



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ZARAGOZA**

**Puesta en marcha de una celda microbiana de  
biocombustible**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**Ingeniero químico**

**P R E S E N T A:**

**Rogelio Quiñones Martínez**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dra. Alejandra Castro González**

**México, D.F., 2015**





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES "ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
ESCOLAR  
PRESENTE.**

Comunico a usted que al alumno(a) Quiñones Martínez Rogelio con número de cuenta 409011494 de la carrera Ingeniería Química, se le ha fijado el día 26 del mes de junio de 2015 a las 15:00 horas para presentar su examen profesional, que tendrá lugar en la sala de exámenes profesionales del Campus II de esta Facultad, con el siguiente jurado:

PRESIDENTE	DR. ESTEBAN MINOR PÉREZ
VOCAL	DRA. ALEJANDRA CASTRO GONZÁLEZ*
SECRETARIO	I.Q. DOMINGA ORTIZ BAUTISTA
SUPLENTE	M. en I. CUAUHTÉMOC LAGOS CHÁVEZ
SUPLENTE	M. en I. MARÍA ESTELA DE LA TORRE GÓMEZ TAGLE

El título de la tesis que se presenta es: **Puesta en marcha de una celda microbiana de biocombustible.**

Opción de Titulación: Tesis profesional

**A T E N T A M E N T E**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
México, D. F. a 2 de junio de 2015.

**DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NUÑEZ**  
**DIRECTOR**

RECIBÍ:  
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES  
Y DE GRADO

Vo.Bo.   
I.Q. DOMINGA ORTIZ BAUTISTA  
JEFA DE LA CÁRRERA DE I.Q.



## Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por dejarme pertenecer a la comunidad universitaria para mí formación académica.

A mis abuelitos que estuvieron apoyándome, a mis hermanos que siempre formaron parte de mi motivación.

A mis tres grandes amigos Ángeles, Alfonso y Rodrigo, que estuvieron conmigo en todo esos momentos complicados brindarme su apoyo y sus consejos incondicionalmente. A Iris que sin duda siempre me has ayudado.

Al Dr. Miguel Ángel Hernández Gallegos por permitirme desarrollar mi tesis en su laboratorio sin obligación alguna, a la Dra. Alejandra Castro González por brindarme la oportunidad de desarrollar mi tesis en uno de sus proyectos, a el jurado que tomaron el tiempo para revisar mi trabajo y mejorarlo.

A mis compañeros y amigos con los que compartí muchas risas, tristezas, experiencias, pero sobre todo aprendizajes, gracias por dejarme formar parte de sus vidas

Pero sobre todo agradezco a mi madre, que siempre me apoyo para seguir superándome, mis logros son por ella gracias.



## **Jurado asignado**

PRESIDENTE: Dr. Esteban Minor Pérez  
VOCAL: Dra. Alejandra Castro González  
SECRETARIO: I.Q. Dominga Bautista Ortiz  
1er SUPLENTE: M. I. Cuauhtémoc Lagos Chávez  
2do SUPLENTE: M. I. María Estela de la Torre Gómez Tagle

### **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EN TEMA:**

Edificio Bernardo Quintana, en el Departamento de Técnicas Electroquímicas de Caracterización de Superficies y Recubrimientos por Sol Gel, Posgrado de la Facultad de Ingeniería, CU-UNAM

### **ASESORA DEL TEMA**

Dra. Alejandra Castro González

---

### **SUSTENTANTE**

Rogelio Quiñones Martínez

---



## Índice

<b>Índice de Figuras</b>	v
<b>Índice de Tablas</b>	vii
<b>Resumen</b>	ix
<b>Introducción</b>	x
<b>Objetivo general</b>	xi
<b>Objetivos específicos</b>	xi
<b>Hipótesis</b>	xi
<b>Capítulo 1. Antecedentes</b>	1
1.1. Generalidades	1
1.1.1. Celdas	1
1.1.2. Microorganismos productores de electricidad	5
1.1.3. Reacción oxido-reducción	8
<b>Capítulo 2. Fundamentos</b>	12
2.1. Celda microbiana de biocombustible	12
2.2. Funcionamiento de las celdas microbianas de biocombustible	13
2.2.1 Mecanismos de transferencia de electrones	14
2.2.2 Combustibles y fuentes de catálisis	17
2.3. Materiales de construcción de las CMB	19
2.3.1. Materiales del ánodo	19
2.3.2. Materiales del cátodo	21
2.3.3. Membrana de separación	24
2.4. Avances en México de CMB	25
2.4.1. Construcción de un CMB	25
2.4.1.1. Análisis	26
2.4.1.2. Aclimatación de la celda	26
2.4.1.3. Efecto de la concentración del sustrato	28



2.4.1.4. Generación de electricidad en medición continua	28
2.4.1.5. Generación de potencia en la CMB	29
2.4.1.6. Influencia del pH	30
2.4.1.7. Efectos de temperatura en una celda microbiana de biocombustible	31
2.5. Avances del primer mundo en las CMB	32
2.5.1. CMB primera generación	32
2.5.2. CMB de segunda generación	33
2.5.3. CMB de tercera generación	33
2.6. Aplicaciones de celdas de combustible	34
2.6.1. Configuración de celdas combustibles en automóviles	34
<b>Capítulo 3. Metodología</b>	37
3.1. Construcción de una celda microbiana de biocombustible	37
3.1.1. Materiales	37
3.2. Alimentación de la celda	48
3.2.1. Medio de cultivo	48
3.2.3. Levadura	52
3.3. Puesta en marcha de la celda microbiana de biocombustible	52
<b>Capítulo 4. Resultados</b>	55
4.1. Evaluación de la CMB	55
4.1.1. Pruebas preliminares para el crecimiento de la levadura	55
4.2. Operación de la CMB	56
4.3. Evaluación de la eficiencia de operación	71
4.4. Evaluación económica de la CMB	72
4.5. Evaluación energética y ambiental	72
<b>Capítulo 5. Conclusiones</b>	74
<b>Bibliografía</b>	75



## Índice de Figuras

Figura 1.1.	“Pila de gas”, después denominada “Pila de combustible”.	3
Figura 1.2.	Transferencia de electrones por medio de Pilis.	7
Figura 2.1.	Celda de combustible microbiano.	12
Figura 2.2.	Producción de energía en CMB	13
Figura 2.3.	Modelo metabólico de una célula del genero <i>Geobacter</i> .	14
Figura 2.4.	Clasificación de los dispositivos electroquímicos.	17
Figura 2.5.	Monolito de carbono (a), monolito de carbono con la biopelícula (b).	20
Figura 2.6.	Pasta de carbón.	23
Figura 2.7.	Aclimatación de la CMB con tres aplicaciones sucesivas de inóculo.	27
Figura 2.8.	Generación de voltaje a partir de la glucosa.	27
Figura 2.9.	Voltaje máximo obtenido a partir de la concentración de glucosa.	28
Figura 2.10.	Generación de electricidad en la etapa de medición continua, utilizando resistencias externas de 100 y 600 $\Omega$ .	29
Figura 2.11.	Generación de potencia en la CMB, empleando una resistencia de 1000 $\Omega$ (A) y una resistencia de 600 $\Omega$ (B).	30
Figura 2.12.	Efecto del pH en la densidad de potencia, con una resistencia de 1000 $\Omega$ (a) y una resistencia de 600 $\Omega$ (b).	31
Figura 2.13.	Relación de la temperatura de operación sobre la densidad de corriente, utilizando 100 y 600 $\Omega$ .	32
Figura. 3.1.	Fotografía de la celda microbiana de biocombustible utilizada para el experimento.	37
Figura. 3.2.	Cilindro de polimetilmetacrilato utilizado en el experimento.	38
Figura 3.3.	Placa de polimetilmetacrilato utilizada en el experimento.	38
Figura.3.4.	Fotografía de los materiales de construcción de la CMB experimental.	39
Figura 3.5.	Fotografía del cátodo y ánodo de papel grafito utilizados en el experimento.	39
Figura 3.6.	Fotografía del Dispositivo amplificador acoplado para la medición del experimento.	41
Figura 3.7.	Fotografía del multímetro utilizado en el experimento.	41





Figura 3.8.	Fotografía del equipo HACH sensION pH 31 utilizado en el experimento.	42
Figura 3.9.	Fotografía de calentamiento y agitación Termolyne Nuova Stir Plate que fue utilizada en el experimento.	43
Figura 3.10.	Fotografía de Bomba aireadora marca Elite 802 utilizada en el experimento.	44
Figura 3.11.	Fotografía de la estufa utilizada en el experimento.	44
Figura 3.12.	Fotografía de la mufla utilizada en el experimento.	45
Figura 3.13.	Fotografía de la balanza analítica utilizada en el experimento.	46
Figura 3.14.	Fotografía dispositivo arduino uno utilizada en el experimento.	47
Figura 3.15.	Método para determinación de solidos STV, STT, STF.	53
Figura 4.1	Procedimiento para la preparación de capsulas de porcelana a peso constante.	
Figura 4.2.	Caracterización del sustrato	56
Figura 4.3.	Fotografía donde se muestra el crecimiento de la levadura en CMB. A) Al inicio B) Después de 24 hrs.	57
Figura 4.4.	Figura 4.4. Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo durante el experimento1 experimento 1	59
Figura 4.5.	Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo en el experimento 1.	59
Figura 4.6.	Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración SVT en el experimento 1.	60
Figura 4.7.	Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo durante el experimento 2.	60
Figura 4.8.	Comportamiento de los sólidos con respecto al tiempo en el experimento 2.	61
Figura 4.9.	Comportamiento de la generación de energía y materia orgánica presente durante el experimento 2.	61
Figura 4.10.	Comportamiento de la generación de energía producida con respecto al tiempo experimento 3.	62
Figura 4.11.	Comportamiento de la generación de energía producida con respeto al tiempo experimento 4.	63



Figura 4.12.	Comportamiento de los sólidos presentes en la celda con respecto al tiempo durante el experimento 4.	63
Figura 4.13.	Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración de sólidos volátiles presentes en el experimento 4.	64
Figura 4.14.	Comportamiento de la generación de energía con el arduino y multímetro, con respecto al tiempo y los sólidos presentes durante el experimento 4.	65
Figura 4.15.	Comportamiento de la generación de energía utilizando un amplificador AD620 durante el experimento 5.	65
Figura 4.16.	Comportamiento de la concentración de los sólidos totales, fijos y volátiles, durante el experimento 5.	66
Figura 4.17.	Comportamiento de energía producida con respecto a la concentración de sólidos volátiles totales, durante el experimento 5.	67
Figura 4.18.	Comportamiento de la energía registrada con el arduino y multímetro con respecto al tiempo durante el experimento 5.	67
Figura 4.19.	Comportamiento de la concentración de sólidos en la celda durante el experimento 6.	68
Figura 4.20.	Comportamiento de la producción de energía con respecto a la concentración de los sólidos en la celda durante el experimento 6.	68
Figura 4.21.	Comportamiento de la energía registrada con el arduino con respecto al tiempo en el experimento 6.	69
Figura 4.22	Comportamiento de la producción de energía medida por el arduino y multímetro en la celda durante el experimento 6.	70
Figura 4.23	Producción de corriente eléctrica en el experimento número 6.	72



## Índice de Tablas

Tabla 1.1.	Desempeño de diferentes configuraciones en celdas de combustible microbiano tipo PEM.	2
Tabla 1.2.	Tipo de celdas de combustibles.	5
Tabla 1.3.	Microorganismos usados en las MFC's.	9
Tabla 3.1.	Características del papel grafito.	40
Tabla 3.2.	Componentes del amplificador AD620.	41
Tabla 3.3.	Multímetro marca RADOX utilizado en la experimentación.	41
Tabla. 3.4.	HACH sensION pH 31.	42
Tabla 3.5.	Características técnicas de la parrilla de calentamiento y agitación Thermolyne Nuova Stir Plate.	43
Tabla 3.6.	Características de bomba marca Elite 802.	44
Tabla 3.7.	Características de estufa usada en el experimento.	45
Tabla 3.8.	Características la mufla usada en el experimento.	46
Tabla 3.9.	Características la balanza analítica usada en el experimento.	46
Tabla 3.10.	Características del dispositivo arduino utilizado en el experimento.	47
Tabla 3.11.	Compuestos orgánicos de los principales elementos constituyentes de las células microbianas.	48
Tabla 3.12.	Características del extracto de levadura.	49
Tabla 3.13.	Características de la peptona.	50
Tabla 3.14.	Características de la Dextrosa.	51
Tabla 3.15.	Régimen de alimentación de la CMB.	53
Tabla 4.1.	Composición del sustrato.	55
Tabla 4.2	Concentración de los Solidos el sustrato.	56
Tabla 4.3.	Experimentos de la celda microbiana de biocombustible.	57
Tabla 4.4.	Resultados de los experimentos realizados.	70
Tabla 4.5.	Voltaje producido a diferentes concentraciones de levadura.	72
Tabla 4.6	Cuadro comparativo de otra celdas microbianas de biocombustible.	73



## Resumen

En el presente trabajo se realizó el estudio de una celda microbiana de biocombustibles. En esta celda se midió la cantidad de energía producida, así como el tiempo en que tardó en producir y que mantuvo la generación de energía, otra de las variables que se tomaron en cuenta fue la cantidad de materia orgánica presente durante la operación.

Para el funcionamiento de la celda se utilizó un sustrato compuesto de extracto de levadura, peptona y dextrosa, el sustrato que se utilizó en el experimento fue donado por el Instituto de Biología de la UNAM, y el experimento fue realizado en el edificio de Posgrado de la Facultad de Ingeniería en CU-UNAM.

Como biocatalizador se hizo uso de levadura, para la oxidación de la materia orgánica, para determinar el crecimiento de la levadura través del tiempo de operación de la celda microbiana de biocombustibles, se utilizó la determinación de sólidos totales, sólidos fijos y sólidos volátiles por el método gravimétrico.

