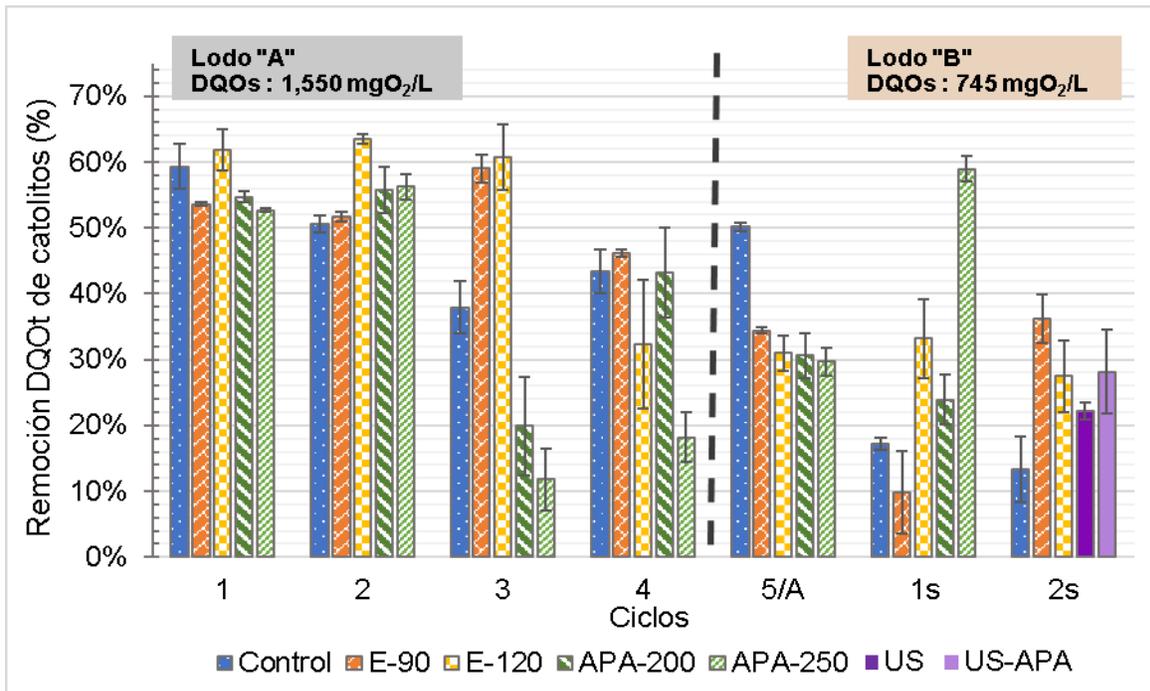


Figura 32. Remoción de DQOt en cámara catódica.

En la figura 32, se observa que se tuvieron remociones de DQOt en la cámara catódica entre 20-70%. Con una mayor remoción en los primeros ciclos. A diferencia de la cámara anódica, se agregó un poco de inóculo en cada nueva alimentación desde el ciclo 1. Con ello, se esperaba que se incremente y establezca la biopelícula y se observe un incremento en la remoción de DQOt, sin embargo, no ocurrió así. Para la fase 2, se utilizó lodo activado recién traído nuevamente de la planta de tratamiento y, aun así, no se tuvo una remoción similar a las de los primeros dos ciclos. Por lo anterior, se sugiere que pudo haber una inhibición en los microorganismos catódicos al haber una disminución del pH del catolito de 7 (inicio del ciclo) hasta 3-5.5 (final del ciclo). Además de que tal vez el lodo de la planta se encontraba envejecido, y no se realizó una prueba de respirometría para evaluar la actividad de los microorganismos de los lodos activados.

5.2.7 Seguimiento de pH en cámaras anódica y catódica

El pH de los efluentes tuvo cambios durante las dos fases experimentales (figura 33 y 34). En los efluentes de la cámara anódica, parecen uniformes en los primeros dos ciclos, pero a partir del ciclo 3, se observan las diferencias entre las condiciones. Los reactores con pretratamiento enzimático mantienen su efluente alrededor de pH 7 a partir del del ciclo 3. Los reactores control toda su primera fase tienen pH cercano a 6, pero justo después del cambio de lodo residual en la segunda fase, el pH sube entre 6.5 y 7.5. Por su parte, los reactores con APA se mantuvieron todo el tiempo entre 6 y 6.5 y en la segunda fase llegaron a tener pH menor a 6. Teniendo diferencias significativas entre los dos tipos de pretratamiento y los controles.

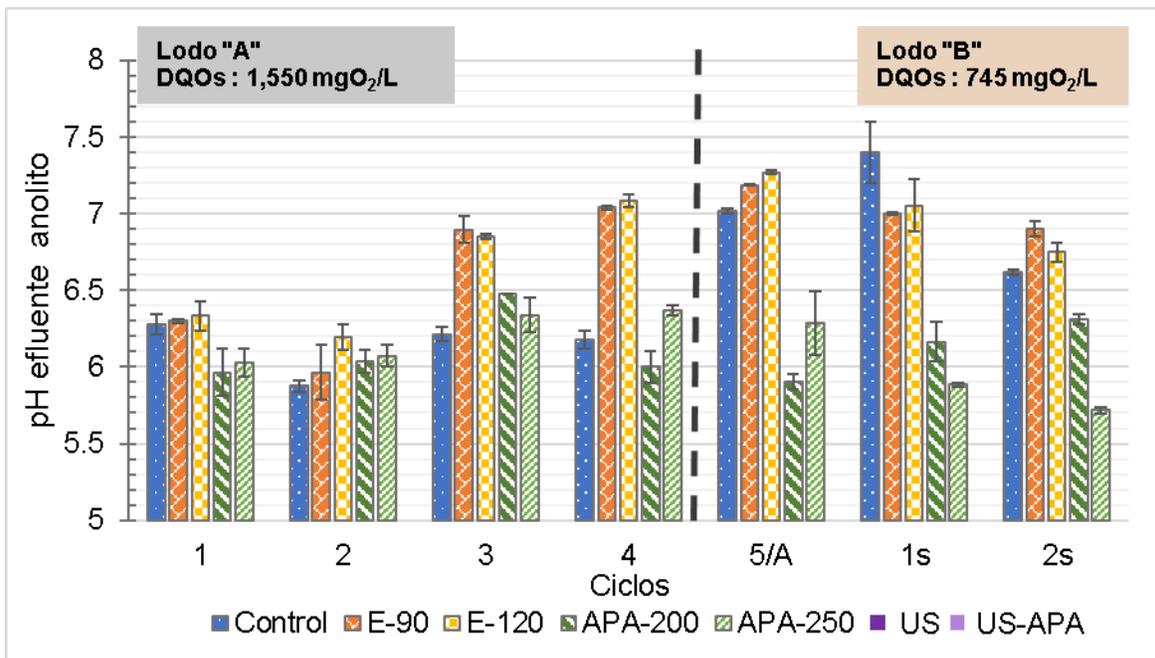


Figura 33. pH de efluente de cámara anódica.

En el efluente del catolito los tres primeros ciclos se mantuvieron con pH entre 4-5, pero a partir del 4to ciclo disminuyó en varios reactores, manteniéndose ahora de 3-4.7 En especial, se tuvo el menor pH promedio de todos los ciclos en los reactores con APA-250

(pH 4.16 ± 0.62) y el mayor pH los reactores control junto con E-90 con pH de 4.5 ± 0.55 y 4.46 ± 0.49 respectivamente.

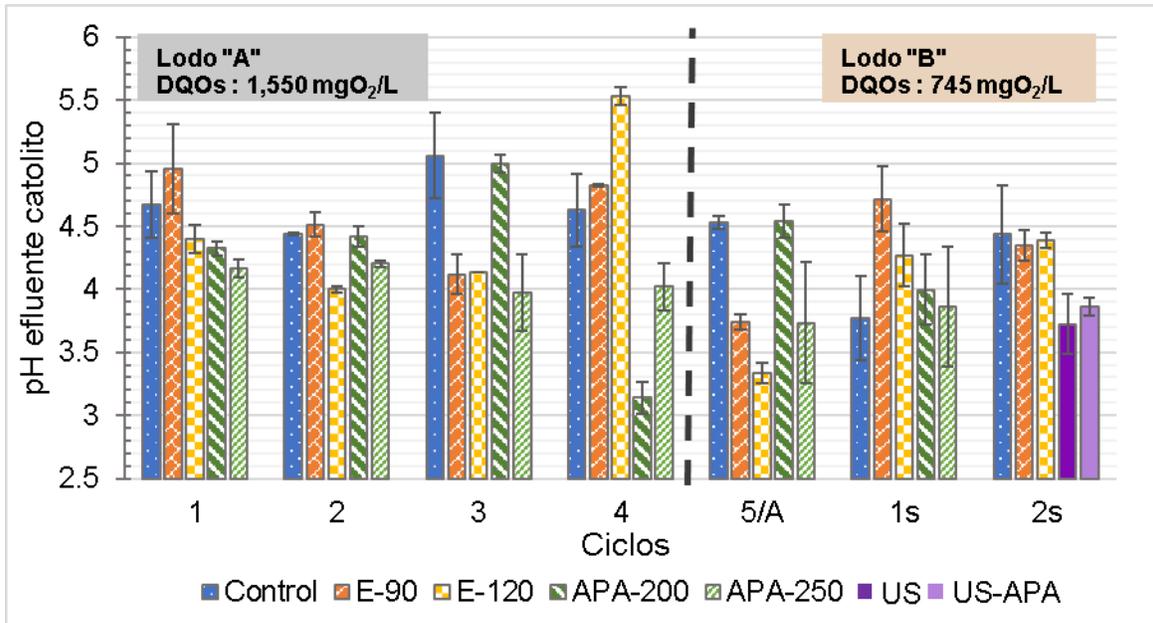


Figura 34. pH de efluente de cámara catódica.

El tener un valor de pH bajo en el efluente de una cámara anódica puede significar un problema en la transferencia de iones entre la cámara anódica y la catódica, y no fue observado en los experimentos. Por otro lado, el incremento en pH en la cámara anódica podría darse por la existencia de microorganismos metanogénicos que en su metabolismo consumen protones y liberan amoníaco lo cual provocan un incremento en pH (Roychoudhury, 2019; Qiao et al., 2015). Ahora, para la cámara catódica, un bajo pH puede dar referencia a que se están produciendo y transfiriendo más rápido los protones de la cámara anódica a la catódica, en comparación con la velocidad en que éstos son utilizados por los microorganismos catódicos para reducir el oxígeno a agua.

5.2.8 Caracterización de biopelícula anódica

La caracterización de la biopelícula microbiana formada en los electrodos se realizó como se mencionó en la metodología mediante la medición de SSV/m². En la figura 35a, se muestran los electrodos anódicos empleados durante la primera fase para los reactores control y con pretratamiento enzimático. Los electrodos de APA aparecen en la figura 35b

ya que estos no fueron cambiados al terminar la fase 1, sino que se continuaron empleando sin realizar una nueva inoculación como se mencionó anteriormente.

En la fase 1, los reactores E-90 tuvieron la mayor formación de biopelícula con $2,094 \pm 8$ SSV/m², en comparación con $1,478 \pm 52$ SSV/m² del control y $1,689 \pm 7$ SSV/m² de E-120.

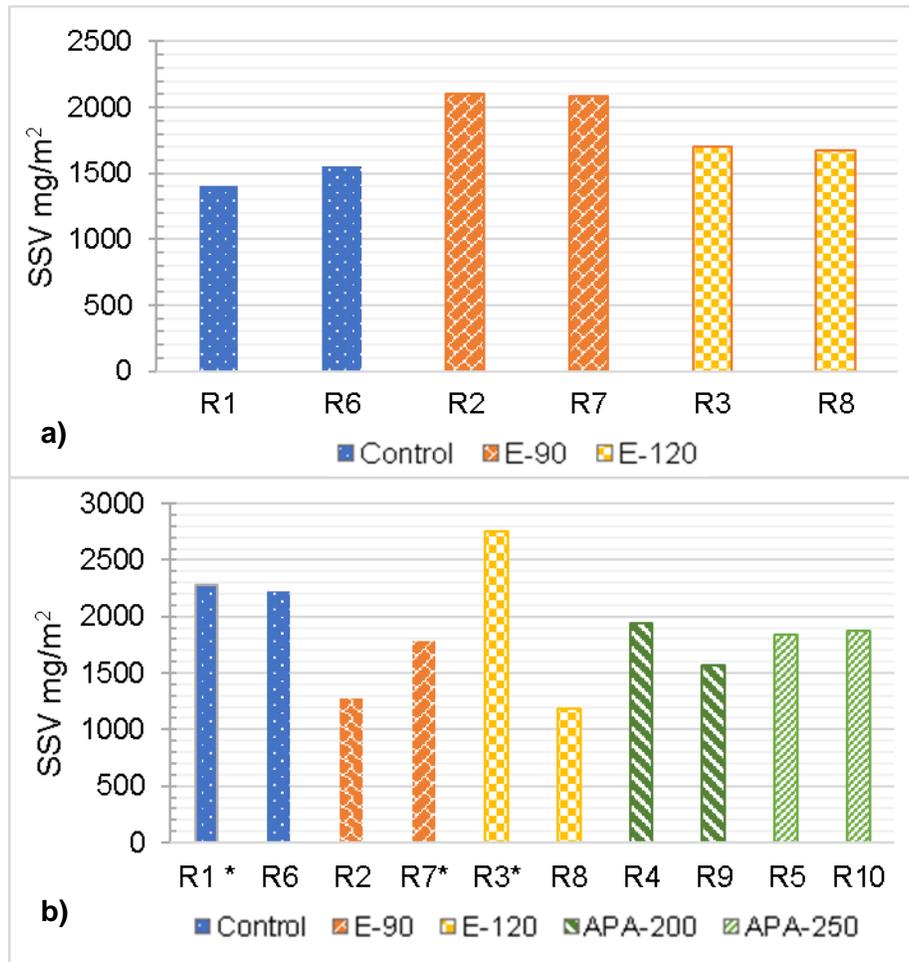


Figura 35. Contenido de SSV en biopelícula de electrodos anódicos. a) electrodos empleados en fase 1. b) electrodos empleados en fase 2.