Para medir la producción de energía se desarrolló un programa que permitió medir el voltaje generado durante la operación de la celda. La proceso de producción se llevó a cabo dependiendo de la cantidad de sustrato y de levadura utilizada, otra de las variantes que se tomaron en cuenta fue el área de transferencia que estuvo en contando con el sustrato así como otros parámetros presentes durante la realización del experimento.

A lo largo del experimento se variaron las concentraciones para observar el comportamiento en cada una de las situaciones presentadas y encontrar en cuál de los experimentos la celda tenía un mejor comportamiento.

El voltaje máximo alcanzado en la realización de todos los experimentos fue de 0.1417 volts en 11 horas de operación de la celda, con una concentración de levadura de 0.0030 g/L.



## Introducción

Durante el siglo XX, la disponibilidad de los combustibles de origen fósil, ha sido el gran motor del desarrollo. El petróleo, por su facilidad de extracción, transporte y almacenamiento, ha sido la base de la sociedad a lo largo de las últimas décadas. El uso del petróleo en cantidades tan importantes como se manejan en la actualidad ha supuesto un impacto negativo en nuestro medio ambiente, provocando un incremento exponencial de los gases de efecto invernadero que hoy en día resulta un problema para el medioambiente.

Actualmente se ha creado conciencia de los incrementos tan intensos del consumo de petróleo provocarán, a largo plazo, dificultades en su disponibilidad debido al incremento de la demanda y a las limitaciones de la capacidad de extracción. A esto se le suma, el impacto tan negativo que las tecnologías energéticas actuales están teniendo sobre el medio ambiente y que podrían tener efectos críticos sobre el entorno en un futuro. Por tal motivo, es preciso encontrar fuentes de energía alternativas que permitan mantener el nivel de desarrollo actual sin comprometer las necesidades en un futuro. El hidrógeno es una de las tecnologías más prometedoras debido a su eficiencia, disponibilidad y reducción de emisiones.

En el panorama energético actual, la energía es un factor sociopolítico fundamental, ya que a lo largo de los años para que una sociedad se desarrolle requiere de un sistema que garantice la producción de energía, que sea viable energéticamente, y sea suficiente para cumplir con la demanda de la sociedad etc. Es por eso que la competitividad y la productividad de la economía y, por lo tanto, el crecimiento y el bienestar dependen de la energía. El momento económico actual se caracteriza por necesidades energéticas crecientes, precios elevados de las materias primas, responsabilidad medioambiental y tendencia a la globalización.

Sin embargo en los últimos años uno de los puntos más considerables para la producción de energía ha sido su impacto con el medio ambiente, ya que la mayoría de los procedimientos utilizados hacen uso de la quema de combustibles fósiles para la producir energía eléctrica, práctica que genera gran contaminación para el medio ambiente.

Hoy en día existe una gran cantidad de tecnologías para detener el cambio en el ambiente, como uno de esos ejemplos encontramos las celdas de combustible, que en los últimos años se ha tratado de implementar en la mayor parte en el transporte, así como para la producción de energía eléctrica. Es por eso que el presente trabajo está enfocado en una celda microbiana de biocombustible, que son tecnologías que pueden contribuir a solucionar los problemas que actualmente enfrenta la sociedad como lo son la producción de energía limpia que no afecte al medio ambiente.



## OBJETIVO GENERAL

Producir energía en una celda microbiana de biocombustible, utilizando un compuesto mixto como sustrato, y levaduras como biocatalizador (*Saccharomyces cerevisiae*), llevando el registro de los sólidos volátiles, y la energía producida por medio de un dispositivo arduino.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✚ Conocer el funcionamiento de una celda microbiana de biocombustible.
- ✚ Conocer algunos de los microorganismos productores de electricidad.
- ✚ Determinar la producción de energía tomando en cuenta la materia orgánica.
- ✚ Llevar un registro de la energía producida durante el funcionamiento de la celda.
- ✚ Conocer el funcionamiento de un dispositivo arduino.
- ✚ Alimentar la celda con diferentes cantidades de levadura y determinar cuál fue la más eficiente.

## HIPÓTESIS

Utilizando una celda microbiana de biocombustible se puede generar energía eléctrica, será posible que por medio de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en un medio de cultivo mixto dentro se logre producir energía que pueda ser utilizada en forma limpia y segura.



## Capítulo 1. Antecedentes

### 1.1 Generalidades

En los últimos años una de las prioridades del mundo ha sido buscar una manera con la cual detener el cambio climático, causado por el uso excesivo de los combustibles fósiles. Los combustibles fósiles son recursos limitados que se utilizan para obtener energía. El uso industrial de estos productos generan contaminantes químicos y físicos perjudiciales para la salud, por ejemplo las radiaciones electromagnéticas, o el uso de sustancias como el arsénico, el plomo, el benceno o el uranio que producen efectos nocivos al ser humano que se encuentre en contacto con ellas.

Los combustibles fósiles son utilizados para producir energía térmica y eléctrica. Pero la combustión, la extracción, la elaboración y el transporte de los combustibles fósiles tienen una consecuencia directa en el efecto invernadero, ya que casi el 80% de las emisiones de dióxido de carbono provienen del consumo y de la transformación de los combustibles fósiles en energía.

Es por eso que una de las principales acciones para reducir la dependencia existente en los combustibles fósiles, consiste en el desarrollo de fuentes de energías renovables que sean sustentables a largo plazo (Panwar y col., 2011). Las cuales tengan un tiempo de duración más amplio y sean prácticamente inagotables. Sin embargo, las energías renovables se encuentran muy poco implementadas debido, principalmente, a restricciones tecnológicas y políticas (Panwar y col., 2011; Siddiqui y col., 2010; Zerta y col., 2008; Buran y col., 2003). Sin tomar en cuenta las grandes ventajas que tiene, por ejemplo, no generan residuos difíciles de tratar, ocasionan un mínimo impacto en el medio ambiente, entre otras.

En los últimos años se ha desarrollado diversas tecnologías que se han enfocado en la utilización de la energía acumulada en la biomasa de desechos, para ser transformadas en otras formas de energía que la humanidad pueda utilizar como son: la metanogénesis ( $\text{CH}_4$ ), el biohidrógeno ( $\text{H}_2$ ), y la bioelectricidad (Logan y col., 2006).

La actual situación energética hace necesaria una apuesta clara por la implantación de las celdas de combustible como uno de los medios más seguros, limpios y eficaces de convertir la energía contenida en diversos combustibles en electricidad (Dreseselhaus y Thomas, 2001). En la Tabla 1.1 se muestra un resumen de diferentes celdas combustibles tipo PEM, donde se puede observar su comportamiento con diferentes sustratos, cultivos o electrodos.

#### 1.1.1 Celdas

La celda combustible es un dispositivo electroquímico que permite convertir la energía química de una reacción, directamente en energía eléctrica. Son aparatos análogos a las baterías convencionales, ya que ambos poseen electrodos positivos y negativos así como un electrolito; sin embargo las celdas combustibles pueden generar energía, al absorber nuevos suministros de



Tabla 1.1. Desempeño de diferentes configuraciones en celdas de combustible microbiano tipo PEM (Alzate y col., 2008)

Sustrato	Cultivo	Tipo de electrodo	Medidor Redox	Densidad de potencia (mW·m <sup>2</sup> )	Eficiencia Coulombica (%)	Referencias
Lactato	<i>Shewanella</i>	Carbón reticulado vítreo	Ferrocianuro de potasio	24	2.4	Ringeisen y col., 2006
Agua residual domestica	Bacterias presentes en aguas residuales	Grafito	No	24	3-12	Liu y col., 2004
Glucosa	Cultivo mixto	Grafito plano	Hexacianoferrato de potasio	3,600	89	Rabaey y col., 2003
Acetato	Bacterias presentes en aguas residuales domésticas	Papel carbón	No	286 ± 3	65	Min y Logan, 2004
Glucosa	Bacterias presentes en aguas residuales domesticas	Papel carbón	No	494	9-12	Liu y Logan, 2004
Acetato	<i>Geobacter Metallireducens</i>	Papel carbón	No	40 ± 1	19	Min y col., 2005
Peptona	Bacterias presentes en aguas residuales domésticas	Papel carbón	No	269 ± 14	6	Heilmann y Logan, 2006
Acetato	Lodos activados	Papel carbón	No	0.097	63-78	Oh y col., 2004
Glucosa	Bacterias contenidas en aguas residuales	Papel carbón	No	262	40-55	Liu y Logan, 2004
Acetato	Lodos activados	Grafito Plano	Ferrocianuro en cátodo y Mn <sup>4+</sup> ánodo de grafito y Fe <sup>3+</sup> cátodo de grafito	788	No reporto	Park y Zeikus, 2003
Glucosa	Bacterias contenidas en aguas residuales	Fibra de carbón	No	1,430	23	Logan y col., 2007
Glucosa	Cultivos mixtos	Papel carbón	No	336 y 640	60	Alzate, y col., 2008



combustible, lo que le permite operar mientras esté siendo alimentada. Hecho descubierto por el científico Gales Sir William Grove en 1839 (López, 2004) (Figura 1.1).

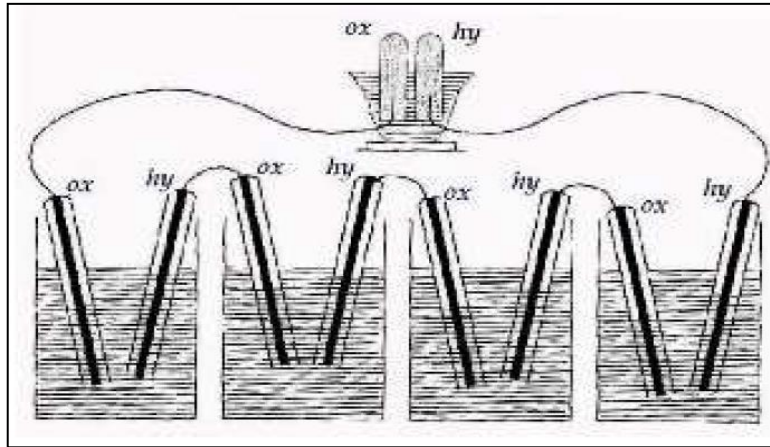


Figura 1.1. "Pila de gas", después denominada "Pila de combustible",  
(Grove, 1839)

El verdadero interés en celdas de combustible como un generador práctico vino hacia comienzos de los años sesenta, cuando el programa espacial de los Estados Unidos seleccionó las celdas de combustible para proporcionar electricidad y agua a las naves espaciales Gemini y Apollo.

Cabe resaltar el hecho de que en los últimos años se ha asistido a una intensa investigación en biopilas de combustible llamadas así porque en los electrodos de la pila interviene elementos biológicos, enzimas redox o células microbianas en ánodos y en cátodos (Tayhas, Palmore, y Whitesides, 1994).

Las celdas de combustible son en realidad una familia de tecnologías que usan diferentes electrolitos y que operan a diferentes temperaturas. Es por eso que se pueden clasificar por temperaturas altas, las cuales operan a temperaturas mayores a 200°C, hacen uso de electrolitos no acuosos, y su objetivo es generar potencias mayores a 1MW, mientras que la de baja temperatura cuya operación puede llegar hasta 200°C, son diseñadas para generar cantidades menores a 1MW.

En la actualidad, el estado de la tecnología de las diferentes celdas de combustible puede describirse como a continuación se menciona.

**Celdas de ácido fosfórico (CAF).**- Es la más desarrollada comercialmente, generan electricidad utilizando gas natural a más de 40% de eficiencia, y cerca de 85% si el vapor que produce se emplea en cogeneración. El uso de un electrolito corrosivo como el ácido fosfórico y potencialmente peligroso de manejar, tiende a restar la preferencia sobre este tipo de celda.



**Celdas de carbonatos fundidos (CCF).**- Utilizan sales fundidas como electrolito y prometen altas eficiencias combustible-electricidad, así como la habilidad para consumir combustibles a base carbón, incluyendo CO y biocombustibles. Esta celda opera a temperaturas del orden de los 650°C y permite la reformación del combustible (extracción del hidrógeno contenido en hidrocarburos) dentro de la propia celda, además de que no necesita electro catalizadores de metales nobles. Algunas desventajas son la corrosividad de las sales fundidas y la necesidad de reposición de CO<sub>2</sub> en el cátodo para recuperación y formación de iones carbonato.

**Celdas de óxido sólido (COS).**- Puede ser usada en aplicaciones de potencia, incluyendo estaciones de generación de energía eléctrica a gran escala e industrial. Este tipo de celda no utiliza electrolitos corrosivos, sino electrolitos en estado sólido, que presenta diversas ventajas, por ejemplo utiliza un sistema de óxido sólido, normalmente hace uso de un material sólido cerámico (zirconia estabilizada de itrio) en lugar de un electrólito líquido, permitiendo que la temperatura de operación alcance los 1,000 °C. Las eficiencias de generación de potencia pueden alcanzar un 60% sin cogeneración, al tiempo que la cinética de reacción en estas celdas es muy rápida y no requiere reposición de CO<sub>2</sub> en el cátodo. El hidrocarburo alimentado puede ser reformado dentro de la celda (extracción del hidrógeno contenido en hidrocarburos). Su eficiencia es mayor a 80% cuando el calor producido es empleado en cogeneración.

**Celda de polímeros sólidos o membrana de intercambio iónico (CII).**- Estas celdas utilizan como electrolito una membrana polimérica conductora de protones. Dicha membrana se encuentra entre dos electrodos porosos impregnados en el lado de la membrana con un electrocatalizador (usualmente Pt) y un material hidrofóbico del otro lado. Operan a temperaturas relativamente bajas (unos 80°C), tienen una densidad de potencia alta. El único líquido que maneja la CII es agua, por lo que los efectos por corrosión son mínimos. En general, el desempeño de las celdas CII es muy variado, ya que éste depende de la presión, temperatura y calidad de los gases, entre otros parámetros. Las CII son los principales candidatos para vehículos ligeros, entre otras aplicaciones mucho menores como la sustitución de baterías recargables en videocámaras, telefonía inalámbrica, además de aplicaciones residenciales.

**Celdas alcalinas.**- Este tipo de celdas pueden alcanzar eficiencias de generación eléctrica de hasta 70%. Utilizan hidróxido de potasio como electrólito. No requieren materiales nobles como catalizadores, ya que la dificultad de reducción de oxígeno presente en otras celdas de baja temperatura es mínima, por lo que pueden operar a temperaturas bajas. Un factor adverso de estas celdas es el efecto nocivo que el CO<sub>2</sub> producido al reaccionar con el hidróxido presente.

**Celdas combustible microbiano (CCM).**- Las celdas de combustible microbianas, conocidas también como celdas microbianas de biocombustible (CMB), resulta ser una opción prometedora para la generación de energías renovables que se puedan emplear en electricidad (Logan y Regan, 2006b).



Una CCM convierte un sustrato biodegradable directamente a electricidad. Se han empleado una gran variedad de sustratos por ejemplo aguas residuales, desechos agrícolas e industriales; sin embargo un factor común y que tiene gran relevancia, es la formación de la biopelícula microbiana en el ánodo (Kim y col., 2006).

La CCM utilizada para tratar aguas residuales domésticas fue introducida por Habermann y Pommer en 1991. Sin embargo recientemente han vuelto a ser dispositivos atractivos para generar electricidad desarrollando oportunidades para aplicaciones prácticas (Liu y Logan, 2004; Schroder, Niessen, y Scholz, 2003). En la Tabla 1.2 se muestra en breve los diferentes tipos de celdas combustibles con algunas de sus características y aplicaciones de cada una de las celdas.

Tabla 1.2. Tipo de celdas de combustibles (Acuña y Muñoz, 2001; Jones, y Dungan, 1997)

Tipo	Electrolito	Temperatura de operación °C	Características especiales	Aplicaciones
Celda combustible alcalina (CCA)	Solución de KOH diluido.	60 a 120	Alta eficiencia, adecuada para el H <sub>2</sub> el O <sub>2</sub> .	Sistema espacial, sistema de defensa.
Celdas combustible membrana de intercambio protones (CII)	Membrana de polímero de conductora de protones	20 a 120	Operación flexible, alta densidad de potencia.	Vehículos, generación descentralizada de electricidad (plantas pequeñas).
Celda combustible ácido fosfórico (CCAF)	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	160 a 220	Eficiencia limitada, problemas de corrosión.	Generación de electricidad descentralizada, potencia y calor combinado.
Celda combustible carbono Fundido (CCCF)	Carbonatos diluidos	600 a 650	Control de proceso complejo, problemas de corrosión.	Generación de electricidad centralizada y descentralizada, potencia y calor combinados.
Celda combustible óxido sólido (CCOS)	ZrO <sub>2</sub> solido	850 a 1000	Potencia eléctrica directa de gas natural, tecnología de cerámica (altas temperaturas).	Generación de electricidad centralizada y descentralizada, potencia y calor combinados.

**1.1.2 Microorganismos productores de electricidad**

Se ha intentado identificar y aislar las bacterias que tienen la capacidad de transferir los electrones a un electrodo. Varios estudios indican que la actividad metabólica más similar a la transferencia de electrones en una CMB es la reducción desasimilatoria de metales (Bretschger y col., 2007; Chaudhuri y Lovley, 2003; Bond y col., 2002). En ausencia de oxígeno, las bacterias reductoras

desasimilatorias de metal transfieren sus electrones a un metal como el hierro o el manganeso, que actúa como receptor terminal de los electrones (Lovley y col., 1993).

Entre los tipos de reducción de metales posibles, la reducción de hierro es el proceso más cercano a lo que ocurre en una CCM, por lo tanto la investigación ha tratado de enriquecer los cultivos con actividad reductora desasimilatoria de hierro (Lovley, 2008; Holmes y col., 2004; Chaudhuri y Lovley, 2003).

Los electrones pueden ser transferidos al ánodo en cualquiera de las siguientes maneras: transferencia directa por medio de estructuras bacterianas llamada nanocables, transferencia indirecta, utilizando uniones intermedios de electrones, la conducción a través de la matriz de exopolisacáridos (EPS) del biopelículas, o una combinación de estos mecanismos (Lovley, 2008; Rittmann, 2008; Logan y Regan, 2006a).

El primer ejemplo de actividad eléctrica con microorganismos fue mostrado por Michael Cresse Potter en el año 1910 en la Universidad de Durham, Reino Unido; en sus experimentos recurrió a cultivos de *E. Coli* y electrodos de platino para generar corrientes eléctricas que por su pequeña magnitud pasaron desapercibidas para la comunidad científica. Sin embargo, esta experiencia constituye el primer antecedente de este nuevo concepto: emplear microorganismos como catalizadores de celdas de combustible microbianas.

El concepto de microorganismos usados como catalizadores en celdas microbianas de biocombustible (CMB) fue explorado desde los años 70 y 80 (Roller y col., 1984; Suzuki, 1976). Se logró incrementar la eficiencia de estos dispositivos tanto para la generación de electricidad como la generación de hidrógeno, empleándolas como celdas de electrólisis microbiana (Lui y col., 2005). La utilización de células microbianas como biocatalizadores permite utilizar como combustible de la pila orgánica glucosa, lactato, etanol, celulosa entre otros; por lo que es posible obtener energía eléctrica a partir de diversos sustratos.

El uso de biocatalizadores microbianos en pilas de combustible requiere la presencia de mediadores redox en disolución para conseguir la comunicación electrónica entre el microorganismo y el electrodo (Shukla, y col., 2004), pero en los últimos años se ha descubierto que algunas bacterias reductoras de metales son capaces de ceder electrones directamente al electrodo (Bond y col., 2003; Chaudhuri y Lovley, 2003; Kim y col., 2002).

Podemos distinguir dos tipos de bacterias electrogénicas, aquellas que producen sus propios mediadores redox, que son secretados al medio y reaccionan con el electrodo, y aquellas que interaccionan de forma directa con el electrodo sin mediador soluble alguno. El principal grupo de bacterias reductoras de Fe (III) pertenecen a un grupo de bacterias reductoras del género *Shewanella*. Este grupo de bacterias secreta riboflavinas que actúan como mediadores redox entre la bacteria y el electrodo. En el segundo grupo, el de la transferencia directa por contacto bacteria-electrodo, se encuentran las bacterias del género *Geobacter*. Algunas otras bacterias que

producen actividad electrogénica son *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodospirillum rubrum*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium butyricum* y *Enterococcus gallinarum*.

El grupo *Geobacter* habita de forma natural en el subsuelo y durante millones de años han utilizados los óxidos de hierro insolubles como aceptores de electrones para la oxidación de la materia orgánica. Fueron los primeros organismos aislados del subsuelo que pueden llevar a cabo la reducción de óxidos metálicos insolubles a la par con la oxidación del acetato (Villa y col., 2013). La bacteria tiene varios aspectos sobresalientes, como su capacidad para producir magnetita en los ambientes sedimentarios terrestres, respiración de uranio, biodegradación anaerobia de compuestos aromáticos derivados del petróleo, entre otros.

La transferencia de electrones fuera de la célula está relacionada con la presencia de citocromos C (transportadores de electrones). Estos transportadores permiten transferir electrones desde el citoplasma hasta el exterior de la célula para respirar sustratos extracelulares como el Fe (III) (aceptor final de electrones). Las *Geobacter* tienen alrededor de cien distintos citocromos, cuando en general otros grupos poseen sólo cinco o seis. Una de sus principales características de estos microorganismos es que posee estructuras muy finas, denominadas pilis, los cuales funcionan como nanocables que están conectados directamente a la membrana celular y por medio de ellos se puede lograr transferir los electrones hacia el ánodo (Figura 1.2).

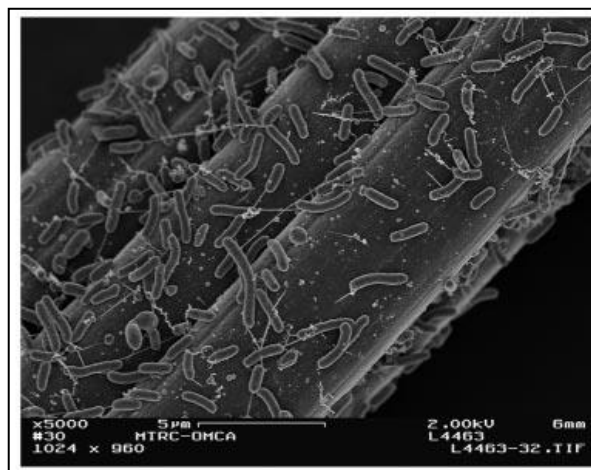


Figura 1.2. Transferencia de electrones por medio de Pilis (Bretschger y col., 2007)

#### **Otro de los microorganismos capaces de transferir electrones son las levaduras.**

Las levaduras son microorganismos eucarióticos clasificadas en los hongos del reino, con 1,500 especies descritas actualmente. Muchos son los genes de enzimas celulolíticas provenientes de bacterias y hongos que han sido expresados en levaduras, de las que destacan principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha* y *Kluyveromyces lactis*.

Las levaduras realizan la oxidación de los azúcares a través de la fermentación. La fermentación es la transformación química de un cuerpo orgánico que se acelera por la acción de pequeñas

cantidades de otro llamado fermento, el cual se pone en contacto con él y aparentemente no se modifica (Giral, 1940). La *Saccharomyces cerevisiae* convierte los hidratos de carbono a dióxido de carbono y alcoholes, durante miles de años el dióxido de carbono se ha utilizado en la cocción de las bebidas alcohólicas, actualmente se han utilizado para generar electricidad en las celdas de combustible microbianas, y la producción de etanol para la industria de los biocombustibles.

La *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura altamente etanológica y resistente a altas concentraciones de etanol, sin embargo ésta es incapaz de fermentar la xilosa, sin embargo puede crecer en xilosa. Existen otras levaduras capaces de fermentar la xilosa pero no cuentan con las características fermentativas antes mencionadas, dentro de las cuales esta *Cryptococcus humicola* (*Candida humicola*), aislada del mosto del mezcal, capaz de utilizar hidrolizados de bagazo de caña como fuente de carbón. Por otra parte, *Pichia stipitis* cuenta con genes que codifican para enzimas como xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa, encargadas de reducir la xilosa a xilitol y oxidar el xilitol a xilulosa respectivamente. Se han obtenido levaduras recombinantes de *S. cerevisiae*, capaces de metabolizar la xilosa a través de la ruta de las pentosas a etanol y biomasa.

Las levaduras son quimioorganotróficas, ya que utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y no necesitan la luz solar para crecer. A diferencia de las bacterias, no hay especies de levadura conocidas que sólo crecen anaeróticamente. Las levaduras crecen mejor en un entorno de pH neutro o ligeramente ácido. Las propiedades fisiológicas útiles de levadura han llevado a su uso en el campo de la biotecnología. La fermentación de los azúcares por la levadura es la aplicación más antigua y más grande de esta tecnología. Muchos tipos de levaduras se utilizan para hacer muchos alimentos: levadura de panadero en la producción de pan, levadura de cerveza en fermentación de la cerveza, levadura en la fermentación del vino y para la producción de xilitol. En la Tabla 1.3 se hace referencia a diversos microorganismos usados en celdas de combustible.

### 1.1.3 Reacción oxido-reducción

La oxidación es un cambio químico en el que un átomo o grupo de átomos pierden electrones o bien es la reacción en la que un átomo aumenta su número de oxidación. La reducción es un cambio químico en el cual un átomo o grupo de átomos ganan electrones, o también es la reacción en la que un átomo disminuye su número de oxidación. La oxidación y la reducción siempre ocurren simultáneamente ya que el número de electrones perdidos en la oxidación debe ser igual al número de electrones ganados en la reducción.

Las reacciones redox suponen una transferencia de electrones entre átomos, y suelen ser lentas, pero a menudo son aceleradas mediante catalizadores tipo bacteriano. El oxígeno en disolución es un elemento fundamental para el desarrollo de la vida en el medio acuático, pero su concentración puede disminuir a causa de la presencia de compuestos oxidables, como por ejemplo la materia orgánica. Una reacción de oxidación-reducción se caracteriza por su potencial



Tabla 1.3. Microorganismos usados en las CMB's (Zhuwei, Horan, y Tingyue, 2007)

Microorganismos	Sustratos	Aplicaciones
<i>Actinobacillus succinogenes</i>	Glucosa	Rojo neutro o Tionina como medidor electrónico (Park y Zeikus, 2000; Park y Zeikus, 1999; Park y col., 1999).
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Acetato	Menos medidor CMB (Pham y col., 2003).
<i>Alcaligenes faecalis</i> , <i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucosa	Auto medidor de consorcios aislados con un nivel máximo de $4.31 \text{ W m}^{-2}$ (Rabaey, 2004.)
<i>Clostridium beijerinckii</i>	Almidón, glucosa, lactato, melaza	Bacteria fermentativa (Niessen y col., 2004).
<i>Clostridium butyricum</i>	Almidón, glucosa, lactato, melaza	Bacteria fermentativa (Niessen y col., 2004; Park y col., 2001)
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Sacarosa	Medidor de sulfato y sulfuro (Leropoulos y col., 2005; Park y col., 1997)
<i>Erwinia dissolven</i>	Glucosa	Complejo de quelato férrico como medidores (Vega y Fernández, 1987)
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa, sacarosa	Medidor como azul de metileno de ser necesario (Leropoulos y col., 2005; Grzebyk y Pozniak, 2005; Schröder y col., 2003).
<i>Geobacter metallireducens</i>	Acetato	Medidor CMB (Min y col., 2005).
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetato	Medidor CMB (Bond y Lovley, 2003; Bond y col., 2002).
<i>Gluconobacter oxydans</i>	Glucosa	Mediador (HNQ, resazurina o metionina) necesario. (Lee y col., 2002)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Glucosa	HNQ medidor de manganeso bimineralizado como aceptor de electrones (Menicucci y col., 2006; Rhoads y col., 2005).
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Glucosa	Complejo de quelato férrico como medidores (Vega y Fernández, 1987)
<i>Proteus mirabilis</i>	Glucosa	Tionina como medidor (Choi y col., 2003; Thurston y col., 1985)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucosa	Como medidor Píocianina y fenazina-1-carboxamida (Rabaey y col., 2004, 2005)
<i>Rhodoferrax ferrireducens</i>	Glucosa, xilosa, sacarosa, maltosa	Medidor CMB (Liu y col., 2006; Chaudhuri y Lovley, 2003)
<i>Shewanella oneidensis</i>	Lactato	Como medidor de Antraquinona-2,6-disulfonato (Ringeisen y col., 2006)
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Lactato, piruvato, acetato, glucosa	Medidor CMB (Kim y col., 1999a,b); pero la incorporación de un mediador de electrones como Mn (IV) en el ánodo mejorado la producción de electricidad (Park y Zeikus, 2002)
<i>Streptococcus lactis</i>	Glucosa	Complejo de quelato férrico como medidores (Vega y Fernández, 1987)

redox. Sea una reacción de reducción general, en la que una especie oxidante (Ox) acepta electrones para transformarse en una especie reductora (Red),



Su potencial redox en el equilibrio se relaciona con las actividades de las especies que intervienen en la reacción, según la ecuación de Nernst.