En la fase 2, se realizó una prueba adicional para comparar si existen diferencias en el empleo de electrodos completamente nuevos y electrodos reusados. Esto se hizo ya que cuando se inició la investigación no fue posible emplear electrodos nuevos al no tenerlos disponibles, y fue hasta el inicio de la segunda fase que se pudieron utilizar. En la figura 35b los reactores que tienen un asterisco (R1*, R7* y R3*) señalan los electrodos

completamente nuevos. El resto de los electrodos fueron electrodos reusados de un proyecto anterior, en donde se utilizaron durante tres meses aproximadamente. Como se observa en la figura 35b, se tuvo una mayor formación de biopelícula en los electrodos nuevos en comparación con los reusados. Sin embargo, analizando los resultados de producción de energía y remoción de materia orgánica, no se encontró una mejora las CCM con electrodos nuevos.

En la fase 2, la biopelícula formada en los electrodos fue de $2,250 \pm 19$, $1,530 \pm 176$ y $2,025 \pm 518$ SSV/m² en el control, E-90 y E-120 respectivamente. En los electrodos con pretratamiento con APA empleados durante las fases 1 y 2, se formó una biopelícula de $1,752 \pm 129$ SSV/m² en APA-200 y $1,852 \pm 11$ SSV/m² en APA-250.

5.2.9 Caracterización electroquímica

Para realizar la caracterización del sistema, se realizaron las curvas de polarización y potencia, voltametría cíclica y espectroscopía de impedancia electroquímica.

5.2.9.1 Curvas de polarización y potencia

Como se explicó en el marco teórico, en una curva de polarización se puede observar la resistencia interna del sistema y se puede dividir en tres tipos de resistencia: al inicio de la curva se tiene la resistencia de transferencia de carga, después de manera lineal una caída por pérdidas óhmicas y finalmente una tercera caída por pérdidas por transferencia de masa. En cada zona, su resistencia se relaciona con la pendiente de la recta. Entre mayor sea la pendiente, mayor es la resistencia.

En la figura 36 se observan los resultados obtenidos durante las primeras pruebas realizadas al inicio del ciclo 1, las líneas punteadas muestran las curvas de polarización y las líneas sólidas, las curvas de potencia. De esta manera, en las curvas de polarización se observa que se tiene una resistencia interna mayor en los reactores con lodo anódico pretratado en comparación con el control durante el inicio del ciclo 1.

Otro aspecto que se observa en las curvas de polarización del ciclo 1 es que el blanco tiene una mayor resistencia de activación al mostrar una caída más pronunciada en comparación con los reactores con lodo pretratado, en especial el E-90.

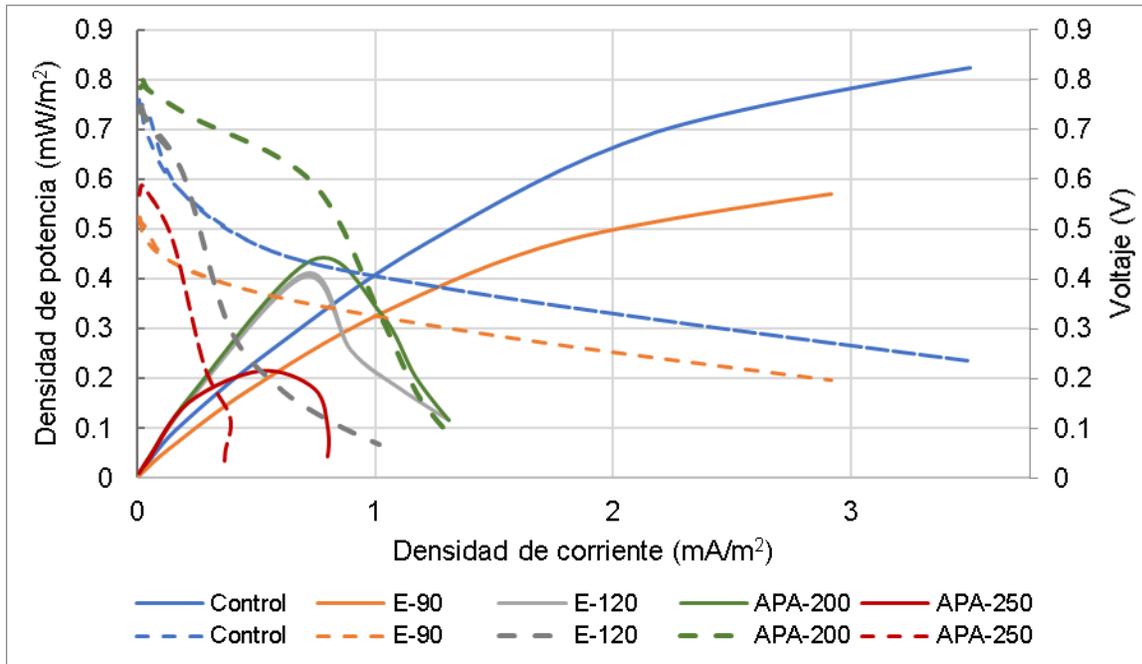


Figura 36. Curvas de polarización y de potencia en el ciclo 1.

En las curvas de potencia, se observa que al inicio del primer ciclo se tiene una mayor densidad de potencia con el reactor de lodo sin pretratamiento y esta se logra con la resistencia externa más baja. Es de conocimiento que se alcanza la máxima potencia cuando la resistencia externa sea igual a la resistencia interna, por lo que se observa nuevamente que la resistencia interna del reactor control y del E-90 son menores a los demás reactores al lograr su máxima DP con una resistencia externa de 46 ohms. En cambio, la potencia máxima en las demás condiciones (E-120, APA-200 y APA-250) se tiene a 550 ohms.

Al finalizar las primeras curvas de polarización y potencia, se decidió emplear la resistencia de 100 ohms para el resto de los experimentos, ya que es un valor medio entre las resistencias con las que se tuvo una mayor potencia para cada condición. De igual manera, se eligió esta resistencia al mostrar en trabajos anteriores un buen

desempeño en la generación de energía eléctrica y remoción de materia orgánica (Katuri *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2010).

En el tercer ciclo se realizaron nuevamente las curvas de polarización considerando que en ese momento ya se encontraban los reactores completamente aclimatados y estabilizados. En la figura 37 se observa que la resistencia interna de los reactores E-90 y E-120 disminuyeron en comparación con el ciclo 1, esto muestra posiblemente que al tercer ciclo ya se formó una mejor biopelícula en el electrodo, disminuyendo así la resistencia. En cambio, con los reactores de APA se tuvo aún una resistencia interna mucho mayor, siendo la resistencia óhmica la más notable, que tal vez se relacione con características del lodo posterior a su pretratamiento y su función como electrolito.

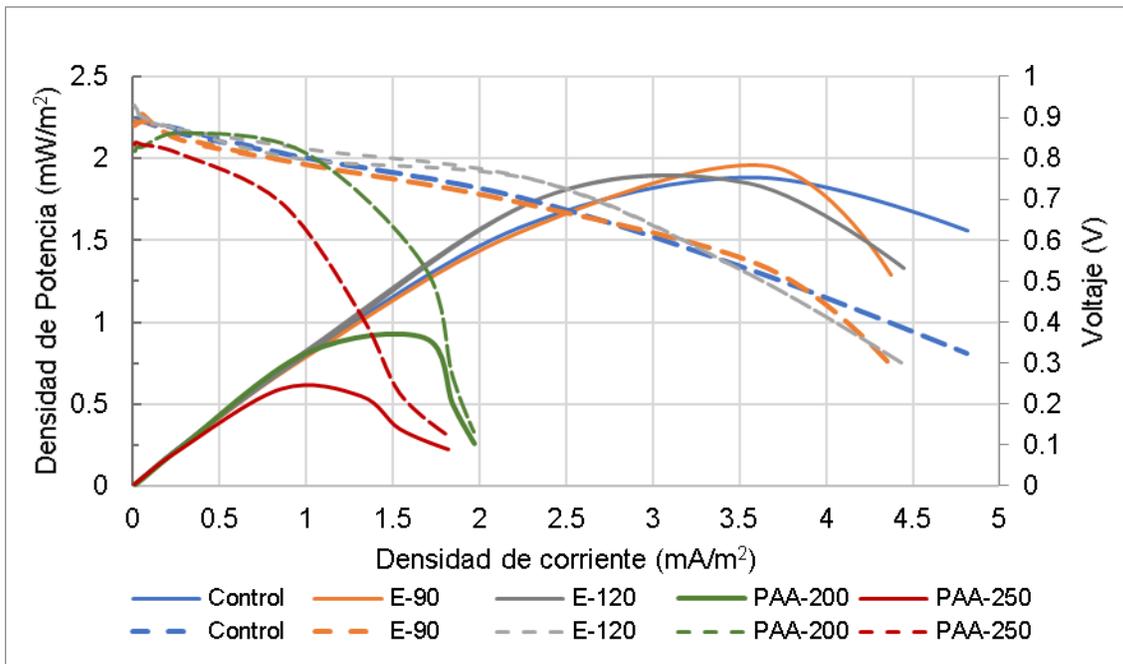


Figura 37. Curvas de polarización y potencia del ciclo 3.

En las curvas de potencia se puede ver que incrementó la DP alcanzada en todos los reactores en comparación con el ciclo 1. Se logró tener la mayor DP máxima con el reactor E-90 de 1.95 mW/m², seguido del control con 1.88 mW/m², E-120 de 1.84 mW/m², APA-200 de 0.9 mW/m² y APA-250 de 0.59 mW/m².

Asimismo, en esta ocasión las DP máximas se obtuvieron a 100 ohms en los reactores control, E-90 y E-120. Con los reactores APA-200 y APA-250 se tuvo con la resistencia externa de 216 y 550 ohms, respectivamente.

5.2.9.2 Voltametría cíclica

Las pruebas de voltametría cíclica se realizaron de celda completa para observar las reacciones de oxidación-reducción que se llevan a cabo. Aunque en otro tipo de estudios se utiliza la VC para identificar las reacciones que se llevan a cabo, en el caso de lodos residuales es difícil de reconocer las reacciones ya la composición del lodo es muy diversa. Sin embargo, en investigaciones de CCM sobre agua residual se ha empleado relacionando la intensidad de corriente en los picos anódico y catódico con la actividad catalítica de la biopelícula (Zhang Y. et al., 2012; Zhuang et al., 2012).

La figura 38 contiene las VC de los reactores con lodo control y lodo pretratado a una velocidad de barrido de 1mVs^{-1} . Las líneas punteadas representan las voltametrías realizadas con los electrodos limpios (sin biopelícula). Las líneas sólidas son las voltametrías de los reactores realizadas durante el tercer ciclo, cuando ya se encontraba más estable el sistema y se había formado biopelícula en los electrodos.

Se puede observar en todas las condiciones que sí se tiene una mayor actividad catalítica después de la formación de biopelícula en los electrodos, ya que incrementa la intensidad de corriente de respuesta y se logran observar picos anódicos y catódicos. De igual manera, en todas las condiciones de electrodos con biopelícula, se encontraron más de un pico de oxidación y solo un pico de reducción. Por lo que se plantea que además de las reacciones de oxidación electroquímica, se tienen reacciones químicas secundarias irreversibles.

En los voltamperogramas de los electrodos sin biopelícula, no se observaron actividades catalíticas al tener muy baja corriente de respuesta. Posterior a la formación de la película, se observaron dos picos de oxidación (parte superior de las curvas) con una mayor corriente de respuesta en los reactores con pretratamiento enzimático, mostrando una mayor actividad bio-catalítica. El pico principal se tuvo a un potencial alrededor de 0.02 y 0.3 V vs Ag/AgCl, generando la mayor corriente de respuesta de 0.021A y 0.029A

en los reactores E-90 y E-120, seguido de 0.019 A del Control y finalmente 0.017A y 0.014A de APA-200 y APA 250.