Las reacciones de oxidación y reducción regulan el comportamiento de muchos compuestos químicos presentes en cuerpos de agua naturales. La reactividad, solubilidad y movilidad cíclica de elementos esenciales para los sistemas biológicos (ej. Fe, S, N, C, P, y varios elementos metálicos) son afectados por cambios en el potencial redox. Al mismo tiempo, el potencial redox afecta la distribución y la actividad metabólica de microorganismos.

La distribución espacial de microorganismos aerobios y anaerobios está determinada principalmente por el potencial redox del ambiente. Los microorganismos aerobios estrictos son metabólicamente activos a potenciales redox positivos, mientras que los anaerobios estrictos (ej. metanogénicas) demuestran actividad metabólica, solo a potenciales redox negativos. Cuando el potencial redox es bajo, algunos de estos microorganismos llevan a cabo reacciones de fermentación mientras otros obtienen energía a través de la respiración anaerobia.

El potencial redox es un valor relativo medido contra el punto 0 del electrodo normal de hidrógeno u otro electrodo secundario de referencia (ej. Electrodo calomel de  $\text{HgCl}$  ó  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  ó el electrodo plata/plata cloruro:  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{[\text{sat}]}$ ,  $\text{KCl}_{[\text{sat}]}$ ). Cualquier sistema o ambiente que acepte electrones de un electrodo normal de hidrógeno es una media celda con un potencial redox positivo. En contraposición, cualquier ambiente o sistema que done electrones al electrodo normal de hidrógeno se define como una media celda con un potencial redox negativo. El potencial redox se mide en milivoltios o voltios.

Las reacciones redox favorecen la disolución de algunas especies químicas (ej.  $\text{Fe}(\text{OH})_3 \rightarrow \text{Fe}_2^+$ ) y la inmovilización o escape de otras (ej.  $\text{Fe}_2^+ \rightarrow \text{FeS}$ ;  $\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4$ ).

Generalmente, el potencial redox es afectado por la concentración de oxígeno disuelto. Según baja el potencial redox en aguas y sedimentos, se observa una disminución en la concentración de oxígeno disuelto y la reducción de iones y moléculas importantes para la nutrición de microorganismos y formas de vida superior.

Las poblaciones que integran una comunidad microbiana transfieren los electrones provenientes de la oxidación de materia orgánica al aceptador de electrones con el carácter más oxidante (Atlas y Bartha, 1993). En otras palabras, los microorganismos seleccionarán de los aceptadores de electrones disponibles, aquél que les permita obtener el mayor margen de ganancia energética de la oxidación del substrato orgánico que utilicen como fuente de carbono y energía. El mismo comportamiento se puede observar en organismos quimiolitótrofos, los cuales obtienen energía



de la oxidación de materia inorgánica. Los microorganismos anaerobios facultativos bloquean sus rutas fermentativas o sus trayectos de reducción disimilatoria de nitratos o sulfatos (respiración anaerobia) en presencia de oxígeno (Atlas y Bartha, 1993). Cuando se tiene un sustrato orgánico que puede ser utilizado como fuente de electrones, tanto por microorganismos reductores de nitrato, como por microorganismos reductores de sulfatos, los reductores de nitrato obtendrán la mayor ganancia energética de la oxidación del sustrato. Eventualmente los reductores de nitrato dominarán sobre los reductores de sulfatos al generar una mayor cantidad de biomasa por unidad de sustrato oxidado. El nitrato y el hierro son usualmente escasos en los sedimentos. Estos se agotan rápidamente, al ser utilizados como aceptadores de electrones alternos en la ausencia de oxígeno. Bajo dichas condiciones el sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) se convierte en el aceptador de electrones con el carácter más oxidante. Cuando bacterias metanogénicas compiten con bacterias reductoras de sulfato por hidrógeno gaseoso ( $\text{H}_2$ ), como fuente de electrones, las bacterias metanogénicas demuestran una eficiencia de utilización menor y una demanda de consumo mayor del sustrato, que las reductoras de sulfato (Lovley, 1985).

## Capítulo 2. Fundamentos

### 2.1. Celda microbiana de biocombustible

Las CMB representan un método alternativo e innovador para el tratamiento de residuos orgánicos y para la generación de electricidad en forma directa y renovable, sin la necesidad de añadir sustancias químicas costosas y tóxicas, si se emplean los microorganismos adecuados en el medio de trabajo (Rabaey y col., 2005; Watanabe, 2008) (Figura 2.1). Las CMB consisten en dispositivos electroquímicos catalizados, permiten la conversión directa de la energía química contenida en los enlaces de la materia orgánica a electricidad, a través del potencial oxidativo de algunos tipos de bacterias fermentativas o enzimas (Venkata y col., 2008; Moon y col., 2006; Gil y col., 2003; Choi y col., 2003; Allen y Bennetto, 1993).

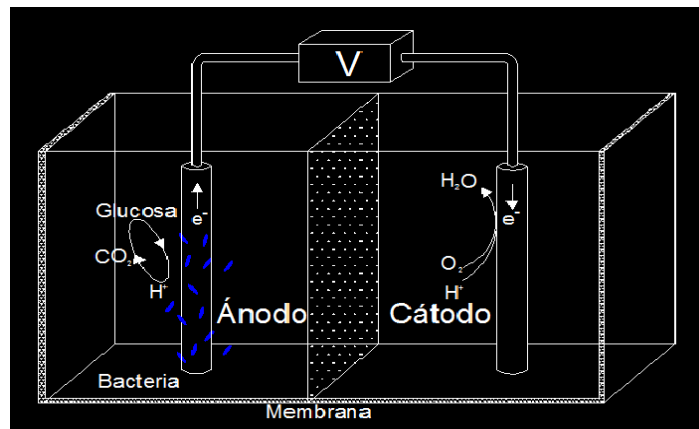


Figura 2.1. Celda de combustible microbiano (A partir de Du, y col., 2007; Lee, 2009)

Se han definido como las celdas de biocombustible aquella que se basan en la catálisis enzimática para al menos una parte de su actividad (Palmore y Whitesides, 1994). Una definición más amplia puede considerar a las celdas de biocombustible como las celdas de combustible que utilizan biocatalizadores, o bien, dispositivos capaces de transformar directamente la energía química en eléctrica a través de reacciones electroquímicas que dependen de vías bioquímicas.

Las celdas microbianas de biocombustible como una alternativa para generar energía, exhiben ventajas operacionales y funcionales, comparadas con los dispositivos que se encuentran disponibles actualmente para generar energía eléctrica a partir de compuestos biodegradables, algunas de estas características son:

1. La elevada conversión de la materia orgánica a electricidad (por encima de 90%).
2. El desempeño que los dispositivos se alcanzan a temperatura ambiente, a diferencia de los procesos bioenergéticos existentes.
3. Los gases generados en dentro de la celda no requieren de tratamientos adicionales.
4. En algunas aplicaciones no se requiere de aireación mecánica.

5. Poseen un amplio potencial de aplicación en los lugares donde no existe infraestructura eléctrica. (Rabaey y col., 2005).

## 2.2. Funcionamiento de las celdas microbianas de biocombustible

Una celda microbiana de biocombustible convierte un sustrato biodegradable directamente a electricidad (Figura 2.2). Esto se consigue cuando las bacterias, a través de su metabolismo, transfieren electrones desde un donador, tal como la glucosa, a un aceptor de electrones. En una CMB, las bacterias no transfieren directamente los electrones producidos a su aceptor terminal, sino que éstos son desviados hacia el ánodo. Esta transferencia puede ocurrir de varias formas, bien sea a través de la membrana celular o a partir de un mediador soluble, donde los electrones fluyen a través de un circuito externo (Rabaey y col., 2003).

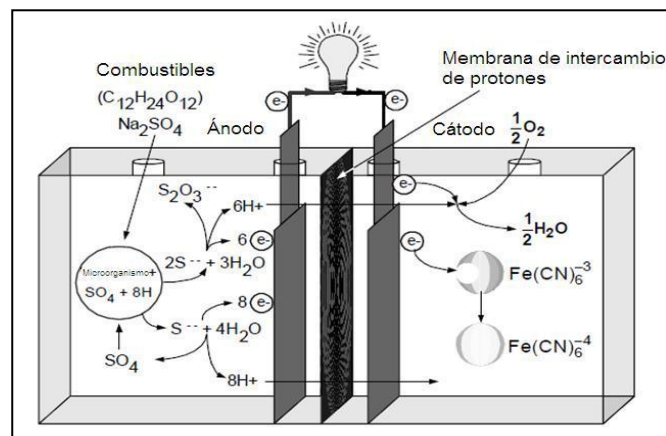


Figura 2.2. Producción de energía en CMB (Ieropoulos y col., 2004)

Las bacterias utilizadas mineralizan los compuestos orgánicos obteniendo la conversión hasta  $\text{CO}_2$  y agua, generando principalmente como productos aprovechables: agua limpia y energía eléctrica (Rabaey y col., 2005). Los sustratos utilizados en las CMB, son materiales biodegradables así como aguas residuales y desechos orgánicos de las descargas municipales, industriales, agrícolas, entre otros (Clauwaert y col., 2008).

Las CMB se han clasificado en tres grupos, las denominadas de primera generación, donde mediadores redox artificiales (rojo neutro – azul de metileno, etc.) son capaces de atravesar la membrana citoplasmática celular y transferir electrones desde estas hacia la superficie del ánodo. En las de segunda generación, los electrones son transferidos mediante la reducción y oxidación de compuestos de azufre, mientras que las de tercera generación utilizan bacterias reductoras de metales (miembros de la familia *Geobacteraceae* y *Shewanellaceae*) que presentan un tipo especial de citocromos unidos a membrana, capaces de transferir electrones directamente a los electrodos.

### 2.2.1 Mecanismos de transferencia de electrones

La transferencia extracelular de electrones se puede definir como el proceso en el cual los electrones derivados de la oxidación de compuestos orgánicos, son transferidos a la superficie externa de la célula para reducir un aceptor terminal de electrones extracelular (Lovley, 2008) (Figura 2.3). Se han planteado diferentes mecanismos para explicar cómo los microorganismos liberan los electrones al electrodo, algunas de los mecanismos son: Transferencia directa con la participación de citocromos, transferencia con ayuda de mediadores externos o producidos por el mismo organismo y transferencia por medio de los nanocables bacterianos o pili.

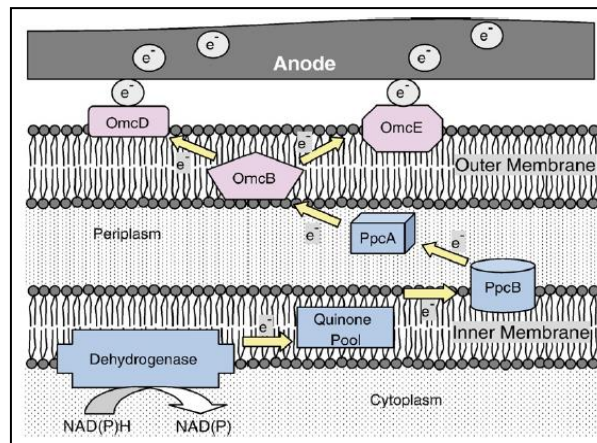


Figura 2.3. Modelo metabólico de una célula del género *Geobacter*.  
(Lovley y col. 2004.)

Los electrones se pueden transferir entre el sitio y el electrodo a través de la difusión de un combustible secundario, por medio de una molécula medidora que repentinamente realiza ciclos, o bien una transferencia directa de electrones (TDE), entre el sitio de la reacción y el electrodo. Los electrógenos, son microorganismos que conservan la energía permitiendo el crecimiento por la oxidación de compuestos orgánicos a dióxido de carbono, y con la transferencia directa de electrones a los ánodos de las CMB (Lovley y Kevin, 2008). Estos microorganismos son conocidos también como anodófilos.

La producción de electricidad utilizando microorganismos electrógenos en la CMB, tiene algunas ventajas significativas (Bond y Lovley, 2003). Una de ellas es la completa oxidación de la materia orgánica a dióxido de carbono que estos microorganismos hacen posible, lo que puede ser traducido como una alta eficiencia coulombica en el proceso (Lovley y Nevin, 2008). Otra ventaja utilizando electrógenos es su sustentabilidad a largo plazo. Se han reportado CCM que han sido operadas por más de 2 años sin bajar la producción de electricidad (Lovley y Nevin, 2008).

La reacción que se lleva a cabo en el ánodo sin mediadores se ha estudiado principalmente en los *Geobacteraceae*, en este proceso el ánodo actúa como aceptor final de electrones. Debido a su

metabolismo son capaces de biorremediar varios metales pesados incluyendo el Uranio (VI), Vanadio (VI) y Cromo (VI); así como biodegradar varios contaminantes orgánicos como los hidrocarburos monoaromáticos.