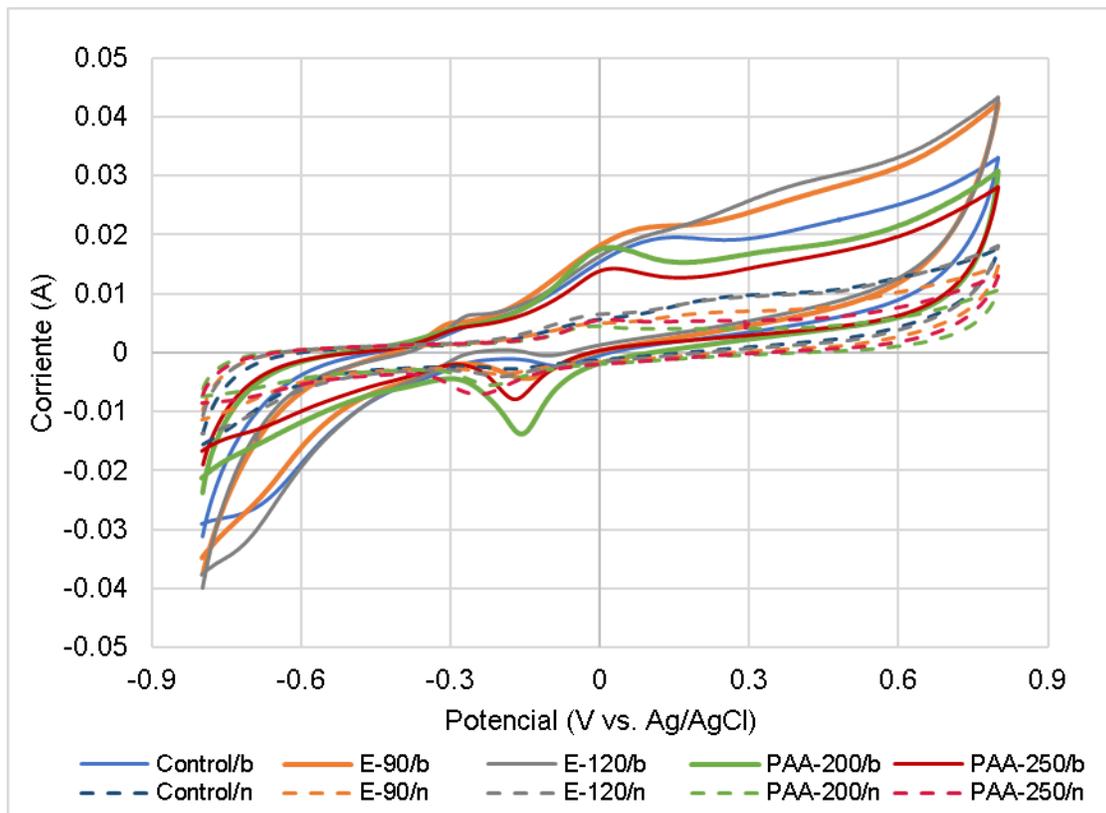


Figura 38. Voltamperometrías cíclicas de CCM. Electrodo sin biopelícula (/n) y con biopelícula (/b).

De igual manera, se observó un pico de oxidación en todas las condiciones a un potencial cercano a $-0.26\text{V vs. Ag/AgCl}$. En este pico se tuvo una corriente de respuesta muy parecida entre las condiciones: 0.0046, 0.0051, 0.0064, 0.0044 y 0.0043A en los reactores control, E-90, E-120, APA-200 y APA-250 respectivamente. Este pico se ha encontrado a voltajes similares en literatura y se menciona que podría ser por la presencia de citocromos tipo-c Mtrc que se han visto alrededor de -0.1V vs. EEH (Marsili *et al.*, 2007).

Es interesante que, en el caso del APA, se tienen picos más pequeños, pero más marcados. En cambio, en el caso de la enzima y el control, se tiene una forma un poco más esponjada, que podría ser explicada como un efecto de corriente capacitiva (Bard y Faulkner, 2001). La capacitancia se ha observado en biopelículas formadas en electrodos 3D como los electrodos de cepillo (Harnisch y Freguia, 2012) y en biopelículas que tienen

acumulación de carga por la existencia de especies electroactivas como los citocromos que, además de transferir carga, pueden almacenarla (Malvankar *et al.*, 2012; Michie *et al.*, 2020).

De manera general los voltamogramas cíclicos se observó un incremento en la actividad catalítica después de la formación de biopelícula en los electrodos. Y se tuvo la mayor corriente de respuesta en los reactores con pretratamiento enzimático, reflejando una mejor actividad bio-catalítica con este pretratamiento.

5.2.9.3 Impedancia electroquímica

Con las pruebas de impedancia electroquímica se complementaron los resultados de las curvas de polarización sobre el análisis de las resistencias del sistema. En la figura 39 se observa el gráfico de Nyquist de cada condición de CCM. Los valores de resistencia Óhmica (R_s) y resistencia a la transferencia de carga (R_{tc}) se obtuvieron como se mencionó en la metodología, mediante el programa Gamry Echem Analyst, ajustando los datos al modelo de Randles.

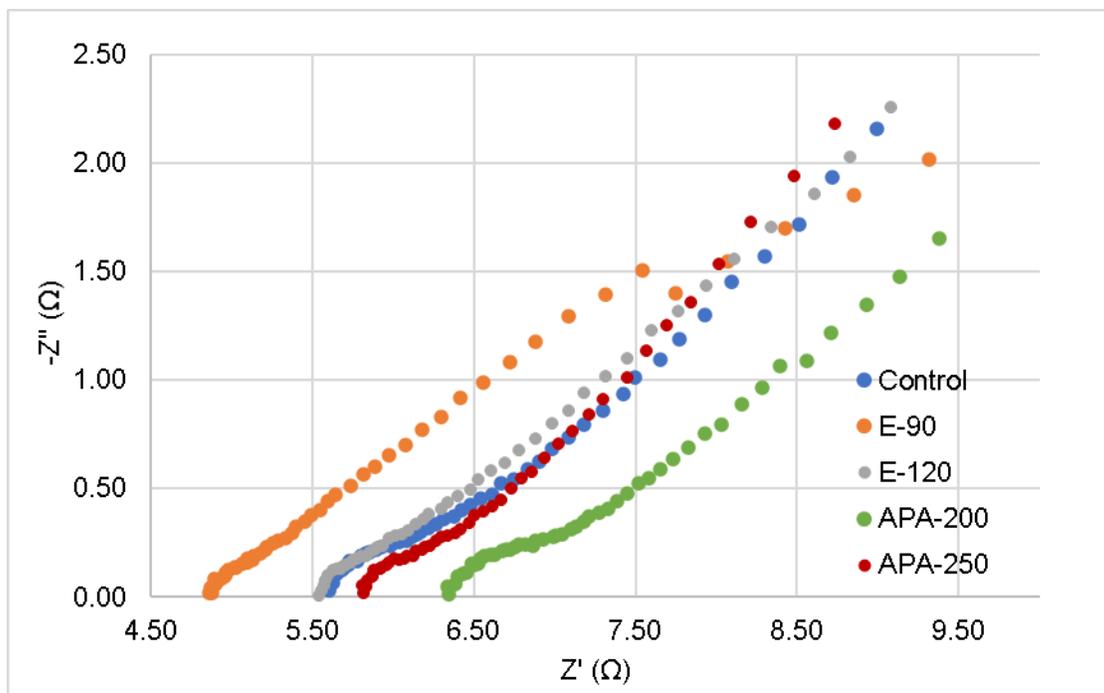


Figura 39. Gráfico de Nyquist de las cinco condiciones empleadas.

Los resultados del ajuste mostraron una menor resistencia óhmica o de solución en los reactores con pretratamiento enzimático con 4.77Ω y 5.46Ω de E-90 y E-120. El control tuvo una R_s de 5.5Ω y los reactores con APA-200 y APA-250 tuvieron 6.28Ω y 5.69Ω respectivamente. Estos resultados tienen concordancia con las resistencias óhmicas observadas en las curvas de polarización. Por otro lado, la resistencia a la transferencia de carga mostró un comportamiento diferente. Los reactores con APA-200 y APA-250 tuvieron las menores R_{tc} con 1.18Ω y 1.04Ω , seguido de E-90 y E-120 con 1.2Ω y 1.22Ω , y por último el control con 1.3Ω .

Posterior al término de los experimentos con las CCM, se observaron diferencias en la condición en la que se encontraban las membranas intercambiadoras de protones entre cada tipo de pretratamiento. En la figura 40, se muestra que la membrana de los reactores con APA sufrió un cambio de coloración a rojo-café, mientras que la membrana de las enzimas se volvió más blanca como con una capa de carbonatos o sales.

Por ello, se realizaron nuevamente pruebas de impedancia, pero en esta ocasión, se empleó el mismo reactor, lodo residual sin pretratamiento y electrodos limpios (sin biopelícula). Esto se hizo con la intención de ver cuál es el efecto que tiene la membrana en la resistencia interna. En la figura 41 se muestran los resultados con los valores de las resistencias. Las membranas utilizadas de cada pretratamiento fueron de un reactor con dosis baja

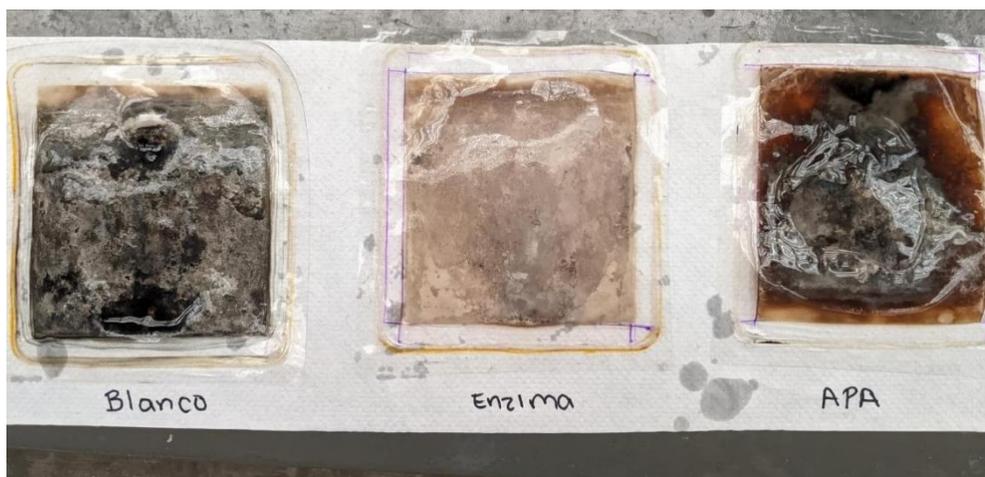


Figura 40. Estado de las MIP al término de los experimentos con CCM.

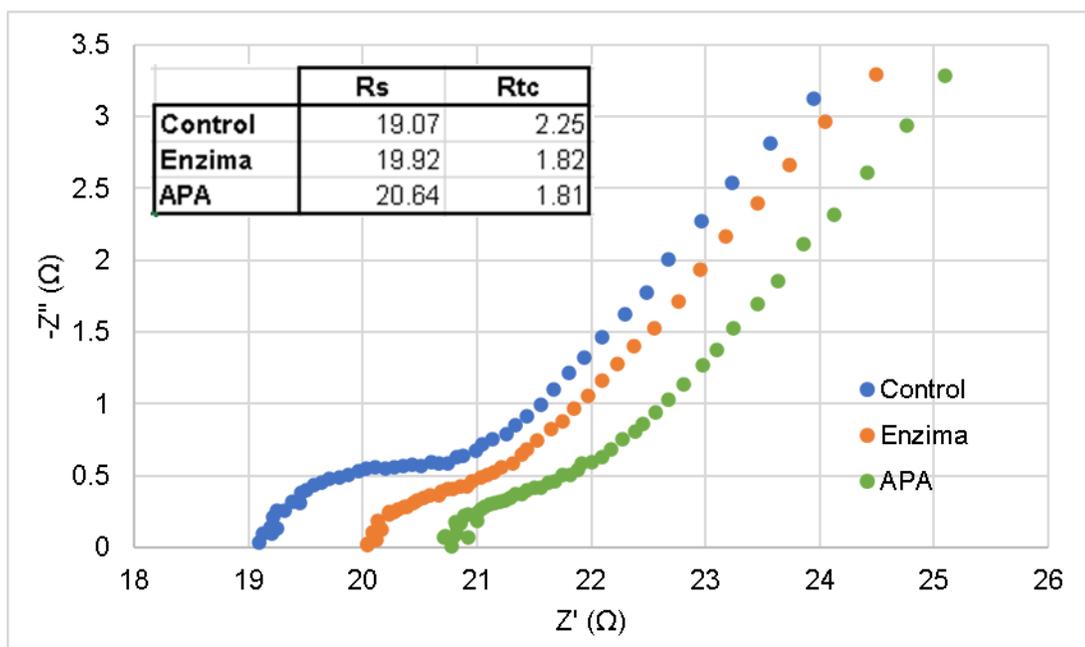


Figura 41. Gráfico de Nyquist de membranas intercambiadoras de protones. Resistencia de solución (R_s) y Resistencia de transferencia de carga (R_{tc})

Se puede observar que en las mismas condiciones sí se tienen diferencias en la resistencia interna de la celda provocada por las modificaciones que ocurren en la membrana con el paso del tiempo. Las membranas de los reactores con pretratamiento presentaron una mayor resistencia Óhmica (R_s), teniendo la resistencia más alta el pretratamiento con APA. Por otro lado, si se comparan estos resultados (Figura 41) con la figura 39, se puede observar que la formación de la biopelícula en los electrodos disminuyó tanto la R_s como la R_{tc} en todas las condiciones.

Mediante las pruebas electroquímicas, se observó en los reactores con pretratamiento enzimático y control una mejor actividad bio-catalítica y una menor resistencia interna.

Con las curvas de polarización y la espectroscopía de impedancia electroquímica, se observó una menor resistencia interna del sistema en los reactores con pretratamiento enzimático y el reactor control. Estos alcanzaron en el tercer ciclo las máximas densidades de potencia con una resistencia externa de 100Ω , en comparación con el APA-200 y APA-250 que se tuvo con 216Ω y 550Ω . La máxima densidad de potencia se

tuvo con la celda E-90 (1.95 mW/m²), seguido del control (1.88 mW/m²), E-120 (1.84 mW/m²), APA-200 (0.9 mW/m²) y APA-250 (0.59 mW/m²).

Con los experimentos de EIE, también se concluyó que los cambios que sufre la membrana con el tiempo impactan de manera negativa en la resistencia interna y estos cambios dependen del sustrato anódico.

5.2.10 Influencia de la temperatura en la producción de electricidad.

Como experimento complementario se analizó el efecto que tiene la variación de la temperatura en la producción de voltaje. Esta prueba se realizó ya que en el gráfico de voltaje producido durante las dos fases (figuras 18-22), se observaron variaciones de voltaje durante el día y se propuso aclarar si estas variaciones tienen relación con la temperatura ambiente. Para comprobarlo, se colocó un termostato en la cámara anódica del reactor R1 (control) para incrementar la temperatura y se fue registrando el voltaje y la temperatura cada determinado tiempo en un periodo de 4 horas.

Como se observa en la figura 42, se tuvo un incremento de voltaje conforme incrementó la temperatura en una razón de 0.00215 V por cada °C, tanto en el reactor con termostato como en el reactor en condiciones normales. De esta manera, incrementó el voltaje en el reactor con termostato de 0.17 a 0.196V, incrementando la temperatura de 25 a 37°C. En comparación, el reactor sin termostato incrementó su voltaje de 0.22 a 0.23V con un incremento en la temperatura de 25 a 28°C.

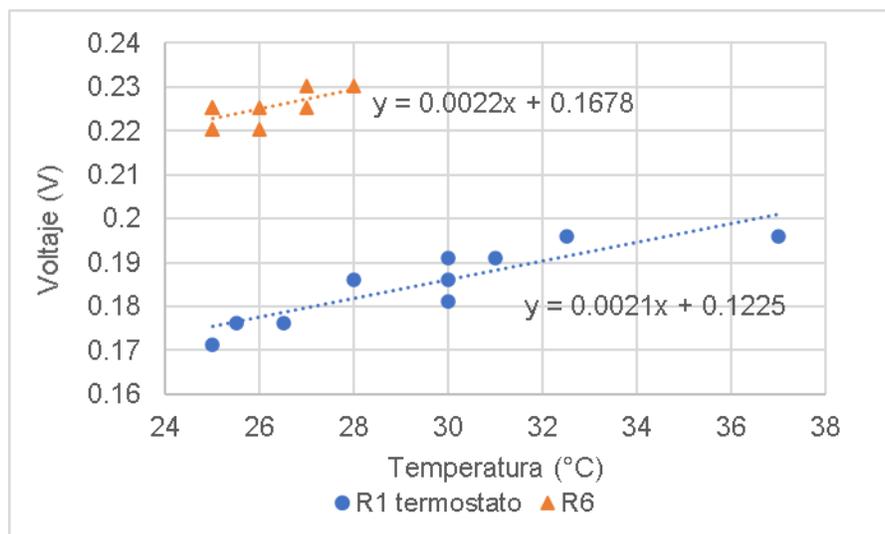


Figura 42. Relación de producción de voltaje respecto a la temperatura.

El incremento en voltaje dado con el aumento de la temperatura se ha visto en trabajos anteriores, en donde se ha probado el funcionamiento de CCM a diferentes temperaturas controladas, presentando mejores resultados de remoción de materia orgánica y producción de electricidad a temperaturas entre 30°C y 45°C (Larrosa-Guerrero et al., 2010; Oliveira et al., 2013). La mejora en el funcionamiento de las CCM con el incremento de la temperatura se ha relacionado principalmente con la mejora en el metabolismo de los microorganismos, además del incremento de permeabilidad en la membrana y de la conductividad de la solución electrolítica (Oliveira et al., 2013).

6. Conclusiones

Los objetivos planteados en el proyecto fueron cumplidos ya que se evaluó el efecto de dos tipos de pretratamientos de lodos residuales secundarios usados como sustrato anódico en celdas de combustible microbianas sobre la generación de corriente eléctrica y remoción de materia orgánica.

Los resultados de las pruebas preliminares de pretratamiento de lodo residual secundario con enzima α -amilasa y de ácido peracético a temperatura ambiente (22-27°C), mostraron que es posible incrementar la materia orgánica soluble con los dos tipos de pretratamiento ya que se aumentó la DQOs, la relación DQOs/DQOt y la concentración de ácidos grasos volátiles, en especial el ácido acético.

En la evaluación de las celdas de combustible microbianas, se tuvieron como resultados mejoras en la densidad de potencia y densidad de corriente en los reactores con pretratamiento enzimático E-90 y E-120 obteniendo $3.77 \pm 0.95 \text{ W/m}^3$ y $4.38 \pm 1.19 \text{ W/m}^3$ respectivamente, pero no se encontraron diferencias significativas con resultados obtenidos en los reactores sin pretratamiento ($2.89 \pm 0.56 \text{ W/m}^3$).

En cuanto a las celdas con pretratamiento con ácido peracético APA-200 y APA-250, se tuvo un impacto negativo significativo en la densidad de potencia y densidad de corriente y eficiencia coulombica en comparación con los resultados obtenidos en las celdas sin pretratamiento. El efecto negativo observado en las muestras con ácido peracético se puede atribuir a una posible presencia de compuestos subproductos de la oxidación química de la materia orgánica, los cuales haya provocado una inhibición en los microorganismos.

El desempeño que tuvieron los pretratamientos en las CCM respecto a la remoción de materia orgánica fue bajo en comparación con estudios previos en todas las variables de respuesta. Como resultados generales se tuvo remoción de SST de 16%-35%, SSV de 18%-36%, DQOt de 20%-41% y DQOs de 43%-80%. Esto podría deberse a dos razones: 1) las características y composición del lodo residual secundario empleado como sustrato; 2) la metodología de inoculación y aclimatación que se realizó no fue suficiente para formar una biopelícula capaz de estabilizar el lodo residual. Por otro lado, sólo los

reactores E-90 y E-120 tuvieron un efecto positivo significativo en la remoción de DQOs en comparación con lodo sin pretratar, en el resto de las variables de respuesta no se tuvieron diferencias significativas entre las condiciones probadas.

En la prueba extra de pretratamiento con sonicación y sonicación más ácido peracético no se observaron cambios significativos en las variables de respuesta en comparación con los experimentos de ácido peracético, concluyendo que en esas condiciones de prueba no se tiene una mejora al combinar el tratamiento de sonicación con ácido peracético.

Ahora, mediante la caracterización de los electrodos se observó en la segunda fase experimental que los electrodos nuevos tuvieron una mayor formación de biopelícula en comparación con las formadas en los electrodos usados, pero esto no provocó una mejora en el desempeño eléctrico ni en la remoción de materia orgánica. De igual manera, no se encontraron diferencias significativas en las condiciones empleadas y la formación de biopelícula mediada en g SSV/m².

En los resultados de caracterización electroquímica, con las curvas de polarización y potencia se tuvo la máxima densidad de potencia en el tercer ciclo con la celda E-90 (1.95 mW/m²), seguido del control (1.88 mW/m²), E-120 (1.84 mW/m²), APA-200 (0.9 mW/m²) y APA-250 (0.59 mW/m²). La baja producción de energía en los reactores con ácido peracético se relaciona con la resistencia interna, las cuales fueron las más altas con 216Ω y 550Ω de APA-200 y APA-250, en comparación con 100Ω del control, E-90 y E-120. Por su parte, en las voltametrías cíclicas se observó que se tiene una mayor actividad biocatalítica en los reactores con pretratamiento enzimático al tener una mayor corriente de respuesta, lo cual coincide con el desempeño eléctrico de la primera fase experimental.

Con los resultados anteriores se concluye que los pretratamientos a temperatura ambiente (22°-27°C) con la enzima α-amilasa en dosis 90 y 120 mg/ g ST y el ácido peracético en dosis 200 y 250 mg/ g ST, son efectivos para incrementar la materia orgánica soluble en el lodo residual, pero la materia orgánica formada con el pretratamiento no es apropiada para mejorar la generación de electricidad en celdas de combustible microbianas que utilizan el lodo pretratado como sustrato anódico.

7. Recomendaciones

Con la intención de apoyar en futuras investigaciones sobre celdas de combustible microbianas que emplean lodo residual como sustrato anódico, hago las siguientes recomendaciones de acuerdo con la experiencia que tuve dentro de esta investigación:

- Durante la etapa de aclimatación, es importante dar tiempo suficiente a que se forme la biopelícula en el electrodo. Existe en bibliografía diferentes técnicas que pueden ser empleadas en donde se menciona cada cuánto se puede cambiar el sustrato y en qué cantidad. Para conocer si es estable la biopelícula se deben de dar ciclos repetibles en donde la producción de corriente y la remoción de materia orgánica sea estable, para poder entonces comenzar con las pruebas que se deseen realizar en el sistema.
- Si se decide utilizar biocátodos, se podría agregar una solución amortiguadora al catolito para regular el pH de la cámara catódica y evitar que baje y pueda afectar a la biopelícula catódica.
- Para tener constancia de que el inóculo a emplear se encuentra en buenas condiciones, se puede realizar una respirometría en caso de inóculo aerobio y la actividad metanogénica específica en caso de ser anaerobio.
- Cuando se trabaja con un sistema de adquisición de datos para capturar la medición de los voltajes, es importante verificar por medio de un multímetro si el voltaje que se está leyendo en la computadora, corresponde al voltaje real de las celdas, ya que a veces pueden fallar conexiones eléctricas, lo que puede provocar lecturas erróneas de voltaje.

En el caso de realizar investigación sobre la aplicación de pretratamientos a lodo residual, se podría analizar los siguientes aspectos para obtener más información sobre qué sucede en el lodo con el pretratamiento y cómo afecta al funcionamiento de las celdas:

- Producción de glucosa.
- Concentración de proteínas.
- Comunidad microbiana de los electrodos.
- Determinación de subproductos que puedan ser inhibidores.

8. Referencias

- Abhilicha S. M., Dipak A. J., Makarand M. G. (2018). Architectural adaptations of microbial fuel cells. *Applied microbiology and biotechnology*. 102: 9419-9432.
- Aelterman P., Rabaey K., Pham H. T. (2006) Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environmental Science Technology*. 40:3388-3394.
- Aelterman P., Versichele M., Marzorati M., Boon N., Verstraete W. (2008). Loading rate and external resistance control the electricity generation of microbial fuel cells with different three-dimensional anodes. *Bioresource Technology*. 99: 8895-8902.
- Aiken D., Curtis T., Heidrich E. (2019). Avenues to the financial viability of microbial electrolysis cells [MEC] for domestic wastewater treatment and hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*. 44: 2426-2434.
- Aiyer, K. S. (2020). How does electron transfer occur in microbial fuel cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(2): 1-9.
- Allen, R.M., Bennetto, H.P. (1993). Microbial fuel cells—electricity production from carbohydrates. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 39:27–40.
- Alvarado L.G. (2005). *Ajuste de espectros de impedancia y estimación de parámetros electroquímicos mediante algoritmos genéticos*. [Tesis de maestría, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica]. Repositorio institucional CIDETEQ.
<https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/363/1/Ajuste%20de%20espectros%20de%20impedancia%20y%20estimaci%C3%B3n%20de%20par%C3%A1metros%20electroqu%C3%ADmicos%20mediante%20algoritmos%20gen%C3%A9ticos.pdf>
- Ao X. W., Eloranta J., Huang C. H., Santoro D., Sun W. J., Lu Z. D. Li C. (2020). Peracetic acid-based advanced oxidation processes for decontamination and disinfection of water: A review. *Water Research*. 116479.
- Appels L., Baeyens J., Degreve J., Dewil R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34: 755-781.

- Apples L., Van Assche A., Willems K., Degrève J., Impe J., Dewil R. (2011). Paracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresource Technology*. 102: 4124-4130.
- Arunasri, K., Mohan, S. V. (2019). Biofilms: Microbial Life on the Electrode Surface. Capítulo del libro *Microbial Electrochemical Technology* (pp. 295-313). Elsevier.
- Balint, R., Cassidy, N.J., Cartmell, S.H., 2014. Conductive polymers: towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. 10: 2341–2353.
- Behera, M., Jana, P. S., & Ghangrekar, M. M. (2010). Performance evaluation of low cost microbial fuel cell fabricated using earthen pot with biotic and abiotic cathode. *Bioresource Technology*. 101(4): 1183–1189.
- Bond DR, Lovley DR. (2003). Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied Environmental Microbiology*. 69:1548–55.
- Bond, D. R. Lovley, D. R. (2003) Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied Environmental Microbiology*. 69:1548–1555.
- Bond, D. R., Holmes, D. E., Tender, L. M., Lovley, D. R. (2002). Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science* 295: 483–485.
- Bretschger, O., Snowden, C., McDonald, L., Suzuki, S., Ishii, S. I. (2015). CHARACTERIZATION OF ELECTRODE-ASSOCIATED BIOMASS AND MICROBIAL COMMUNITIES. Del libro *Biofilms in Bioelectrochemical Systems: From Laboratory Practice to Data Interpretation*, Wiley. 83.
- Caizán L., Servin I., Chen X., Buisman C., Heijne A. (2019). Electrochemical and microbiological characterization of single carbon granules in a multi-anode microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*. 435:126514.
- Cámara K. C., Laines J. R. (2011). La digestión anaerobia y la bioquímica. *Kuxulkab: revista de divulgación*. 32: 89-96.
- Catal T., Li K., Bermek H., Liu H. (2008). Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*. 175:196–200.
- Chang H. N., Han, J. I. (2011). Performance of microbial fuel cell with volatile fatty acids from food wastes. *Biotechnology letters*. 33(4): 705-714.
- Chaturvedi, V., Verma, P. (2016). Microbial fuel cell: a green approach for the utilization of waste for the generation of bioelectricity. *Bioresources and Bioprocessing*. 3(1): 38.