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

Los mediadores pueden ser:

**1.-Mediadores producidos por el mismo microorganismo;** Las bacterias del género *Shewanella* liberan quinonas solubles que pueden acarrear electrones de la superficie celular a óxido de Fe (III) aunque éste se encuentre a una distancia considerable de la célula. Se ha reportado que *Shewanella* tiene la capacidad de transferir electrones a metales localizados a más de 50  $\mu\text{m}$  de la superficie de la célula (Lovley, 2008).

Diversos estudios han sugerido que las células de *Shewanella* tienen la capacidad para producir y secretar acarreadores endógenos de electrones para promover la reducción de óxidos de Fe (III). Se demostró que este microorganismo produce flavinas que emplean como mediadores para la transferencia de electrones fuera de la célula (Von Canstein y col., 2007; Marsili y col., 2008).

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

**2.-Mediadores adicionados exógenamente;** En el caso de microorganismos que no son capaces de producir sus propios mediadores y que son incapaces de transferir eficientemente los electrones derivados del metabolismo central afuera de la célula, requieren de la adición de mediadores exógenos que transporten los electrones al ánodo, tales medidores requieren de ciertas características para poder ser empleados en el transporte de electrones.

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



- a) Un potencial bastante diferente del potencial del organismo, para facilitar la transferencia de electrones mientras se mantiene un alto potencial electroquímico en la celda.
- b) Un alto coeficiente de difusión en el electrolito y en la membrana celular.
- c) Rápida transferencia de electrones del organismo al electrodo.
- d) Capacidad para repetidos ciclos redox.
- e) No citotoxicidad.
- f) Buenos perfiles de absorción-adsorción-resorción al organismo, electrodo y otras superficies de la CMB, de forma que permanezca en la solución y disponible para el proceso. Ejemplos de compuestos de este tipo son; rojo neutro, fenazinas, fenotiazinas, entre otros (Lovley, 2006).

Una de las desventajas del uso de estos compuestos es que son tóxicos para los seres humanos, por lo que se debe evitar ser utilizados en los procesos de producción de electricidad en lugares que se exponga el medio ambiente, como por ejemplo plantas de tratamiento de aguas residuales, sedimentos acuáticos, entre otros.

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

Finalmente la transferencia por medio de los nanocables bacterianos (pili), se ha descubierto la presencia de nanocables en algunos microorganismos electrógenos. Estos pili se han identificado en bacterias como *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella oneidensis*, una cianobacteria fototrófica *Synechocystis* y un microorganismo fermentador termofílico *Pelotomaculum thermopropionicum* (Gorby y col., 2006).

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

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

**2.2.2 Combustibles y fuentes de catálisis**

Un dispositivo electroquímico requerirá de un combustible y un catalizador como se puede observar en la Figura 2.4. donde se muestra la selección de los combustibles.

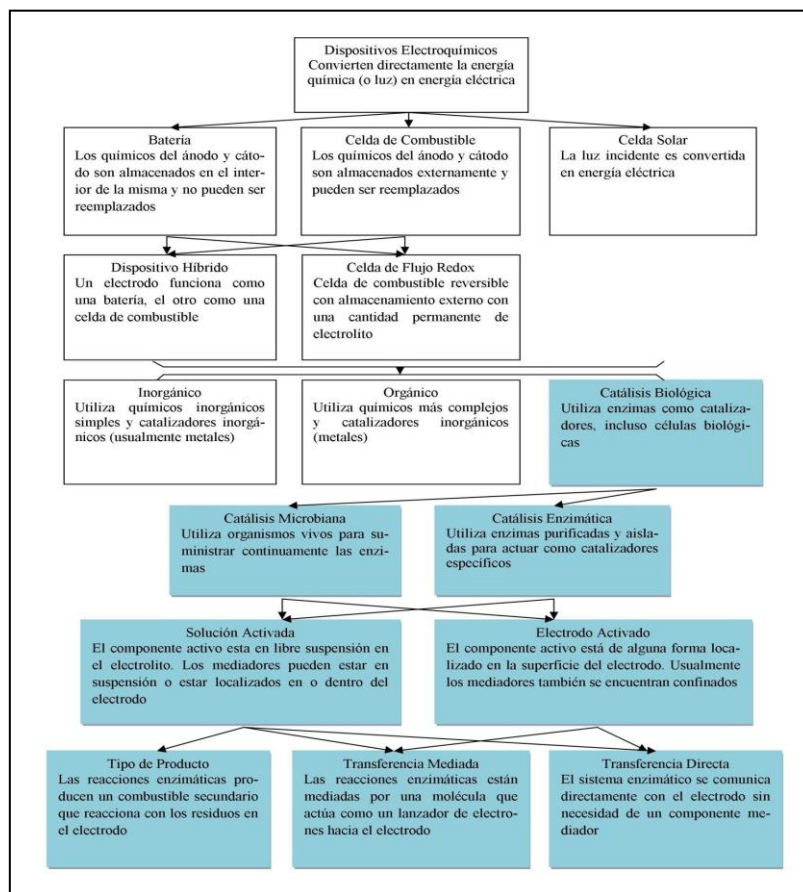
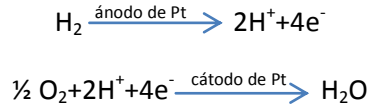
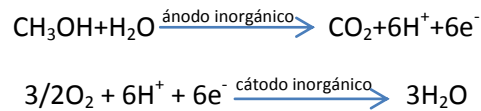


Figura 2.4. Clasificación de los dispositivos electroquímicos (Bullen y col., 2006)

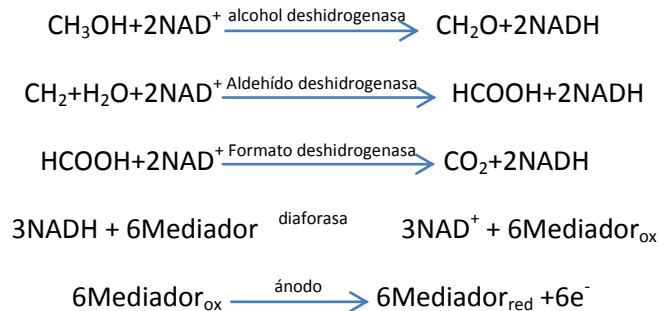
Algunos dispositivos inorgánicos emplean metales como catalizadores por ejemplo las celdas de combustible catalizadas por Pt H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> (E<sup>0</sup><sub>celda</sub>=1.23V)



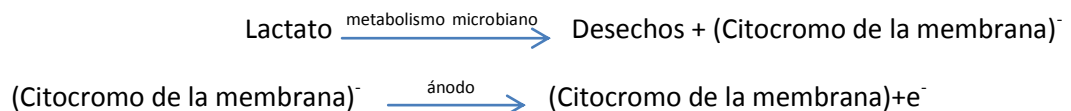
Los dispositivos orgánicos utilizan catalizadores inorgánicos para lograr la reacción, celdas de combustible de metanol directo (E<sup>0</sup><sub>celda</sub>=1.2V)



Dispositivos catalizados biológicamente utilizan moléculas biológicas como catalizadores para lograr su reacción redox, ya sea como enzimas purificadas para catalizar una reacción en específico o mediante el uso de organismos complejos (Palmore y Whitesides, 1994). Para la oxidación de metanol, un dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD), es medido por la secuencia de reacciones siguientes (Palmore y col., 1998):



Los dispositivos biológicamente se pueden dividir de acuerdo a los a la fuente de biocatalizadores utilizados para realizar la catálisis. Los sistemas catalizados por microorganismos utilizan organismos vivos como la fuente para completar las vías enzimáticas. Puede operar en materias primas variables resistentes a la intoxicación debida a los sistemas vivos, son capaces de oxidar el sustrato completamente a dióxido de carbono agua. Por ejemplo la comunicación electroquímica directa de *Shewanella putrefaciens* con un ánodo a través de citocromos de la membrana (Kim y col., 2002a).



Los sistemas catalizados usan proteínas enzimáticas aisladas y purificadas para realizar una reacción específica.





### 2.3. Materiales de construcción de las CMB

A través de los años se han hecho pruebas para determinar el material más adecuado para ser usado en las CMB, los cuales deben contar con ciertas características, como la porosidad, la corrosividad, una alta área de transferencia, entre otras. La CMB principalmente cuenta con el ánodo, cátodo y en algunos casos con una membrana de intercambio protónico.

#### 2.3.1. Materiales del ánodo

Los materiales usados en el ánodo siempre se ha tomado en cuenta que posean ciertas características para hacer uso en una celda de combustible microbiana, debe contar con características como:

- a) Alta conductividad.
- b) Biocompatible.
- c) No corrosivo.
- d) Poroso.
- e) Contar con una alta área de superficie específica.
- f) Fácil de ser llevado a grandes escalas entre otras.

Algunos de los materiales usados para este fin son:

**Papel carbón, telas, espumas y Carbono Vítreo Reticulado (CVR).** Estos materiales tienen alta conductividad y aparentemente son adecuados para el crecimiento de las bacterias (Figura 2.5b). El papel carbón es rígido y ligeramente frágil pero es muy fácil de conectar a los alambres conductores.

Al ser usados alambres de cobre deben ser sellados con resinas epóxicas ya que al término de su uso se corroen y se liberan dentro de la solución, cosa que podría ser tóxica para las bacterias. Por lo cual es mejor usar alambre de acero inoxidable o titanio en CMB.

El papel carbón se encuentra disponible comúnmente plano y a prueba de humedad, el uso del papel plano es sugerido para aplicaciones en el ánodo. Otro de los materiales usados en el ánodo son las telas de carbón las cuales son más flexibles y aparentemente tienen mejor porosidad que el papel carbón, sin embargo tienen una desventaja frente a las espumas que son mucho más gruesas que las telas, y otorgando más espacio para el crecimiento de las bacterias. El carbono vítreo reticulado (CVR), ha sido usado en varios estudios (He y col. 2006; He, Minter, y Angenent, 2005). La conductividad del material es excelente de 200 S/cm ( $5 \times 10^{-3} \Omega \text{ cm}$ ). Bastante poroso (97%), con diferentes tamaños de poros especificados por el fabricante (Figura 2.5). La mayor desventaja de este material es que es bastante frágil.

Es muy poco la comparación sobre los efectos de los diferentes materiales de carbono sobre la generación de energía. Recordando que tiene alta resistencia interna y límites de generación de energía.

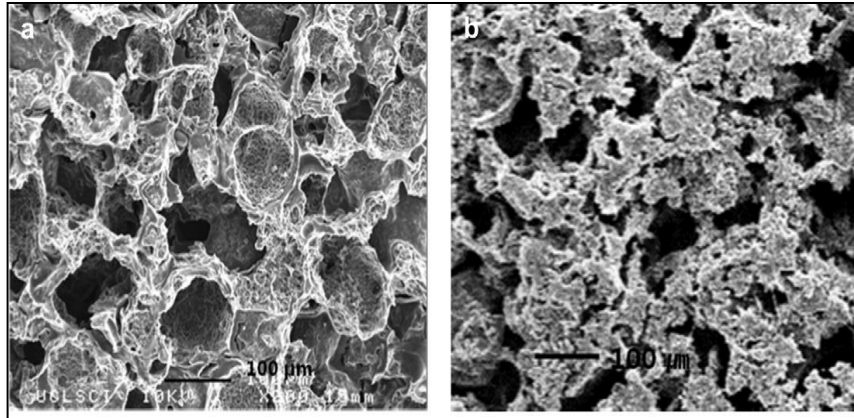


Figura 2.5. Monolito de carbono (a), monolito de carbono con la biopelícula (b) (Kim y col., 2012)

**Grafito (Varilla, fieltro, espumas, placas y hojas).** Existe una gran cantidad de materiales de grafito que podrían elegirse para ser usados como electrodos en CMB, los cuales cuentan con precios muy variados, composición y área de superficie. Entre estos materiales se encuentran:

Las varillas, que han sido usadas en varios estudios sobre CMB (Reimers y col., 2006; Liu, Ramnarayanan y Logan, 2004; Chaudhuri y Llovley, 2003; Bond y col., 2002) estas son altamente conductivas y tienen relativamente definido el áreas de superficie por la baja porosidad interna, por lo cual tienden a ser extensamente usadas en estudios electroquímica. La varilla de grafito puede ser lijada, lo que permitiría incrementar el área de superficie, y así adquirir mayor área para el crecimiento de las bacterias. Comúnmente la varilla de grafito es muy conductiva ( $0.2 \Omega$ ).

A diferencia de las varilla, las hojas de grafito poseen una ventaja al ser adquirida en una gran cantidad de espesores, son dúctiles entre otras características. Las hojas de grafito cuentan con excelente superficie que es usada por los microorganismos, análisis basado en activación de la biopelícula electroquímica. Sin embargo las hojas de grafito no son porosas y producen baja energía, por la geometría que se proyecta, a diferencia del área de superficie proyectada en filtros o espumas.

La densidad de corriente de una varilla de grafito, fieltro de grafito o espumas de grafito fueron comparadas por Chaudhuri y Lovley (2003). Sus usos incrementarían el total de la geometría accesible (proyectada), el aumento del área de superficie incremento la generación del potencialde corriente por *rhodoferax ferrireducens* en dos cámaras, en la CMB. Utilizando el fieltro de grafito ( $A_{an}=20 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ ) produjo tres veces más corriente que la varilla de grafito ( $A_{An}=6.5 \times 10^{-3}$

m<sup>2</sup>). Sin embargo estos efectos estaban sujetos debido al área de superficie, no a la diferencia en materiales. Cuando la corriente estaba normalizada al área de superficie, la densidad de corriente y la masa de la celda estaba aproximadamente igual para los dos materiales (28-32 mA/m<sup>2</sup>, y 0.032-0.047 mgprotein/cm<sup>2</sup>). El fieltro de grafito produce 2.4 veces más corriente, pero también tiene 2.7 veces más bacterias, probablemente es cuestión de su porosidad superior en el sentido comparado a la varilla de grafito.