- Chaudhuri, S. K., Lovley, D. R. (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*. 21: 1229–1232.
- Chen A., Choi S., Lee T., Kim C. (2010) Microbial community dynamics and electron transfer of a biocathode in microbial fuel cells. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 27 (5): 1513-1520.
- Chen B.Y., Xu B., Qin L.J., Lan J.C.W., Hsueh C.C. (2014). Exploring redox-mediating characteristics of textile dye-bearing microbial fuel cells: thionin and malachite green. *Bioresource Technology*. 169:277–283.
- Chen Y., Jiang J., Zhao Q. (2014). Freezing/thawing effect on sewage sludge degradation and electricity generation in microbial fuel cell. *Water Science & Technology*. 70.3:444-449.
- Chen G. W., Choi S.J., Lee T.H., Lee G.Y., Cha J.H., Kim C.W. (2008). Application of biocathode in microbial fuel cells: cells performance and microbial community. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79:379-388.
- Chen J., Hu Y., Huang W., Zhang L. (2017). Enhanced electricity generation for biocathode microbial fuel cell by in situ microbial-induced reduction of graphene oxide and polarity reversion. *International Journal of Hydrogen Energy*. 42: 12574-12582.
- Clauwaert P., Rabaey K., Aelterman P., De Schampelaire L., Pham T.H., Boeckx P., Boon N., Verstraete W., (2007). Biological denitrification in microbial fuel cells. *Environmental Science & Technology* 41 (9): 3354-3360.
- Contreras-Reyes C., Vidal G. (2015). Methanogenic toxicity evaluation of chlortetracycline hydrochloride. *Electronic Journal Biotechnology*. 18(6): 445-450.
- Corbella C., Puigagut J. (2018). Improving domestic wastewater treatment efficiency with constructed wetland microbial fuel cells: Influence of anode material and external resistance. *Science of the Total Environment*. 631–632: 1406–1414.
- Das, D. (2018). *Microbial Fuel Cell, A Bioelectrochemical System that Converts Waste to Watts*. Springer.
- Dell’Erba A., Falsanisi D., Liberti L., Notarnicola M., Santoro D. (2007). Disinfection by-products formation during wastewater disinfection with peracetic acid. *Desalination*. 215:117-186.

- Dewan, A., Beyenal, H., Lewandowski, Z., 2008. Scaling up microbial fuel cells. *Environmental Science Technology*. 42:7643–7648.
- Du Z., Li H., Gu T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology advances*. 25(5): 464-482.
- Dumas C., Mollica A., Feron D., Basseguy R., Etcheverry L., Bergel, A. (2007). Marine microbial fuel cell: use of stainless steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochimica Acta*. 53:468–473.
- Erable B., Bergel, A. (2009). First air tolerant effective stainless steel microbial anode obtained from a natural marine biofilm. *Bioresource Technology*. 100:3302–3307.
- Escapa A., Gómez X., Tartakovsky B., Morán A. (2012). Estimating microbial electrolysis cell [MEC] investment cost in wastewater treatment plants: Case study. *International Journal of Hydrogen Energy*. 24: 18641-18653.
- Ezeta A. M. (2011). *Estudio de la cinética de la reacción de reducción de oxígeno sobre electrodos Bi- y trimetálicos sintetizados por aleado mecánico*. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]
- <https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/9538/1/59.pdf>
- Farias G. N. (2016). *Análisis técnico-económico de la tecnología de celdas de combustible microbianas para la producción de energías alternas*. [Tesis para obtención de grado de Maestría, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S. C. (CIDETEQ)]. Repositorio institucional-CIDETEQ.
- Fazli N., Mutamim N. S. A., Jafri N. M. A. (2018). Microbial Fuel Cell (MFC) in treating spent caustic wastewater: Varies in hydraulic retention time (HRT) and mixed liquor suspended solid (MLSS). *Journal of environmental chemical engineering*. 6: 4339-4346.
- Feng Y., Yang Q., Wang X., Logan B. E. (2010). Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*. 195: 1841-1844.
- Fernández-Hernández F. J., Pérez A., Salar-García M. J., Ortiz-Martínez V.M., Lozano-Blanco L. J., Godínez C., Tomás-Alonso F., Quesada-Medina J. (2015). Recent

- progress and perspectives in microbial fuel cells for bioenergy generation and wastewater treatment. *Fuel Processing Technology*. 138: 248-297.
- Freguia S., Hoi T. E., Boon N., Leung K. M., Keller J., Rabaey K. (2010). Microbial fuel cells operating on mixed fatty acids. *Bioresource technology*. 101: 1233-1238.
- Ge H.Q., Jensen P.D., Batstone D.J. (2011). Increased temperature in the thermophilic stage in temperature phased anaerobic digestion (TPAD) improves degradability of waste activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 187:355–61.
- Geng Y., Yuan L., Liu T., Li Z., Zheng X., Sheng G. (2020). Thermal/alkaline pretreatment of waste activated sludge combined with a microbial fuel cell operated at alkaline pH for efficient energy recovery. *Applied Energy*. 275: 115291.
- Geng Y., Yuan L., Liu T., Li Z., Zheng X., Sheng G. (2021). In-situ alkaline pretreatment of waste activated sludge in microbial fuel cell enhanced power production. *Journal of power sources*. 491: 229616
- Ghasemi M., Shahgaldi S., Ismail M., Kim B.H., Yaakob Z., Wan Daud, W.R. (2011). Activated carbon nanofibers as an alternative cathode catalyst to platinum in a two-chamber microbial fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*. 36:13746–13752.
- Gómez-Biedma S., Soria, E., y Vivó, M. (2002). Análisis electroquímico. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 51(1): 18-27. Recuperado en 10 de noviembre de 2019, de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-79732002000100005&lng=es&tlng=es
- Greenman J., Gajda I., You J., Mendis B. A., Obata O., Pasternak G., Ieropoulos I. (2021). Microbial fuel cells and their electrified biofilms. *Biofilm*. 3: 100057.
- Guerrini E., Grattieri M., Trasatti S., Bestetti M., Cristiani P. (2014). Performance explorations of single chamber microbial fuel cells by using various microelectrodes applied to biocathodes. *International Journal of Hydrogen Energy*. 39:21837–21846.
- Guo X., Zhan Y., Chen C., Cai B., Wang Y., Guo S. (2016). Influence of packing material characteristics on the performance of microbial fuel cells using petroleum refinery wastewater as fuel. *Renewable Energy*. 87:437–44.

- Gurung A., Oh S-E. (2015). Rice straw as a potential biomass for generation of bioelectrical energy using microbial fuel cells (mfcs). *Energy Sources A*. 37:2625-2631.
- Guy O., Walker K. (2016). Graphene Functionalization for Biosensor Applications. Del libro *Silicon Carbide Biotechnology*. Elsevier. 85-141.
- Haque N., Cho D., y Kwon S. (2014). Performances of metallic (sole, composite) and Non-metallic anodes to harness power in sediment microbial fuel cells. *Environmental Engineering Research*. 19(4): 363-367.
- Harnisch F., Freguia S. (2012). A basic tutorial on cyclic voltammetry for the investigation of electroactive microbial biofilms. *Chemistry an Asian journal*. 7: 466-475
- Harshitha G., Sahoo A., Sethy R. (2019). Bioelectricity generation from different biomass feed at anode chamber and to study process parameters in microbial fuel cells. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 20: 101191.
- He Z., Angenent L. T. (2006) Applications of bacterial biocathodes in microbial fuel cells. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis* .18:19-20.
- Hidalgo D., Tommasi T., Bocchini S., Chiolerio A., Chiodoni A., Mazzaino I., Ruggeri B. (2016). Surface modification of commercial carbon felt used as anode for Microbial Fuel Cells. *Energy*. 99: 193-201.
- Holmes, D. E., Nicoll, J. S., Bond, D. R., Lovley, D. R. (2004) Potential role of a novel psychrotolerant member of the family Geobacteraceae, *Geopsychrobacter electrophilus* gen. nov., sp. nov., in electricity production by a marine sediment fuel cell. *Applied Environmental Microbiology*. 70: 6023–6030 (2004) erratum 75, 885 (2009).
- Huarachi-Olivera R., Dueñas-Gonza A., Yapo-Pari U., Vega P., Romero-Ugarte M., Tapia, J. Molina L., Lazarte-Rivera A., Pacheco-Salazar D. G. Esparza M. (2018). Bioelectrogenesis with microbial fuel cells (MFCs) using the microalga *Chlorella vulgaris* and bacterial communities. *Electronic Journal of Biotechnology*. 31: 34-43.
- Jadhav G. S., Ghangrekar M. M. (2008). Improving performance of MFC by design alteration and adding cathodic electrolytes. *Applied biochemistry and biotechnology*. 151: 319-332.

- Jayashree C., Janshi G., Yeom I.T., Kimar S., Banu J. (2014). Effect of low temperature Thermo-Chemical pretreatment of dairy waste activated sludge on the performance of microbial fuel cell. *International Journal of electrochemical science*. 9: 5732-5742.
- Jiang H., Luo S., Shi X., Dai M., Guo R. (2013) A system combining microbial fuel cell with photobioreactor for continuous domestic wastewater treatment and bioelectricity generation. *Journal of Central South University*. 20:488–94.
- Jiang J., Zhao Q., Wei L., Wang K. (2010a). Extracellular biological organic matters in microbial fuel cell using sewage sludge as fuel. *Water research*. 44: 2163-2170.
- Jiang J., Zhao Q., Wang K., Wei L., Zhang G., Zhang J. (2010b). Effect of ultrasonic and alkaline pretreatment on sludge degradation and electricity generation by microbial fuel cell. *Water Science Technology*. 61 (11): 2915-2921.
- Jiang J., Zhao Q., Zhang J., Zhang G., Lee D. (2009). Electricity generation from biotreatment of sewage sludge with microbial fuel cell. *Bioresource Technology*. 100: 5808-5812.
- Jung S., Mench M. M., Regan J. M. (2011). Impedance characteristics and polarization behavior of a microbial fuel cell in response to shortterm changes in medium pH. *Environmental Science Technology*. 45:9069–9074.
- Karthikeyan R, Selvam A, Cheng K Y, Wong J W. (2016). Influence of ionic conductivity in bioelectricity production from saline domestic sewage sludge in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 200: 845–852.
- Katuri K., Scott K., Head I., Picioreanu C., Curtis T. (2011). Microbial fuel cell meet with external resistance. *Bioresource Technology*. 102: 2758-2766.
- Kim HJ, Park HS, Hyun MS, Chang IS, Kim M, Kim BH. (2002) A mediatorless microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme Microbial Technology*. 30:145–52.
- Kim B. H., Kim H.J., Hyun M.S., Park D.H. (1999). Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 9:127–131.
- Kim J. R., Cheng S., Oh S. E., Logan, B. E. (2007). Power generation using different cation, anion, and ultrafiltration membranes in microbial fuel cells. *Environmental science & technology*. 41(3): 1004-1009.

- Kyoung-Yeol K., Wung Y., Logan B. E. (2015). Impact of electrode configurations on retention time and domestic wastewater treatment efficiency using microbial fuel cells. *Water research*. 80: 41-46.
- Larrosa-Guerrero A., Scott K., Head I. M., Mateo F., Ginesta A., Godinez C. (2010). Effect of temperature on the performance of microbial fuel cells. *Fuel*. 89: 3985-3994.
- Lepage G., Albernaz F.O., Perrier G., Merlin G. (2012). Characterization of a microbial fuel cell with reticulated carbon foam electrodes. *Bioresource Technology*. 124: 199-207.
- Li C., Ding L., Cui H., Zhang L., Xu K., Ren H. (2012). Application of conductive polymers in biocathode of microbial fuel cells and microbial community. *Bioresource Technology*. 116:459-465.
- Li C., He W., Liang D., Tian Y., Shankar R., Li D., Liu J., Feng Y. (2021). The anaerobic and starving treatment eliminates filamentous bulking and recovers biocathode biocatalytic activity with residual organic loading in microbial electrochemical system. *Chemical Engineering Journal*. 404: 127072.
- Li Y., Styczynski J., Huang Y., Xu Z., McCutcheo J., Li, B. (2017). Energy-positive wastewater treatment and desalination in an integrated microbial desalination cell (MDC)-microbial electrolysis cell (MEC). *Journal of Power Sources*, 356: 529-538.
- Li W, Zhang S, Chen G, Hua Y. (2014). Simultaneous electricity generation and pollutant removal in microbial fuel cell with denitrifying biocathode over nitrite. *Applied Energy*. 126:136-41.
- Liew, K. B., Daud, W. R. W., Ghasemi, M., Leong, J. X., Lim, S. S., & Ismail, M. (2014). Non-Pt catalyst as oxygen reduction reaction in microbial fuel cells: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*. 39(10): 4870-4883.
- Liu H., Cheng S., Logan B. E. (2005). Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber Microbial Fuel Cell. *Environmental Science Technology*. 39:658-662.
- Liu, Y., Fang, H.H., (2003). Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling, and dewatering of activated sludge. *Environmental Science and Technology*. 33 (3): 237-273.

- Logan B. E., Hamelers B., Rozendal R., Schroder U., Keller J., Freduia S., Aelterman P., Verstraete W., Rabaer K. (2006). Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, 40(17): 5181-5192.
- Logan, B. E. (2008). *Microbial fuel cells*. John Wiley & Sons.
- Logan B.E., Cheng S.A., Watson V., Estadt G. (2007). Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environmental Science Technology*. 41: 3341–3346.
- Lovley D.R., Holmes D.E., Nevin K.P. (2004). Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction. *Advances in Microbial Physiology*. 49:219-86.
- Lower, S.K., Hochella, M.F. and Beveridge, T.J. (2001) Bacterial recognition of mineral surfaces: nanoscale interactions between *Shewanella* and α -FeOOH. *Science*. 292(5520):1360-1363.
- Lubello C., Caretti C., Gori R. (2002). Comparison between PAA/UV and H₂O₂/UV disinfection for wastewater reuse. *Water Science and technology: water supply*. 2(1): 205-212.
- Macêdo L. P. R., Dornelas A. S. P., Vieira M. M., de Jesus Ferreira J. S., Sarmiento R. A., Cavallini G. S. (2019). Comparative ecotoxicological evaluation of peracetic acid and the active chlorine of calcium hypochlorite: Use of *Dugesia tigrina* as a bioindicator of environmental pollution. *Chemosphere*. 233:273-281.
- Malhotra R. Fossil energy: introduction. *Fossil Energy*. Encyclopedia of Sustainability Science and Technology Series-New York, NY: Springer; 2020;1-4. https://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9763-3_920.
- Malvankar N. S., Mester T., Tuominen M. T., Lovely D. R. (2012). *ChemphysChem*. 13: 463-468.
- Marsili E., Baron D. B., Shikhare I. D., Coursolle D., Gralnick J. A., Bond D. R. (2008). *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 105 (10): 3968-3973.
- Martin E., Savadogo O., Guiot S. R., Tartakovsky B. (2010). The influence of operational conditions on the performance of a microbial fuel cell seeded with mesophilic anaerobic sludge. *Biochemical Engineering Journal*. 51(3): 132–139.

- Mateo S., D'Angelo A., Scialdone O., Cañizares P., Rodrigo M. A., Fernandez-Morales F.J. (2017). The influence of sludge retention time on mixed culture microbial fuel cell start-ups. *Biochemical Engineering Journal*. 123:38-44.
- Meng F., Zhao Q., Zhen Z., Wei L., Wang K., Jiang J., Ding J., Na X. (2019). Simultaneous sludge degradation, desalination and bioelectricity generation in two-phase microbial desalination cells. *Chemical Engineering Journal*. (361): 180-188.
- Michie I., Dinsdale R., Guwy A. J., Premier G. C. (2020). Electrogenic biofilm development determines charge accumulation and resistance to pH perturbation. *Energies*. 13: 3521.
- Mikawlawng k. (2016). Chapter 18-Aspergillus in biomedical research. En V. Gupta (Ed.) *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 229-242). Elsevier.
- Milner E., Popescu D., Curtis T., Head I., Scott K., Yu E. (2016) Microbial fuel cells with highly active aerobic biocathodes. *Journal of Power Sources*. 324:8-16.
- Min B., Angelidaki. (2008). Innovative microbial fuel cell for electricity production from anaerobic reactors. *Journal of Power Sources*. 180: 641-647.
- Mohan V. S., Varjani S., Pandey A. (2019). *Microbial electrochemical technology*. 1era edición: Elsevier. Amsterdam, Netherlands.
- Nevin K. P., Woodard T. L., Franks A. E., Summers Z. M., Lovely D. R (2010). Microbial electrosynthesis: feeding microbes electricity to convert carbon dioxide and water to multicarbon extracellular organic compounds. *mBio*. 1: 103-110.
- Nor M. H. M., Mubarak M.F.M., Elmi H. S. A., Ibrahim N., Wahab M. F. A., Ibrahim Z. (2015). Bioelectricity generation in microbial fuel cell using natural microflora and isolated pure culture bacteria from anaerobic palm oil mill effluent sludge. *Bioresource Technology*. 190:458–65.
- Oh S.E., Logan B. E. (2006) Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 70:162-169.
- Oh S. E., Kim J. R., Joo J.-H., Logan B. E. (2009). Effects of applied voltages and dissolved oxygen on sustained power generation by microbial fuel cells. *Water Science & Technology*. 60(5): 1311-1317.

- Oh S. E., Yoon J. Y., Gurung A., Kim D. J. (2014). Evaluation of electricity generation from ultrasonic and heat/alkaline pretreatment of different sludge types using microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 165: 21–26.
- Olias L., Zhang Y., Kongjan P., Angelidaki I. (2011). Submersible microbial fuel cell for electricity production from sewage sludge. *Water Science and Technology*. 64: 50-55.
- Oliveira V. B., Simões M., Melo L. F., Pinto A. M. F. R. (2013). Overview on the developments of microbial fuel cells. *Biochemical Engineering Journal*. 73: 53-64.
- Ouitrakul S., Sriyudthsak M., Charojrochkul S., Kakizono T. (2007). Impedance analysis of bio-fuel cell electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*. 23(5):721-727.
- Pacheco V. F., Jáuregui B., Pavón T., Mejía G. (2003). Control del crecimiento de microorganismos filamentosos en una planta de tratamiento de aguas residuales industriales. *Revista internacional de contaminación Ambiental*. 19 (1): 47-53.
- Pandey P., Shinde V. N., Deopurkar R. L., Kale S. P., Patil S. A. (2016) Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Applied Energy*. 168: 706-723.
- Pant D., Bogaert G.V., Diels L., Vanbroekhoven K. (2009) A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*. 101:1533–1543.
- Park D.H., Zeikus J.G. (2000) Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Applied Environmental Microbiology*. 66:1292–1297.
- Park H. S., Kim B. H., Kim H. S., Kim G. T., Kim M., Chang I.S., Park Y. K., Chang H. I. (2001) A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*. 7(6): 297-306.
- Parra H. A. (2015). Digestión anaerobia: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, 10(2): 142-159.
- Patil S. A., Harnisch F., Kapadnis B., Schröder U. (2010). Electro active mixed culture biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of temperature for biofilm formation and performance. *Biosensors and Bioelectronics*. 26:803–808.

- Patil S.A., Harnisch F., Koch C., Hübschmann T., Fetzner I., Carmona-Martínez A. A, Müller S., Schröder U. (2011). Electroactive mixed culture derived biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of pH on biofilm formation, performance and composition. *Bioresource Technology*. 102:9683–9690.
- Prandota Trzcinski, A., Ganda, L., Soh, Y. A., Kunacheva, C., Dong Qing, Z., Leonard Lin, L., Jern Ng, W. (2016). Identification of Recalcitrant Compounds in a Pilot-Scale AB System: An Adsorption (A) Stage Followed by a Biological (B) Stage to Treat Municipal Wastewater. *Bioresource Technology*, 206, 121-127.
- Qiao S., Tian T., Qi B., Zhou J. (2015). Methanogenesis from wastewater stimulated by addition of elemental manganese. *Scientific reports*. 5(1): 1-10.
- Rabaey K., Verstraete W. (2005) Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in biotechnology*. 23: 291-298.
- Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M. and Verstraete, W. (2004) Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied Environmental Microbiology*. 70(9):5373-5382.
- Revelo, D. M., Hurtado, N. H., Ruiz, J. O. (2013). Celdas de combustible microbianas (CCMS): Un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica. *Información tecnológica*. 24(6):17-28.
- Revelo D. M., Hurtado N. H., Ruiz J. O., Pabón L. V., Ordóñez L. A. (2019) Bacterial diversity in the Cr(VI) reducing biocathode of a Microbial Fuel Cell with salt bridge. *Revista argentina de microbiología*. 51 (2): 110-118.
- Rinaldi A., Mecheri B., Gavaglia V., Nardo P., Traversa E. (2008). Engineering materials and biology to boost performance of microbial fuel cells: a critical review. *Energy Environmental Science*. 1: 417-429.
- Ringeisen, B. R., Ray, R., Little, B. (2007). A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber. *Journal of Power Sources*. 165:591–597.
- Roman, H.J., Burgess, J.E., Pletschke, B.I., (2006). Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge. *African Journal of Biotechnology*. 5 (10): 963–967.
- Roychoudhury, Atun. (2019). Re: What are the reasons of the increase in pH after the anaerobic reactors? Retrieved from:

[https://www.researchgate.net/post/What are the reasons of the increase in pH after the anaerobic reactors/5c57d4fe36d235632057fcf4/citation/download](https://www.researchgate.net/post/What_are_the_reasons_of_the_increase_in_pH_after_the_anaerobic_reactors/5c57d4fe36d235632057fcf4/citation/download).

- Rusli S. F. N., Bakar M. H. A., Loh K. S., Mastar M. S. (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*. 44:30772-30787.
- Samsudeen N., Radhakrishnan T.K., Matheswaran M. (2015). Bioelectricity production from microbial fuel cell using mixed bacterial culture isolated from distillery wastewater. *Bioresource Technology*. 195:242–7.
- Santoro C., Guilizzone M., Correa J. P., Pasaogullari U., Casalegno A., Li B., Babanova S., Artyushkova K., Atanassov P. (2014). The effects of carbon electrode surface properties on bacteria attachment and start up time of microbial fuel cells. *Carbon*. 67:128-139.
- Santoro C., Li B., Cristiani P., Squadrito G. (2013). Power generation of microbial fuel cells (MFCs) with low cathodic platinum loading. *International Journal of Hydrogen Energy*. 38:692–700.
- Santos J. B. C., Barros V. V. S., Linares J. J. (2017) The Hydraulic retention time as a key parameter for the performance of a cyclically fed glycerol-based microbial fuel cell from biodiesel. *Journal of the electrochemical society*. 164(3); H3001-H3006.
- Scott K. y Yu E. H. (2015). *Microbial electrochemical and fuel cells: fundamentals and applications*. Woodhead Publishing.
- Serment J.H., Lara E.A., Becerril K., Suárez S., Ramírez N. (2017). Detección y aislamiento de microorganismos exoelectrógenos a partir de lodos del río Lerma, Estado de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 33 (4): 617-628. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v33n4/0188-4999-rica-33-04-617.pdf>
- Sharma, S., Mukhopadhyay, M., Murthy, Z.V.P. (2014). UV/peroxyacetic acid mediated chlorophenol congener degradation. *Clean - Soil, Air, Water*. 42: 276–283.

- Shi L., Squier T.C., Zachara J. M., Fredrickson J.K. (2007). Respiration of metal (hydr)oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: a key role for multihaem c-type cytochromes. *Molecular Microbiology*. 65 (1): 12-20.
- Song T., Yan Z., Zhao Z., Jiang H. (2010). Removal of organic matter in freshwater sediment by microbial fuel cells at various external resistances. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 85: 1489-1493.
- Sun G., Thygesen A., Ale M. T., Mensah M., Poulsen F. W., Meyer A. S. (2014). The significance of the initiation process parameters and reactor design for maximizing the efficiency of microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98: 2415-2427.
- Sund C.J., McMasters S., Crittenden S.R., Harrell L.E., Sumner J.J., (2007). Effect of electron mediators on current generation and fermentation in a microbial fuel cell. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 76:561–568.
- Sure S., Ackland M.L., Torriero A. A. J., Adholeya A., Kochar M. (2016). Microbial nanowires: an electrifying tale. *Microbiology*. 162:2017–2028.
- Terán M. C. (2016). Estudio de la aplicación de procesos de oxidación avanzada a aguas contaminadas. [Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química. Universidad Politécnica de Cataluña].
- https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/88273/01_TFG.pdf
- Tursun H., Liu R., Abro R., Wang X., Gao Y., Li Y. (2016). Carbon material optimized biocathode for improving Microbial Fuel Cell performance. *Frontiers in microbiology*. 7(21): 6.
- Valenzuela E. E. (2006). *Estudio de la interfase electrodo/electrolito de una celda de combustible tipo PEM mediante espectroscopía de impedancia*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio UNAM.
- Velvizhi G, Venkata Mohan S. (2012). Electrogenic activity and electron losses under increasing organic load of recalcitrant pharmaceutical wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*. 37:5969–78.
- Verma J., Kumar D., Singh N., Katti S. S. Shan Y. T. (2021). Electricigens and microbial fuel cells for bioremediation and bioenergy production: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 19:2091-2126.

- Veschetti, E., Cutilli, D., Bonadonna, L., Briancesco, R., Martini, C., Cecchini, G., y Ottaviani, M. (2003). Pilot-plant comparative study of peracetic acid and sodium hypochlorite wastewater disinfection. *Water research*, 37(1): 78-94.
- Vicari F., Asensio Y., Marchante C. M., Lobato J., Cañizares P., Scialdone O., Rodrigo M. A. (2018). Influence of the initial sludge characteristics and acclimation on the long-term performance of double-compartment acetate-fed microbial fuel cells. *Journal of electroanalytical chemistry*. 825: 1-7.
- Wang X., Cheng S., Feng, Y., Merrill M.D., Saito T., Logan B. (2009). Use of carbon mesh anodes and the effect of different pretreatment methods on power production in microbial fuel cells. *Environmental Science Technology*. 43: 6870–6874.
- Wang Z., Ma J., Xu Y., Yu H., Wu Z. (2013). Power production from different types of sewage sludge using microbial fuel cells: a comparative study with energetic and microbiological perspectives. *Journal of Power Sources*. 235: 280-288.
- Wang Z., Zheng Y., Xiao Y., Wu S., Wu Y., Yang Z. (2013). Analysis of oxygen reduction and microbial community of air-diffusion biocathode in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 144:74-79.
- Watanabe K., Manefield M., Lee M., Kouzuma, A., (2009). Electron shuttles in biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*. 20:633–641.
- Wawrzynczyk, J., Recktenwald, M., Norrflow, O., Dey, E.S., (2008). The function of cation-binding agents in the enzymatic treatment of municipal sludge. *Water Research*. 42 (6–7), 1555–1562.
- Wei J., Liang P., Cao X., Huang X. (2011). Use of inexpensive semicoke and activated carbon as biocathode in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 102: 10431-10435.
- Wrighton, K. C. Agbo P., Warnecke F., Brodie E.L., DeSantis T.Z., Hugenholtz P., Andersen G.L., Coates J.D. (2008) A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells. *International Society for Microbial Ecology Journal*. 2: 1146–1156.
- Wu W., Tian D., Liu T., Chen J., Huang T., Zhou X., Zhang Y., 2020. Degradation of organic compounds by peracetic acid activated with Co_3O_4 : a novel advanced

oxidation process and organic radical contribution. *Chemical Engineering Journal*. 394.

Xin X., Hong J., He J., Qiu W. (2019). An integrated approach for waste activated sludge management towards electric energy production/resource reuse. *Bioresource Technology*. 274: 225-231.

Xing, D., Zuo, Y., Cheng, S., Regan, J. M., Logan, B. E. (2008) Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1. *Environmental Science Technology*. 42:4146–4151.

Yang F. Ren L., Pu Y., Logan B. (2013). Electricity generation from fermented primary sludge using single-chamber air-cathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 128: 784-787.

Yang Q., Luo K., Li X., Wang D., Zheng W., Zeng G., Liu J. (2010). Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes. *Bioresource technology*. 101: 2924-2930.