**Gránulos de grafito.** El primer uso de este material, estaba reportado por Rabaey y col. (2005b) (en un material como ánodo), los gránulos de grafito ya han sido usados en reactores de lecho empacado como ambos, cátodo y ánodo (Aelterman y col., 2006; Heilmann y Logan, 2006; Rabaey y col. 2006). Los tamaños de los gránulos puede variar, sin embargo los diámetro reportados son 1.5 ó 5 mm (Le Carbone, Belgium) con un reporte de áreas específicas estimadas en un rango de 820 a 2700 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> y una porosidad de 0.53 (Rabaey y col. 2005b). Estas porosidad es típica de lechos rellenos sueltos y pueden estar relacionadas a un área específica usada  $A_s=6 \theta/d$  (Logan, 1999), así  $\theta=0.53$  y  $d=3$  mm tenemos  $A_s=1100$  m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. Los gránulos tienen una conductividad (0.5-1.0  $\Omega$ / gránulos). Debido a la forma de los gránulos y la porosidad del lecho, puede conectarse una pequeña fracción de todo el total del área de superficie.

**Fibras de grafito y cepillos.** La más alta área de superficie y porosidades para ánodos podrían estar archivada usando como electrodos grafito en forma de fibra o cepillo como electrodo (Logan y col., 2007). El alambre del centro del cepillo esta hecho de un material no corrosivo muchas veces son dos cables de titanio. Debido al pequeño diámetro de la fibra de grafito (7.2  $\mu$ m), algunos tamaños de cepillo son de 5 cm de diámetro, 7 cm de largo teniendo un área de 1.06 m<sup>2</sup>, produciendo una estimación de área específica de 7,170 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> de volumen del cepillo, con una porosidad del 98%. Otro de los tamaños reportados es de 0.22 m<sup>2</sup> ó 18,200 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> de volumen del cepillo y una porosidad de 95%. El área de superficie por volumen se usa dependiendo el volumen del reactor.

**Metales y metales recubiertos.** Un estudio, demostró que la adición de vapor de óxido de hierro depositado sobre el papel carbón en el cátodo, reducía el tiempo de aclimatación del reactor no afectando la potencia máxima usando un reactor de dos cámaras (Kim y col., 2005), así producción de potencia estaba limitada por alta resistencia interna, por lo que no se sabe si el óxido de hierro podría tener resultados en incrementar la producción de potencia en un reactor con poca resistencia interna. Al término del tiempo el recubrimiento de óxido de hierro se disuelve dentro de la solución, dejando solo el papel carbón como electrodo. Sin embargo, el uso de hierro para enriquecer las bacterias reductoras de hierro sobre el electrodo puede beneficiar el aprovechamiento para la aclimatación de un electrodo con baterías electrogénicas.

### 2.3.2. Materiales del cátodo

El diseño del cátodo es uno de los desafíos de mayor importancia para la construcción de una CMB ya que debe ser útil y fácilmente escalable. La reacción química que ocurre en el cátodo es difícil

de diseñar, ya que los electrones, protones y oxígeno deben satisfacer a la catálisis en una reacción de tres fases (catalizador sólido, aire y agua). La catálisis se lleva a cabo sobre una superficie conductora, por lo que el cátodo debe estar expuesto al agua y aire, así los protones y electrones en diferentes fases puedan alcanzar el mismo punto.

**Cátodos de carbono con catalizadores sin platino.** Park y Zaikus (2002), fueron los primeros en realizar experimentos con metales no preciosos, cátodos con aire a base de carbón en CMB. Usaron cátodos férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) para formar platos de sulfato férrico (3% w/w), grafito fino (60%), caolín (36% como un aglutinante), y cloruro de níquel (1%), con una cocción a 1100 °C por 12 hr bajo gas  $\text{N}_2$ . Estos cátodos de hierro producen 3.8 más energía como cátodos de grafito tejido liso, comparados con cátodos a base de platino de similares dimensiones (Park y Zeikus, 2003). El rendimiento de este tipo de cátodos es igual a cátodos de carbono con platino y cátodos de carbono con metales de transición, así se elimina la necesidad de metales preciosos en una CMB (Zhao y col., 2005), se demostró en pruebas electroquímicas con dos catalizadores de metales de transición diferente Fe (II), ftalocianina de hierro (FePc) o tetrametoxifenilporfirina de cobalto la producción niveles de energía comparables o mejor alcanzados que los cátodos a base de platino con densidades de corriente arriba de 0.2 mA/cm<sup>2</sup>.

**Cátodo de carbón con Pt como catalizador.** Es el material comúnmente usado para el cátodo, comercialmente disponible en papel carbón con un catalizador de platino sobre uno de sus lados. Cuando se usa en la CMB, la cara que contiene el catalizador se expone del lado del agua, mientras que la que no contiene el recubrimiento del lado del aire.

El carbón con platino también puede ser adquirido en forma de placas rígidas, que a diferencia del papel es poco flexible y puede ser encontrado en diferentes dimensiones.

**Catalizadores aglutinantes.** El uso de los catalizadores usados en los materiales de carbono debe permitir la transferencia de protones, electrones y oxígeno. La membrana Nafion es por lo tanto usada debido a la alta conductividad de protones y permeabilidad de oxígeno. Otro material usado es el politetrafluoruro de etileno (PTFE) en suspensión (Cheng y col. 2006b). Se encontró que la Nafion produce ligeramente mayor potencial en electroquímica que pruebas preparadas PTFE a una concentración de Pt de 0.5 mg/cm<sup>2</sup> (por ejemplo, 12% más densidad de corriente 1mA/cm<sup>2</sup>). El cátodo al aire CMB con Nafion produce más energía (480±20 mW/m<sup>2</sup>) que los PTFE (360 ± 10 mW/m<sup>2</sup>). Sin embargo, la máxima densidad de potencia se inclina más con la Nafion (19%) que con PTFE (9%) en pruebas realizadas encima de 34 ciclos de alimentación en forma batch. Las pruebas electroquímicas mostraron que el potencial estaba reducido por 19% usando 0.1 mg/cm<sup>2</sup>, comparado con la de 0.5 mg/m<sup>2</sup>.

El uso de tetrametoxifenilporfirina de cobalto como catalizadores fue también examinado en una serie de pruebas con CMB por Cheng y col., (2006b) usando cátodos de aire. La máxima densidad de corriente con tetrametoxifenilporfirina (0.6 mg/cm<sup>2</sup>) estaba 368±8 mW/m<sup>2</sup>, se encontró el 12% menor 0.5 mgPt/cm<sup>2</sup>. Sin embargo, esta potencia obtenida usando 0.1 mgPt/cm<sup>2</sup> sobre el cátodo

( $340 \pm 20 \text{ mW/m}^2$ ) a las mismas condiciones de operación. El rango de  $C_E$  7.9-16.3% eran similar a los de catalizadores de Pt. Esta densidad de potencia son sustancialmente grandes, con los obtenidos en ausencia de catalizadores sobre cátodos, con un promedio de  $93 \pm 13 \text{ mW/m}^2$ .

**Cátodos de carbón.** La eficiencia de un catalizador es evaluado mediante la comparación de la densidad de corriente o potencia de los electrodos de con carbono en la misma área de superficie. La reducción de oxígeno se da en ausencia de catalizadores, aunque se reduce su velocidad. En general, la corriente y potencia se reduce por un factor de 10 ó más que los materiales de carbón. Sin embargo, si el área de superficie es sustancialmente incrementada, logrando una alta densidad de potencia. Reimers y col., (2006), usando un sedimento en la CMB, por ejemplo usando una pasta de carbono como se muestra en la Figura 2.6, teniendo como cátodo un cepillo de carbono con 1 m de largo, se alcanzan densidades de potencia de  $34 \text{ mW/m}^2$ , la CMB fue colocada en lo profundo del frío océano de Monterey Canyon en California. La densidad de potencia con el tiempo, debido a la acumulación de sulfuro sobre el ánodo es indicación de reducir el rendimiento en el cátodo.

Estos cátodos eran utilizados en sistemas que producían 650 kWh (Hasvold y col., 1997) y 60 W en 30 V (Hasvold y col., 1999), lo que acredita su capacidad para mantener niveles altos de densidad de potencia.

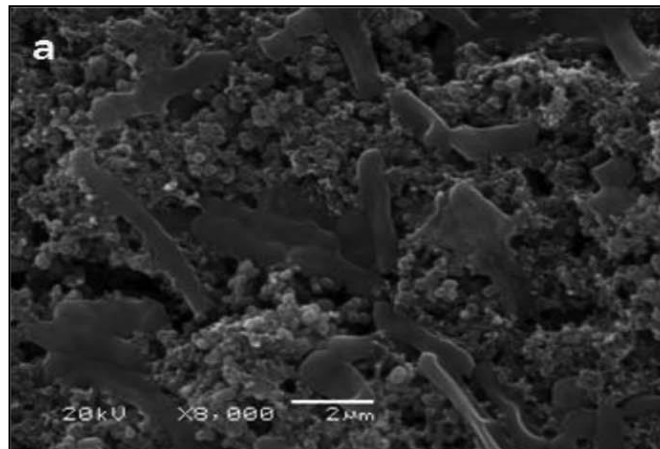


Figura 2.6. Pasta de carbón (Yuan, y col., 2009)

**Cátodos tubulares recubiertos de carbón.** La CMB requiere de mayor área de superficie y porosidad típicas de reactores de aguas residuales. Uno de los aprovechamientos en el tratamiento de aguas residuales es el uso de membranas tubulares de ultrafiltración, proponiendo un mayor área se superficie para la filtración de agua tratada ( $180$  a  $6,800 \text{ m}^2/\text{m}^3$ ).

Un ejemplo usando membranas de ultrafiltración basándose de las grandes áreas de superficie, fue desarrollado por Zou y col., (2007), quienes ocuparon un cátodo tubular para aplicar un material pintado de grafito conductor, a un hidrófilo tubular de membranas de ultrafiltración

(membrana de polisulfuro sobre un compuesto de poliéster), con un diámetro interior de 14.4 mm y un espesor de pared de 0.6 mm. Los tubos estaban recubiertos por la cara que da al aire, con pintura con propiedades de grafito obteniendo un tubo eléctricamente conductivo. Lo que sustituyó el uso de catalizadores con metales no preciosos aplicando una pintura de tetrametoxifenilporfirina como catalizadores (Cheng y col., 2006c). Estos cátodos tubulares eran probados en una CMB tipo cubo, con tubos cortados con un largo de 3 cm, usando una brocha de grafito como ánodo ( $A_{an.s}=7,700 \text{ m}^2/\text{m}^3$ ) y dos tubos como cátodo dentro del reactor ( $A_{at.s}=93 \text{ m}^2/\text{m}^3$ ), la CMB produce  $18 \text{ W}/\text{m}^3$  con  $C_E$  de 70-74%. Estos resultados eran mejor que  $8.8 \text{ W}/\text{m}^3$  producidos usando papel carbón en el ánodo ( $A_{an.s}=25\text{m}^2/\text{m}^3$ ) con dos cátodos tubulares, o el mismo ánodo pero con papel carbón como cátodo y platino como catalizador ( $9.9 \text{ W}/\text{m}^3$ ). Cuando los dos cátodos del reactor están con un flujo continuo, la CMB produjo una densidad de potencia máxima que en modo batch ( $18 \text{ W}/\text{m}^3$ ) con una eliminación de carbonos orgánicos disueltos de 38%. Los resultados obtenidos con el diseño de cátodos tubulares muestran un aprovechamiento muy comprometedor para ser sistemas escalables con membranas de baja resistencia interna y mejor conductividad eléctrica sin necesidad de incrementar la densidad de potencia.

### 2.3.3. Membrana de separación

La celda de combustible que trabaja más rápidamente actualmente, son las desarrolladas con una membrana de intercambio protónico (MIP). Esto ha sido desarrollado en un periodo relativamente corto, y ser una esperanza ecológica para el sector transporte. Esta membrana es intercalada entre dos capas de difusión de gas y electrodos. El material que compone a la membrana es típicamente ácido poliperfluorosulfónico. Platino o una aleación de Pt-Rn como catalizador, son usados para romper las moléculas de hidrógeno en el electrodo negativo, y el átomo de hidrógeno pueda penetrar la membrana y pueda llegar al electrodo positivo, donde en combinación con el oxígeno forma agua, de nuevo con ayuda del platino como catalizador. En las celdas de hidrógeno uno de los principales componentes es una membrana que separe el  $\text{H}_2$  y  $\text{O}_2$ , y proporciona un método para la separación de estos dos gases. La membrana es por lo tanto un referente intercambiador de protones. En una CMB, sin embargo, el agua es la conductora de protones, por lo que la membrana no es un componente necesario para el funcionamiento de la celda.

La mayoría de los diseños de las CMB requieren la separación de los compartimentos del ánodo y el cátodo, por una membrana de intercambio protónico (MIP). El uso más común en MIP es el Nafion 115 ó 117 (Dupont Co, EE. UU.), que está a disposición de numerosos proveedores (por ejemplo, Aldrich e Ion Power, Inc.). Una alternativa al Nafion es la membrana Ultrex CMI - 7000 (Membranas Internacional Incorp., Glen Rock, NJ, EE. UU.), que tiene una mejor relación costo-eficiencia que el Nafion (Rabaey y col., 2004). Cuando una MIP se utiliza en una CMB es importante tener en cuenta que puede ser permeable a los productos químicos utilizados, tales como oxígeno, iones, o de la materia orgánica utilizada como sustrato.