Yin Y., Liu Y., Meng S., Kiran E., Liu Y. (2016). Enzymatic pretreatment of activated sludge, food waste and their mixture for enhanced bioenergy recovery and waste volume reduction via anaerobic digestion. *Applied Energy*. 179: 1131-1137.

Yusoff M., Hu A., Feng C., Maeda T., Shirai Y., Hassan A., Yu Chang-Ping. (2013). Influence of pretreated activated sludge for electricity generation in microbial fuel cell application. *Bioresource Technology*. 145: 90-96.

You S.J., Ren N.Q., Zhao Q.L., Wang J.Y., Yang F.-L. (2009). Power generation and electrochemical analysis of biocathode microbial fuel cell using graphite fibre brush as cathode material. *Fuel Cells*. 9:588–596.

Yu S. Zhang G., Li J., Zhao Z. Kang X. (2013). Effect of endogenous hydrolytic enzymes pretreatment o the anaerobic digestion of sludge. *Bioresource Technology*. 146: 758-761.

Yu H., Kabutey F., Ding J. (2017). Microbial fuel cell with high content solid wastes as substrates: a review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 11 (2): 13.

Zhang L., Fu G., Zhang Z. (2019). Simultaneous nutrient and carbon removal and electricity generation in self-buffered biocathode microbial fuel cell for high-salinity mustard tuber wastewater treatment. *Bioresource technology*. 272: 105-113.

- Zhang G., Zhao Q., Jiao Y., Wang K., Lee D., Ren. (2012). Efficient electricity generation from sewage sludge using biocathode microbial fuel cell. *Water research*. 46:43-52.
- Zhang G., Wang K., Zhao Q., Jiao Y., Lee D. (2012b). Effect of cathode types on long-term performance and anode bacterial communities in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 118:249-256.
- Zhang G., Zhao Q., Jiao Y., Zhang J., Jiang J., Ren N. (2011) Improved performance of microbial fuel cell using combination biocathode of graphite fiber brush and graphite granules. *Journal of Power Sources*. 196: 6036-6041.
- Zhang X. Miao X., Li J., Li Z. (2019). Evaluation of electricity production from Fenton oxidation pretreated sludge using a two-chamber microbial fuel cell. *Chemical Engineering Journal*. 361: 599-608.
- Zhang Y., Jiang J, Zhao Q, Wang K, Yu H (2018) Analysis of functional genomes from metagenomes: revealing the accelerated electron transfer in microbial fuel cell with rhamnolipid addition. *Bioelectrochemistry* 119:59–67.
- Zhang Y., Mo G., Li X., Zhang W., Zhang J., Ye, J., Huang X., Yu C. (2011). A graphene modified anode to improve the performance of microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*. 196: 5402–5407.
- Zhang Y., Sun J., Hu Y., Li S., Xu Q. (2012). Bio-cathode materials evaluation in microbial fuel cells: A comparison of graphite felt, carbon paper and stainless steel mesh materials. *International journal of hydrogen energy*. 37:16935-16942.
- Zhang Y.X., Zhang P.Y., Guo J.B., Ma W.F., Fang W., Ma B.Q. (2013). Sewage sludge solubilization by high-pressure homogenization. *Water Science Technology*. 67:2399–405.
- Zhang Y., Li L., Kong X., Zhen F., Wang Z., Sun Y., Dong P., Lv P. (2017). Inhibition effect of sodium concentrations on the anaerobic digestion performance of Sargassum Species. *Energy fuels*. 31: 7101-7109.
- Zhang Y., Zhao Y., Guo L., Gao M. (2019). Two-stage pretreatment of excess sludge for electricity generation in microbial fuel cell. *Environmental Technology*. 40(11): 1349-1358.

- Zhao F., Slade R. C. T., Varcoe J. R. (2008) Techniques for the study and development of microbial fuel cells: an electrochemical perspective. *Chemical Society Reviews*, 38(7):1926-1939.
- Zhao Q., Yu H., Zhang W., Tetteh F., Jiang J., Zhang Y., Wang K., Ding J. (2017). Microbial fuel cell with high content solid waste as substrates: a review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 11(2), 13.
- Zhen GY, Kobayashi T, Lu XQ, Kumar G, Xu KQ. (2016). Biomethane recovery from *Egeria densa* in a microbial electrolysis cell-assisted anaerobic system: performance and stability assessment. *Chemosphere*.149:121–9.
- Zhen G., Lu X., Kato H., Zhao Y., Li Y. (2017). Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives. *Renewable and sustainable energy reviews*. 69: 559-577.
- Zuo, Y., Xing, D., Regan, J. M. y Logan, B. E. (2008). Isolation of the exoelectrogenic bacterium *Ochrobactrum anthropi* YZ-1 by using a U-tube microbial fuel cell. *Applied Environmental Microbiology*. 74:3130–3137.

9. Anexos

Anexo 1: Cálculo de la cantidad de reactivo empleada respecto a cada dosis y sus resultados.

Para calcular la cantidad de enzima y ácido peracético (APA) que se aplicó en las pruebas preliminares, se emplearon las siguientes fórmulas con análisis dimensional, tomando en cuenta que el volumen del lodo a pretratar fue de 0.1L, la concentración inicial de los lodos fue de 16 g ST/L y la densidad del ácido peracético es de 1.12g/mL.

$$mg \text{ de enzima} = \left(\frac{mg \text{ enzima}}{gST} \right) \left(\frac{16 gST}{L} \right) \left(\frac{0.1L}{1} \right)$$

$$mL \text{ de APA} = \left(\frac{mgAPA}{gST} \right) \left(\frac{16gST}{L} \right) \left(\frac{0.1L}{1} \right) \left(\frac{1L}{1120mg} \right) \left(\frac{1mL}{1} \right)$$

Concentración de enzima (mg/ g ST)	mg de enzima empleados
30	48
60	96
90	144
120	192
150	240
180	288
210	336

Concentración APA (mg/gST)	mL de APA empleados
0.025	0.0357143
0.05	0.0714286
0.1	0.1428571
0.15	0.2142857
0.2	0.2857143
0.25	0.3571429
0.3	0.4285714

Anexo 2: Ficha técnica de membrana Nafion™ N117 empleada en experimentos.



Product Specification

42180 Nafion® N-117 membrane, 0.180mm thick, ≥0.90 meq/g exchange capacity

Product Number: 42180
CAS number: 31175-20-9
MDL number: MFCD00132790
Molecular formula: $R_f[OCF_2CF(CF_3)_2]_nOCF_2CF_2SO_3H$

Product Specification

Form: Solid membrane (Nafion®) N-117, 0.180mm thick.
Assay from Supplier's CofA: ≥0.90 meq/g exchange capacity.
Assay from Supplier's CofA: Density = 1.98

Date of Print: January 19, 2022
Version: 1

Product Specifications are subject to amendment and may change over time.

Anexo 3: Resultados de experimentos preliminares: DQOs, DQOs/DQOt, SST, SSV, Ácido acético y Ácido propiónico.

Enzima a-amilasa						
Dosis mg/g ST	DQOs (mgO₂/L)	DQOs/DQOt	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	A. Acético (mg/L)	A. Propiónico (mg/L)
0	854.42	0.04	14475.00	11212.50	3.52	0.00
30	1315.72	0.06	14362.50	11050.00	297.42	0.00
60	1623.11	0.08	14775.00	11337.50	352.02	0.00
90	2120.46	0.10	14862.50	11675.00	522.98	22.58
120	2512.08	0.12	14912.50	11656.25	637.30	0.00
150	2882.30	0.14	15025.00	12200.00	741.79	47.04
180	3284.45	0.15	15437.50	12300.00	980.14	15.66
210	3373.74	0.15	15137.50	12212.50	1247.39	68.44

Ácido Peracético						
Dosis mg/g ST	DQOs (mgO₂/L)	DQOs/DQOt	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	A. Acético (mg/L)	A. Propiónico (mg/L)
0	375.48	0.02	14337.50	11050.00	28.35	0.00
25	385.13	0.02	14150.00	11093.75	47.27	0.00
50	463.55	0.03	13987.50	10937.50	33.06	17.57
100	1261.96	0.08	13856.25	10868.75	259.95	0.00
150	1744.14	0.10	14025.00	10950.00	290.23	13.91
200	2017.77	0.12	13675.00	10687.50	616.95	37.80
250	2751.75	0.16	14012.50	10900.00	528.36	11.70
300	2403.50	0.14	14200.00	11125.00	590.64	9.16

Anexo 4: Resultados de medición de DQO soluble que aportan por sí mismos la enzima y el ácido peracético.

Enzima α-amilasa	
Dosis (mg/g ST)	DQO (mg O₂/L)
30	261.66
60	560.31
90	803
120	1120
150	1308
180	1621
210	1931

Ácido Peracético	
Dosis (mg/ g ST)	DQO (mg O₂/L)
25	140.15
50	253.19
100	435.82
150	638.44
200	787.26
250	1150.41
300	1318.14

Anexo 5a: Resultados producción de energía fase 1.

		Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA 200 ng/ gST		APA 250 mg/ g ST	
		R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
Ciclo 1											
	Voltaje max (mV)	367.3	264.5	563.2	563.2	651.4	636.8	558.3	499.5	592.6	573.0
	Corriente max (mA)	3.7	2.6	5.6	5.6	6.5	6.4	5.6	5.0	5.9	5.7
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	2.5	1.8	3.9	3.9	4.5	4.4	3.8	3.4	4.1	3.9
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	0.924	0.479	2.173	2.17	2.90	2.778	2.135	1.709	2.406	2.249
	Eficiencia Coulómbica (%)	8.4%	9.5%	13.1%	16.5%	16.3%	17.0%	15.5%	12.0%	17.1%	14.7%
Ciclo 2											
	Voltaje max (mV)	538.7	519.1	626.9	602.4	568.1	715.0	176.1	406.5	342.9	230.2
	Corriente max (mA)	5.4	5.2	6.3	6.0	5.7	7.2	1.8	4.1	3.4	2.3
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	3.7	3.6	4.3	4.1	3.9	4.9	1.2	2.8	2.3	1.6
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	1.98	1.846	2.69	2.486	2.21	3.50	0.21	1.132	0.8057	0.363
	Eficiencia Coulómbica (%)	27.9%	17.6%	9.7%	7.1%	10.8%	10.7%	8.5%	15.0%	8.0%	12.1%
Ciclo 3											
	Voltaje max (mV)	303.64	509.34	479.95	563.21	553.51	563.21	259.57	337.92	235.08	284.05
	Corriente max (mA)	3.03	5.09	4.79	5.63	5.53	5.63	2.59	3.37	2.35	2.84
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	2.081	3.490	3.289	3.859	3.793	3.859	1.779	2.315	1.611	1.946
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	0.632	1.778	1.578	2.173	2.099	2.173	0.462	0.782	0.379	0.553
	Eficiencia Coulómbica (%)	9.71%	15.78%	17.09%	15.35%	11.16%	11.32%	6.45%	6.40%	7.67%	19.32%
Ciclo 4											
	Voltaje max (mV)	244.87	651.36	269.36	269.36	259.57	254.67	244.87	264.46	249.77	244.87
	Corriente max (mA)	2.45	6.51	2.69	2.69	2.60	2.55	2.45	2.64	2.50	2.45
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	1.68	4.46	1.85	1.85	1.78	1.74	1.68	1.81	1.71	1.68
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	0.41	2.91	0.50	0.50	0.46	0.44	0.41	0.48	0.43	0.41
	Eficiencia Coulómbica (%)	5.39%	5.09%	3.78%	4.19%	3.73%	4.24%	3.89%	3.86%	4.71%	3.78%
Ciclo 5											
	Voltaje max (mV)							225.28	284.05	259.57	279.16
	Corriente max (mA)							2.25	2.84	2.60	2.79
	Densidad de Corriente (mA/m ²)							1.54	1.95	1.78	1.91
	Densidad de Potencia (mW/m ²)							0.348	0.553	0.462	0.534
	Eficiencia Coulómbica (%)							4.84%	5.97%	2.98%	3.34%

Anexo 5b: Resultados producción de energía fase 2.

		Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA 200 mg/ g ST		APA 250 mg/ g ST	
<i>Ciclo 1s</i>		R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
	Voltaje max (mV)	191.00	284.05	254.67	230.18	274.26	435.87	254.67	254.67	313.44	303.64
	Corriente max (mA)	1.91	2.84	2.55	2.30	2.74	4.36	2.55	2.55	3.13	3.04
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	1.31	1.95	1.74	1.58	1.88	2.99	1.74	1.74	2.15	2.08
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	0.25	0.55	0.44	0.36	0.52	1.30	0.44	0.44	0.67	0.63
	Eficiencia Coulómbica (%)	2.2%	5.8%	4.5%	3.9%	3.7%	3.2%	4.1%	5.4%	5.5%	5.3%
<i>Ciclo 2s</i>											
	Voltaje max (mV)	279.16	279.16	239.98	239.98	244.87	308.54	225.28	254.62	259.57	244.87
	Corriente max (mA)	2.79	2.79	2.40	2.40	2.45	3.09	2.25	2.55	2.60	2.45
	Densidad de Corriente (mA/m ²)	1.91	1.91	1.64	1.64	1.68	2.11	1.54	1.74	1.78	1.68
	Densidad de Potencia (mW/m ²)	0.53	0.53	0.39	0.39	0.41	0.65	0.35	0.44	0.46	0.41
	Eficiencia Coulómbica (%)	3.4%	3.4%	4.4%	6.9%	5.7%	4.4%	3.2%	4.4%	3.7%	3.1%

Anexo 6a: Resultados de remoción de materia orgánica en CCM primera fase

	Reactor Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA 200 mg/ gST		APA 250 mg/ gST	
	R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
Ciclo 1										
SST influente (mg/L)	15400		15800		15775		15375		14400	
SST efluente	8650	12100	10600	11600	11375	11200	10025	10550	11075	10425
% Remoción SST	43.8%	21.4%	32.9%	26.6%	27.9%	29.0%	34.8%	31.4%	23.1%	27.6%
SSV influente	11750		12000		11925		11650		10925	
SSV efluente	6700	9150	7650	8475	8325	8150	7775	7950	8375	7825
% Remoción SSV	43.0%	22.1%	36.3%	29.4%	30.2%	31.7%	33.3%	31.8%	23.3%	28.4%
DQOt influente	19635.2		21537.6		22093.6		20851.8		21410	
DQOt efluente	11503.8	14447.6	12764.7	14559.4	13923.2	14433	14123.6	13069.1	14934.1	14132.7
% Remoción DQOt	41.4%	26.4%	40.7%	32.4%	37.0%	34.7%	32.3%	37.3%	30.2%	34.0%
DQOs influente	1799.88		3032.9		3473.5		3154.175		3478.2	
DQOs efluente	636.62	873.34	786.635	862.35	796.125	1647.04	1833.02	1540	1355.57	1537.18
% Remoción DQOs	64.6%	51.5%	74.1%	71.6%	77.1%	52.6%	41.9%	51.2%	61.0%	55.8%
Ciclo 2										
SST influente (mg/L)	15650		14000		14550		15625		16175	
SST efluente	15100	13750	11675	9225	13425	12600	14600	14725	13850	14650
% Remoción SST	3.5%	12.1%	16.6%	34.1%	7.7%	13.4%	6.6%	5.8%	14.4%	9.4%
SSV influente	11050		10425		11150		11350		11125	
SSV efluente	10800	9650	8775	7050	9825	9250	10025	10200	9350	9825
% Remoción SSV	2.3%	12.7%	15.8%	32.4%	11.9%	17.0%	11.7%	10.1%	16.0%	11.7%
DQOt influente	18170.9		21694.8		22109.8		18530.8		17505.4	
DQOt efluente	17894.8	15674	14848.05	12844.2	17067	15084.4	16476.9	16289.1	14540.5	15938.6
% Remoción DQOt	1.5%	13.7%	31.6%	40.8%	22.8%	31.8%	11.1%	12.1%	16.9%	9.0%
DQOs influente	1704.39		2910.9		3478.25		2715.525		3113.925	
DQOs efluente	916.015	1148.04	706.145	1423.93	1188.79	1356.69	1930.41	1802.49	2044.05	1981.83
% Remoción DQOs	46.3%	32.6%	75.7%	51.1%	65.8%	61.0%	28.9%	33.6%	34.4%	36.4%

	Reactor Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA 200 mg/ gST		APA 250 mg/ gST	
	R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
Ciclo 3										
SST influente (mg/L)	15950		16050		15975		15475		15350	
SST efluente	12250	12825	12325	12175	12975	13800	12900	12700	12200	14725
% Remoción SST	23.2%	19.6%	23.2%	24.1%	18.8%	13.6%	16.6%	17.9%	20.5%	4.1%
SSV influente	12150		11775		11925		11800		11475	
SSV efluente	9200	9150	9200	8750	9375	9875	9650	9400	8925	10775
% Remoción SSV	24.3%	24.7%	21.9%	25.7%	21.4%	17.2%	18.2%	20.3%	22.2%	6.1%
DQOt influente	20704.6		20163.4		21516.2		22589.6		21166.6	
DQOt efluente	17500.95	18122.85	17957.4	17505.9	17890.65	18086.85	18227.7	18038.1	17291.55	19478.55
% Remoción DQOt	15.5%	12.5%	10.9%	13.2%	16.9%	15.9%	19.3%	20.1%	18.3%	8.0%
DQOs influente	1979.775		2985.275		3267.65		2888.9		2991.45	
DQOs efluente	1261.61	770.49	1096.17	1208.95	1401.27	1425.42	1437.075	1787.895	1297.38	1507.905
% Remoción DQOs	36%	61%	63%	60%	57%	56%	50%	38%	57%	50%
Ciclo 4										
SST influente (mg/L)	24875		27262.5		26150		25675		25175	
SST efluente	19375	16775	19700	20150	20050	21900	20875	19600	21900	20487.5
% Remoción SST	22.1%	32.6%	27.7%	26.1%	23.3%	16.3%	18.7%	23.7%	13.0%	18.6%
SSV influente	18800		20000		19225		19350		18850	
SSV efluente	14725	12675	15000	15175	15150	16175	15675	14700	15900	15262.5
% Remoción SSV	21.7%	32.6%	25.0%	24.1%	21.2%	15.9%	19.0%	24.0%	15.6%	19.0%
DQOt influente	32738.25		34807.75		34778.5		33470.75		34672	
DQOt efluente	26142.8	21682	25628.2	25425.6	24337.6	26461.4	26060.8	26015.6	27510	26197.8
% Remoción DQOt	20.1%	33.8%	26.4%	27.0%	30.0%	23.9%	22.1%	22.3%	20.7%	24.4%
DQOs influente	1567.3		2900.82		3609.06		2528.46		2602.05	
DQOs efluente	827.11	818.97	888.98	1016.64	749.13	751.04	831.66	1265.67	1006.485	1240.455
% Remoción DQOs	47.2%	47.7%	69.4%	65.0%	79.2%	79.2%	67.1%	49.9%	61.3%	52.3%

Anexo 6b: Resultados de remoción de materia orgánica en CCM segunda fase

	Reactor Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA200 mg/ gST		APA250 mg/ gST	
	R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
Ciclo 5										
SST influente (mg/L)	33850		30137.5		30275		29450		29150	
SST efluente	21875	21500	21950	22650	18800	23450	23350	24400	20300	19950
% Remoción SST	35.4%	36.5%	27.2%	24.8%	37.9%	22.5%	20.7%	17.1%	30.4%	31.6%
SSV influente	24837.5		21875		22400		22175		21340	
SSV efluente	16825	16300	16350	17200	14175	17100	17375	18100	15050	14900
% Remoción SSV	32.3%	34.4%	25.3%	21.4%	36.7%	23.7%	21.6%	18.4%	29.5%	30.2%
DQOt influente	34100.25		37214.25		36731.75		37481		36279.25	
DQOt efluente	27466.6	27626.4	28841	30640	24555.2	28507.6	31692	32266.8	25211	26434.8
% Remoción DQOt	19.5%	19.0%	22.5%	17.7%	33.1%	22.4%	15.4%	13.9%	30.5%	27.1%
DQOs influente	745.28		1922.79		2357.88		1736.345		2003.845	
DQOs efluente	715.025	858.515	1285.99	1519.145	1662.35	1861.875	896.43	688.85	869.95	696.92
% Remoción DQOs	4.1%	-15.2%	33.1%	21.0%	29.5%	21.0%	48.4%	60.3%	56.6%	65.2%
Ciclo 1s										
SST influente (mg/L)	23550		21675		24875		21775		21350	
SST efluente	16562.5	17275	18175	19187.5	19050	17075	12075	13200	11425	11975
% Remoción SST	29.7%	26.6%	16.1%	11.5%	23.4%	31.4%	44.5%	38.2%	44.4%	42.9%
SSV influente	17825		16250		18150		16275		15525	
SSV efluente	12562.5	12825	12950	13500	13675	12000	12075	13200	11425	11975
% Remoción SSV	29.5%	28.1%	20.3%	16.9%	24.7%	33.9%	25.8%	18.6%	26.4%	25.1%
DQOt influente	27098		29828.75		32072		27317.25		29728.25	
DQOt efluente	23094.6	22579.4	22952.8	22725.4	22672	21156.4	20077.4	24137.6	21447.2	21124.2
% Remoción DQOt	14.8%	16.7%	23.1%	23.8%	29.3%	34.0%	26.5%	18.8%	22.9%	22.5%
DQOs influente	624.5		1804.41		2422.56		582.11		1727.325	
DQOs efluente	460.57	657.225	575.795	605.82	484.005	627.57	668.97	740.63	691.165	651.755
% Remoción DQOs	26.2%	-5.2%	68.1%	66.4%	80.0%	74.1%	-14.9%	57.1%	64.1%	67.1%

Ciclo 2s	Reactor Control		Enzima 90 mg/ gST		Enzima 120 mg/ gST		APA200 mg/ gST		APA250 mg/ gST	
	R1	R6	R2	R7	R3	R8	R4	R9	R5	R10
SST influente (mg/L)	22725		21550	22217.5	23750	22925	20800		20950	
SST efluente	19050	16525	17875	16125	17550	15825	15375	17425	16800	14875
% Remoción SST	16.17%	27.28%	17.05%	27.42%	26.11%	30.97%	26.08%	16.23%	19.81%	29.00%
SSV influente	17075		15750	16242.5	17725	16900	15850		15700	
SSV efluente	14375	12150	13000	12312.5	13075	11775	11500	13025	12400	11050
% Remoción SSV	15.8%	28.8%	17.5%	24.2%	26.2%	30.3%	27.4%	17.8%	21.0%	29.6%
DQOt influente	33312.25		27908	25996.75	26707.25	29051.75	29614		29425.5	
DQOt efluente	24966	23825.4	20785.6	22066.6	21470.2	21914	20385.8	22720.6	21043	19897.6
% Remoción DQOt	25.05%	28.48%	25.52%	15.12%	19.61%	24.57%	31.16%	23.28%	28.49%	32.38%
DQOs influente	583.6		1934.2	1996.22	2119.28	1157.35	625.15		1806.08	
DQOs efluente	540.15	494.6	474.2	539.53	479.81	508.8	502.235	535.78	506.675	618.43
% Remoción DQOs	7.45%	15.25%	75.48%	72.97%	77.36%	56.04%	19.66%	14.30%	71.95%	65.76%

Anexo 7a: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados eléctricos.

	Densidad de corriente fase 1			Densidad de corriente primeros tres ciclos		
Condición	Media	Desviación Estandar	Valor P	Media	Desviación Estandar	Valor P
Control	2.911	1.024		2.858	0.824	
E-90	3.373	0.986	0.37	3.881	0.342	0.03
E-120	3.599	1.193	0.24	4.212	0.438	0.01
APA-200	1.883	0.483	0.03	1.929	0.548	0.04
APA-250	1.821	0.251	0.02	1.812	0.294	0.03
	Densidad de potencia fase 1			Densidad de corriente primeros tres ciclos		
Condición	Media	Desviación Estandar	Valor P	Media	Desviación Estándar	Valor P
Control	1.371	0.894		1.275	0.672	
E-90	1.784	0.856	0.361	2.212	0.377	0.014
E-120	2.072	1.103	0.186	2.612	0.552	0.004
APA-200	0.547	0.288	0.038	0.580	0.327	0.046
APA-250	0.492	0.144	0.014	0.490	0.169	0.032
	Eficiencia Coulómbica fase 1			Eficiencia Coulómbica primeros tres ciclos		
Condición	Media	Desviación Estandar	Valor P	Media	Desviación Estándar	Valor P
Control	0.124	0.077		0.148	0.074	
E-90	0.109	0.054	0.645	0.131	0.040	0.639
E-120	0.107	0.048	0.594	0.129	0.030	0.576
APA-200	0.069	0.036	0.019	0.073	0.041	0.057
APA-250	0.077	0.056	0.015	0.093	0.057	0.178

Anexo 7b: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados de remoción de materia orgánica.

	Remoción DQOt			Remoción DQOs		
Condición	Media	Desviación Estándar	Valor P	Media	Desviación Estándar	Valor P
Control	0.206	0.128		0.484	0.109	
E-90	0.279	0.112	0.247	0.662	0.082	0.002
E-120	0.266	0.079	0.278	0.661	0.110	0.006
APA-200	0.221	0.090	0.795	0.451	0.121	0.577
APA-250	0.202	0.093	0.940	0.509	0.104	0.645
	Remoción SST			Remoción SSV		
Condición	Media	Desviación Estándar	Valor P	Media	Desviación Estándar	Valor P
Control	0.206	0.093		0.213	0.097	
E-90	0.264	0.055	0.148	0.263	0.063	0.244
E-120	0.188	0.075	0.673	0.208	0.069	0.906
APA-200	0.194	0.104	0.821	0.211	0.084	0.955
APA-250	0.163	0.076	0.337	0.178	0.070	0.422

Anexo 8: Resultados estadísticos de prueba t para comparación de medias de resultados eléctricos y remoción de materia orgánica para pruebas extra de lodo pretratado por sonicación y sonicación con APA 250 mg/ g ST.

	Densidad de corriente			Densidad de potencia		
Condición	Media	Desviación estándar	Valor P	Media	Desviación estándar	Valor P
APA-250	1.980	0.167		0.575	0.096	
Sonicado	1.644	0.142	0.074	0.396	0.068	0.082
APA-250+Sonicado	1.728	0.071	0.122	0.436	0.036	0.131
	Eficiencia coulombica					
Condición	Media	Desviación estándar	Valor P			
APA-250	0.043	0.013				
Sonicado	0.038	0.009	0.662			
APA-250+Sonicado	0.034	0.004	0.430			
	Remoción de SST			Remoción de SSV		
Condición	Media	Desviación estándar	Valor P	Media	Desviación estándar	Valor P
APA-250	0.373	0.074		0.278	0.024	
Sonicado	0.212	0.070	0.160	0.226	0.068	0.781
APA-250+Sonicado	0.244	0.065	0.282	0.253	0.061	0.881
	Remoción de DQOt			Remoción de DQOs		
Condición	Media	Desviación estándar	Valor P	Media	Desviación estándar	Valor P
APA-250	0.258	0.038		0.593	0.062	
Sonicado	0.272	0.056	0.226	0.170	0.038	0.000
APA-250+Sonicado	0.304	0.028	0.065	0.689	0.044	0.077