## 2.4. Avances en México de CMB

En México aún no se han implementado estas tecnologías en ningún sector, sin embargo pueden ser una alternativa útil a largo plazo. Se reconocen dos investigaciones en las que se experimentando con CMB's. Las investigaciones presentadas a continuación no son los únicos realizados en México, pero si son los más representativos. El primer trabajo que se presenta (generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP) lo realizó el equipo de investigación encabezado por la Dra. Liliana Alzate-Gaviria en el centro de Investigación Científica de Yucatán (Alzate-Gaviria y col., 2008). El segundo en presentarse (caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados) estuvo a cargo del Dr. Alessandro Carmona-Martínez y se realizó en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N (Carmona-Martínez y col., 2006). Los dos trabajos contaron con apoyo económico proporcionado por el CONACYT.

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

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

### 2.4.1. Construcción de un CMB

Se construyó una CMB de vidrio con volumen útil de trabajo, tanto del anolito como del catolito, de 350 mL. El compartimiento del ánodo fue burbujeado con  $\text{N}_2$  para desplazar el  $\text{O}_2$  presente previo al cierre del ánodo. El electrodo empleado fue papel carbón sin tratar distribuido por Fuelcell (Toray carbón paper).

La celda con membrana de intercambio de protones (MIP) constó de dos compartimientos, uno del ánodo y otro del cátodo, unidos por una membrana intercambiadora de protones NafionR 117, película de 183  $\mu\text{m}$  reforzada a base de un copolímero de PTFE (teflón/ácido perfluorosulfónico). Su estructura molecular posibilita que absorba agua y una vez húmedo, conduce selectivamente iones de carga positiva, bloqueando los de carga negativa. Esta característica es asociada con la inactividad química, resistencia mecánica y estabilidad conocidas de las resinas Teflon (Fuelcell Internacional, EEUU). La membrana fue activada antes de usarla con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N a 45 °C por 24 hr (Kim y col., 2005).

En el compartimiento del cátodo se empleó un catolito acuoso con burbujeo de aire para utilización del  $\text{O}_2$  y como electrodo papel carbón sin tratar con Pt (0.5 mg de Pt 10% por  $\text{cm}^2$ ), mientras que en el ánodo se utilizó un inóculo mixto de tipo floculento anteriormente

seleccionado y estabilizado. A este último electrodo no se le aplicó ningún catalizador, ya que esa función la llevaron a cabo los microorganismos contenidos en dicho inóculo. Los electrodos de papel carbón empleados en cada compartimiento fueron de 1.7×1.6 cm, con un área de 2.72 cm<sup>2</sup>.

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

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

Para el circuito de la celda tipo MIP se emplearon dos resistencias externas, una de 1,000 Ω durante un periodo de 102 días y una segunda de 600 Ω durante los días restantes. Basados en previas experimentaciones (Liu y col., 2004; Logan, 2004) se operó la CMB por un periodo no superior a 155 días, sin incluir el arranque. Los cambios que ocurrieron en la comunidad microbiana durante este tiempo fueron monitoreados mediante métodos electroquímicos.

#### **2.4.1.1. Análisis**

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

#### **2.4.1.2. Aclimatación de la celda**

La CMB fue inoculada con el cultivo bacteriano de tipo entérico, con una fase de latencia de 30h como se observa en la figura 2.7 del punto 1 a 2, seguida de un rápido incremento en el voltaje en las siguientes 40 hr, alcanzando un voltaje de 0.4 V (Figura 2.7 del punto 2-3). Posteriormente el voltaje disminuyó gradualmente a medida que la materia orgánica contenida en el inóculo fue consumida. Al adicionar la tercera transferencia de inóculo a la CMB el comportamiento tiende a ser similar, produciéndose un intervalo de estabilidad de  $0.37 \pm 0.03$  V, constituyendo la última etapa en el patrón de crecimiento bacteriano. Una vez que el sustrato fue consumido cesó el crecimiento y ocurrió muerte celular, viéndose afectada la generación de voltaje.

Después de 120 hr de operación se reemplazó parte del inóculo por ARS, conservando únicamente 10% del inóculo. Se observó que se generó inmediatamente electricidad en la CMB previamente





inoculada (Figura 2.8), alcanzando un voltaje máximo de 1.05 V y manteniéndose en un intervalo de  $0.90 \pm 0.1$  V en las siguientes 55 hr.

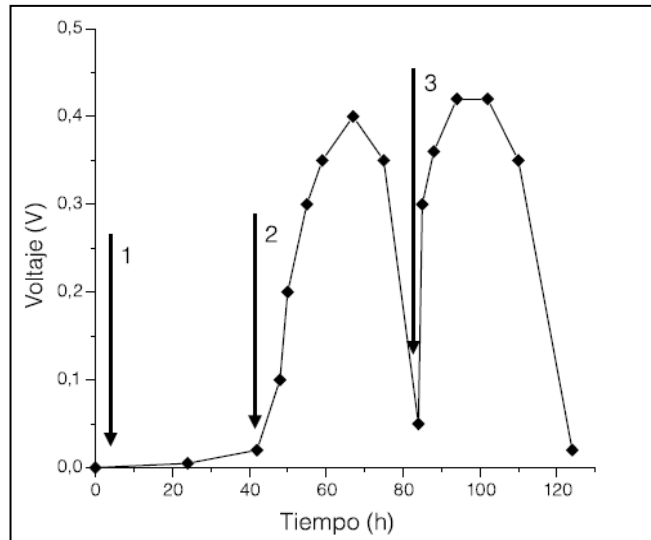


Figura 2.7. Aclimatación de la CMB con tres aplicaciones sucesivas de inóculo (Alzate-Gaviria y col., 2008)

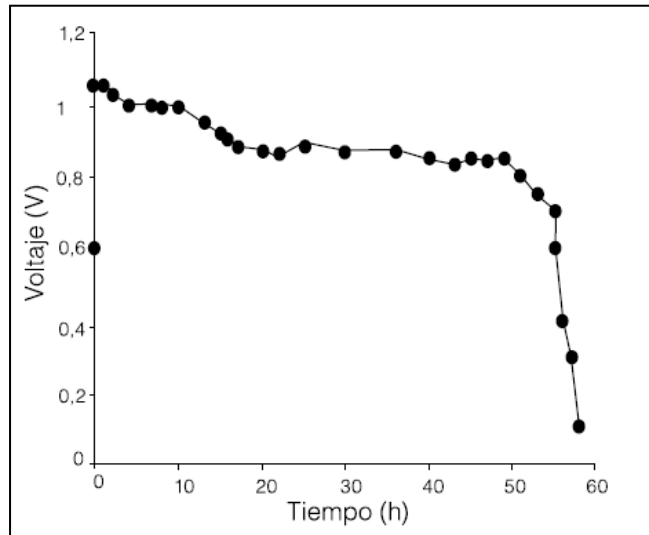


Figura 2.8. Generación de voltaje a partir de la glucosa (Alzate-Gaviria y col., 2008)

### 2.4.1.3. Efecto de la concentración del sustrato

La producción de voltaje en la CMB (Figura 2.9) siguió una cinética de saturación; es decir, de utilización del sustrato en sistemas biológicos en función de la concentración y la velocidad de transporte (Liu y Logan, 2004). Como se puede observar en la Figura 2.9, el voltaje se incrementó a medida que la concentración de glucosa aumentó, manteniéndose constante a partir de una concentración de 1,000ppm en  $1.15 \pm 0.05$  V. Así, el máximo radio de utilización del sustrato ocurre en altas concentraciones del mismo (Metcalf y Eddy, 2003).

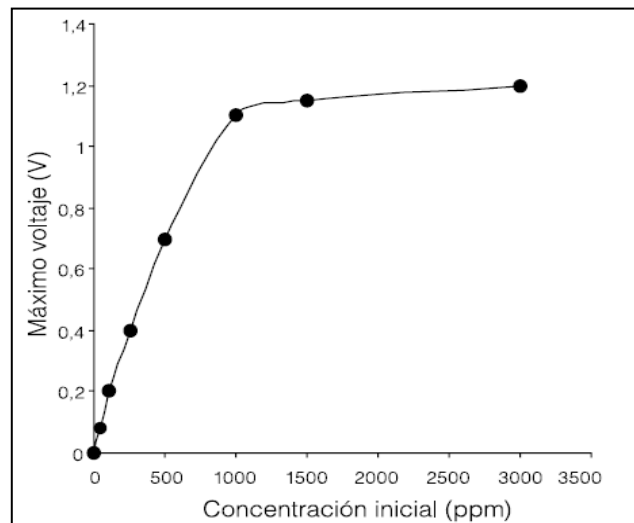


Figura 2.9. Voltaje máximo obtenido a partir de la concentración de glucosa (Alzate-Gaviria y col., 2008)

### 2.4.1.4. Generación de electricidad en medición continua

En esta etapa se monitoreó la generación de electricidad durante un periodo de 130 días. En la Figura 2.10 se observa que con una resistencia de  $1,000 \Omega$ , el voltaje se mantuvo en  $0.88 \pm 0.17$  V durante los primeros 102 días, mientras que la generación de corriente osciló en un intervalo de  $80 \pm 20 \mu\text{A}$ . Después de 102 días se empleó una resistencia de  $600 \Omega$ , registrándose valores de  $0.91 \pm 0.08$  V, en tanto que la corriente se incrementó rápidamente hasta alcanzar un máximo de  $170 \pm 18 \mu\text{A}$ . Con las dos resistencias utilizadas se comprobó, como se esperaba, que con una resistencia menor se registra una mayor corriente. Ésto se debe a que con bajas resistencias, los electrones se mueven más fácilmente a través del circuito. A mayor oxidación del combustible por los microorganismos se espera altos índices de oxidación de los transportadores de electrones en el cultivo a bajas resistencias. Adicionalmente, una CMB puede ponerse en marcha a bajas resistencias para remover contaminantes de altos índices orgánicos (Jang y col., 2004).

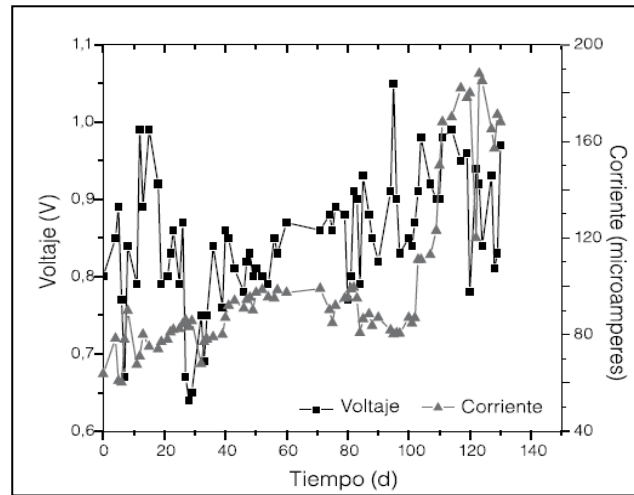


Figura 2.10. Generación de electricidad en la etapa de medición continua, utilizando resistencias externas de 100 y 600  $\Omega$  (Alzate-Gaviria y col., 2008)

#### 2.4.1.5. Generación de potencia en la CMB

La densidad de potencia generada por la CMB se mide en  $\text{mW}/\text{m}^2$  y para los cálculos se emplea la ecuación de la potencia. La producción de la densidad de potencia se muestra en la Figura 2.11. Al emplear una resistencia de 1,000  $\Omega$ , la máxima potencia generada fue de  $335 \text{ mW}/\text{m}^2$  ( $263 \pm 72 \text{ mW}/\text{m}^2$ ) con un voltaje de 1.05 V. Cuando se utilizó una resistencia de 600  $\Omega$  se obtuvo una máxima densidad de potencia de  $640 \text{ mW}/\text{m}^2$  ( $515 \pm 125 \text{ mW}/\text{m}^2$ ) con 0.99 V, es decir, la potencia fue cerca del 50% mayor que la obtenida con una resistencia de 1,000  $\Omega$ . De igual forma, la remoción de materia orgánica expresada en DQO fue de 65 y 82% con 1000 y 600  $\Omega$  respectivamente.

Los resultados muestran que operar con resistencias externas más bajas aumenta la producción de densidad de potencia y conlleva una mayor remoción de materia orgánica (Jang y col., 2004). Los valores obtenidos se encuentran en un intervalo medio alto con respecto a otros trabajos reportados en la literatura. El sistema CMB empleó un catolito acuoso para proveer disuelto al electrodo, sin emplear mediadores externos. Los consorcios microbianos generan mayor densidad de potencia que los cultivos puros (Rabaey y Verstraete, 2005; Pham y col., 2006; Rittmann, 2006).

La densidad de potencia más alta que reporta la literatura es de  $3600 \text{ mW}/\text{m}^2$  en el estudio de Rabaey y col. (2003) donde utilizaron glucosa como sustrato y hexaferrocianuro de potasio para optimizar el rendimiento del cátodo. El ferrocianuro es muy popular como aceptor de electrones en experimentos con CMB y pueden alcanzarse voltajes mayores que utilizando  $\text{O}_2$ . La gran ventaja del ferrocianuro es el bajo sobrepotencial utilizando cátodos de carbón plano; sin embargo, la

generación de potencia con ferrocianuro no es sustentable debido a la insuficiente reoxidación por  $O_2$ , lo cual requiere que el catolito sea remplazado regularmente. Además, largos términos de desempeño del sistema pueden ser afectados por la difusión de ferrocianuro a la cámara del ánodo (Logan y Regan, 2006a).

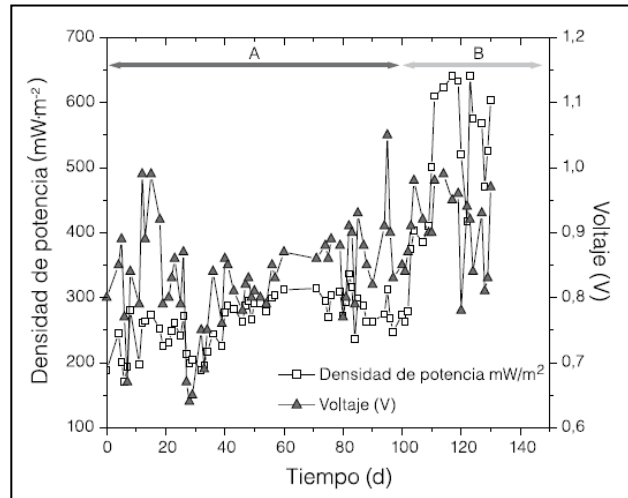


Figura 2.11. Generación de potencia en la CMB, empleando una resistencia de  $1000 \Omega$  (A) y una resistencia de  $600 \Omega$  (B) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

#### 2.4.1.6. Influencia del pH

Otro parámetro importante en el desempeño de la CMB es el pH del compartimiento anódico. Durante la experimentación de la CMB se mantuvo el pH del anolito en  $5.95 \pm 0.75$ . La Figura 2.12a muestra la relación entre la producción de potencia de la CMB y el pH. Como puede apreciarse, las más altas densidades de potencia ocurrieron en valores de pH entre 5.5 y 6.0 obteniéndose resultados que oscilaron entre 280 y 335  $mW/m^2$  para el caso de  $1,000 \Omega$  (Figura 2.12b). La densidad de potencia disminuyó ligeramente a medida que el pH aumentó hasta 6.8; sin embargo, cuando el pH fue  $>7.0$ , la densidad de potencia registrada se redujo, manteniéndose en  $225 \pm 45 mW/m^2$ . Estos últimos resultados demostraron que es recomendable operar la CMB a un pH entre 5.5 y 6. En las mediciones efectuadas empleando una resistencia de  $600 \Omega$  (Figura 2.12b), se alcanzó a pH entre 5.8 y 6.3 una densidad de potencia máxima de  $640 mW/m^2$ .

Las condiciones de pH son un factor clave en el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de las bacterias entéricas no toleran niveles de pH arriba de 7.5 o debajo de 4.0. Además, valores de pH por debajo de 6.8 inhiben la actividad metanogénica (Metcalf y Eddy, 2003). Para este proceso se requirió que durante el metabolismo de fermentación anaerobia se inhibieran algunos microorganismos, como los homoacetogénicos los cuales requieren  $H_2$  para la producción de

acetato y los metanogénicos que utilizan el  $H_2$  para la producción de metano. Es por ello que la operación de los sistemas se realiza a bajos niveles de pH (Angenent y col., 2004).

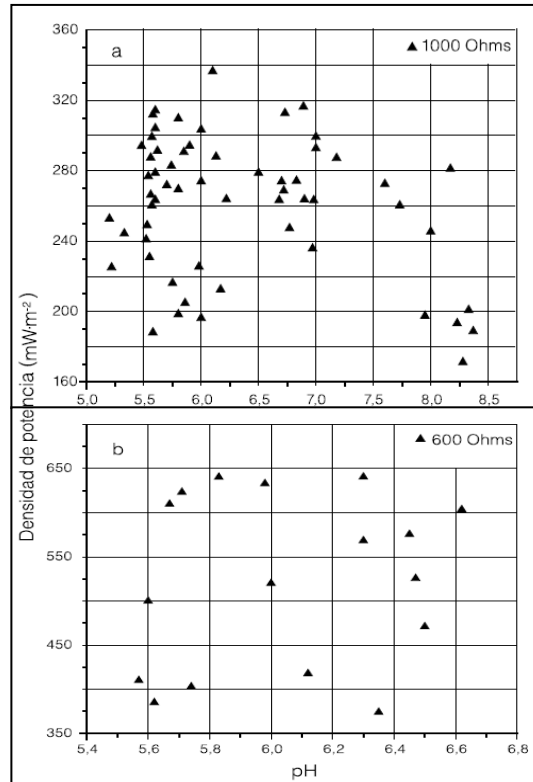


Figura 2.12. Efecto del pH en la densidad de potencia, con una resistencia de 1000  $\Omega$  (a) y una resistencia de 600  $\Omega$  (b) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

#### 2.4.1.7. Efectos de temperatura en una celda microbiana de biocombustible

La CMB operó bajo temperatura mesofílica de  $35 \pm 5$  °C los primeros 102 días. Durante este periodo la máxima densidad de potencia que se alcanzó fue de  $30 \pm 6$   $\mu A/cm^2$  ( $336$  mW/m<sup>2</sup>) empleando 1,000  $\Omega$  a 37 °C (Figura 2.13). Los siguientes días se mantuvo una temperatura constante de 40 °C, obteniéndose una densidad de potencia máxima de  $61 \pm 7$   $\mu A/cm^2$  ( $640$  mW/m<sup>2</sup>) con 600  $\Omega$ . Bajo este último esquema se aumentó la temperatura en 5°C, obteniendo  $63 \pm 5$   $\mu A/cm^2$ ; observándose que al incrementar la temperatura a 45 °C no se registran incrementos substanciales en la densidad de potencia, puesto que el resultado obtenido es muy similar al que se alcanzó a una temperatura de operación de 40 °C (Figura 2.13). Estos resultados reflejan la gran influencia de la resistencia externa utilizada, aunada a una temperatura óptima de operación (Rozendal y col., 2006).

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

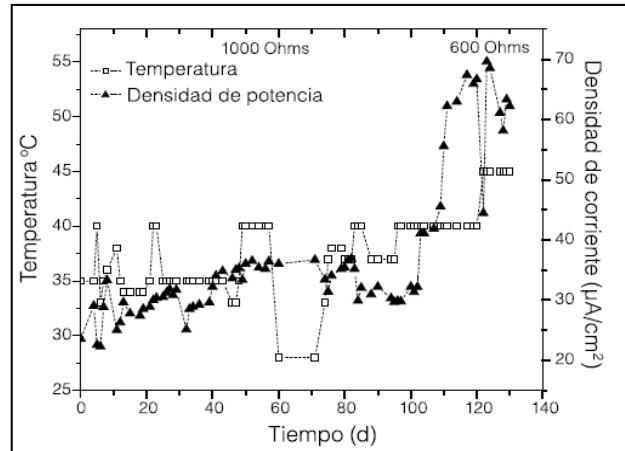


Figura 2.13. Relación de la temperatura de operación sobre la densidad de corriente, utilizando 100 y 600  $\Omega$  (Alzate-Gaviria y col., 2008)

## 2.5. Avances del primer mundo en las CMB

Los avances de las CMB son clasificadas en tres generaciones que no solo se distinguen históricamente en la forma en que se funcionan (Leropoulos y col., 2004).

La primera generación de la CMB requiere de medidores exógenos como el azul de metileno o el rojo neutro, que necesitan reportarse y pueden ser tóxicos. La segunda generación de la CMB también depende de medidores, solo que en este, el medidor es un metabólico electroactivo que emplea los microorganismos. El metabolismo es producido a partir de sulfato que se puede reponer y se utiliza como aceptor final de electrones. La tercera generación CMB son sistemas que no utilizan medidores, puesto que los microorganismos utilizados son anodófilos, que significa que utilizan el ánodo como aceptor final de electrones. La segunda y tercera generación se refiere a los trabajos posteriores para mejorar el rendimiento del sistema mediante la explotación de la actividad metabólica de los microorganismos que se alimentan de diferentes sustratos (sulfato, acetato y glucosa).

### 2.5.1. CMB primera generación

La potencia de salida de estos dispositivos, depende entre otros factores del tamaño, volumen de la celda así como de la superficie y el material de los electrodos. El voltaje promedio de circuito abierto de estos dispositivos es de 0.7 V y la densidad de corriente es aproximadamente 0.15 mA/cm<sup>2</sup>. La primera generación emplea moléculas medidoras, que enlazan a la célula microbiana

con el electrodo (ánodo). Estos medidores entran en la célula en su forma oxidada y después se reduce, es decir, ganan electrón. La forma reducida luego hace su camino hacia el ánodo, en donde libera el electrón (oxidación) y el ciclo continuo. Los medidores son sustancias químicas, que deben ser preparadas de forma manual y añadirse a la celda, ya que las bacterias de la primera generación no los pueden producir. Después de estar tres a cuatro semanas en un sistema cerrado, estos medidores se degradan y tienen que ser remplazados. La intercepción entre la molécula mediador y el electrón se realiza ya sea con la NADH (nicotina adenina dinucleótido), o en un estado más bajo (citocromo c). La NADH (forma reducida) es un transportador de electrones en el ciclo catabólico de las bacterias y la superficie del electrodo es también de gran importancia ya que entre menor sea la distancia entre los dos, menor será la resistencia óhmica en la transferencia de electrones.

### 2.5.2. CMB de segunda generación

En la segunda generación, el medidor (sulfuro  $\text{H}_2\text{S}$ ) es producido por la reducción de sulfato ( $\text{SO}_4$ ) por el microorganismo. Esto resulta en un mecanismo químico completamente diferente y mucho más eficiente. El principio básico de operaciones es más o menos el mismo que la primera generación, excepto que en este caso el medidor es un metabolito electroactivo de los microorganismos. Esto significa que se trata de un sistema más favorable para ser integrado con un agente autónomo, puesto que no hay necesidad de introducir manualmente algún químico, además de la fuente de energía que podría ser un sustrato rico en  $\text{SO}_4$ .

Durante muchos años una serie de microorganismos han sido conocidos por su capacidad de reducir sulfato. Uno de ellos es *Desulfovibrio desulfuricans*, un microorganismo marino anaerobio. *Desulfovibrio desulfuricans* tiene la capacidad de utilizar al sulfato como aceptor terminal y al hacerlo, reduce el sulfato en sulfuro ( $\text{H}_2\text{S}$ ). El  $\text{H}_2\text{S}$  es electroactivo, lo que significa que dona sus electrones al oxidante con el potencial redox más positivo. En ausencia de oxígeno, el oxidante siguiente más positivo es el ánodo. Por lo tanto el sulfuro ofrece los medios para que los electrones fluyan y se complete un ciclo entre la célula de la bacteria y superficie del electrodo.

### 2.5.3. CMB de tercera generación

Emplean al microorganismo anaerobio *Geobacter Sulfurreducens*, el cual dona fácilmente sus electrones a la superficie del electrodo (Habermann y Pommer, 1991). Estos microorganismos tienen la capacidad de fijarse en la superficie del electrodo formando una biopelícula. Todas las otras células en la vecindad no se fijan hasta que encuentran una superficie de oxidación. Una vez que la biopelícula se forma, el electrodo se convierte entonces en su oxidante natural, al que los microorganismos fácilmente liberan sus electrones. Es importante destacar que este sistema funciona sin el uso de medidores artificiales o naturales, por lo que es atractivo para aplicaciones autónomas. Además la tercera generación tiene dos ventajas importantes. En primer lugar, el contacto físico y bioquímico entre los microorganismos y la superficie del electrodo cuando se forma la biopelícula, ya que permite que la resistencia ohmica del flujo de electrones sea mínima,

por lo tanto, la eficiencia es mayor. En segundo lugar, esta bacteria puede utilizar los desechos metabólicos, tales como acetato producido por microorganismos.

## 2.6. Aplicaciones de celdas de combustible

Una celda de combustible puede generar desde una fracción de watts hasta cientos de kilowatts. Debido a esto, pueden ser utilizadas en casi cualquier aplicación donde se necesita la generación de energía eléctrica local. La aplicación en autobuses, bicicletas, automóviles y submarinos ha sido demostrada. Las celdas de combustible son ideales para la distribución de generación de energía a nivel de casa individuales, edificios, o comunidades, con una enorme flexibilidad de fuente de alimentación.

Uno de los mayores enfoques que se le ha dado a este tipo de celdas es en aplicaciones en el transporte por ejemplo las celdas de combustible en automóviles. Casi todos los fabricantes de automóviles han mostrado un prototipo de vehículos que hacen uso de una celda de combustible y han anunciado plantas de producción y comercialización en un futuro próximo. El desarrollo de las celdas de combustible ha sido una alternativa viable que comenzó en los años 90 continuando en la primera década del siglo XXI.

Los principales controladores para el desarrollo de la tecnología de celdas de combustible son su eficiencia, bajo o cero emisiones, y los combustibles que se pueden producir por fuentes autóctonas en lugar de importados. Los principales obstáculos para la comercialización de automóviles con celdas de combustible son el costo de la celda de combustible y disponibilidad de hidrogeno.

### 2.6.1. Configuración de celdas combustibles en automóviles

Las celdas combustibles conectadas a la propulsión pueden ser usadas para diferentes usos por ejemplo:

**1.-La celda combustible dimensionada para satisfacer energía a todo el vehículo.** Una batería puesta solo para la puesta en marcha. Esta configuración es típicamente posible si solo se hace uso de una celda de combustible con un sistema de hidrogeno. Un sistema con procesador combustible podría no tener buena dinámica de respuesta. Además una pequeña batería podría no ser suficiente para poner en marcha un procesador con combustible.

**2.- Celda de combustible diseñada para proporcionar la carga base, pero el pico de potencia para la aceleración del vehículo es proveniente de baterías o dispositivos similares tal como los ultracapacitores.** Esto puede considerarse como una configuración paralela híbrida ya que la celda de combustible y la batería operan paralelamente. La celda de combustible proporciona una potencia cruzada, y la batería proporciona un pico de potencia tal para la aceleración. La presencia de una batería en el sistema da un resultado mucho más rápido en respuesta de los cambios de



Una batería permite recuperar la energía del frenado, resultando un sistema más eficiente. La desventaja de tener una batería son el costo extra, peso y volumen.

**3.-Celdas de combustible diseñada solo para recargar la batería.** Las baterías proporcionan toda la energía necesaria para el arranque del vehículo. Esto puede ser considerado como una configuración híbrida en serie (la celda de combustible carga la batería y la batería controla el motor eléctrico). Un arreglo en serie tiene las mismas ventajas y desventajas de tener una batería aplicada en forma paralela. La potencia de salida nominal de la celda de combustible depende de la rapidez en que la batería requiera recargarse. Una batería más pequeña podría recargarse más rápido y podría resultar mayor a la celda de combustible.

Las celdas combustibles sirviendo solo como un auxiliar para la unidad de potencia, esto es, otro motor usado para la propulsión, pero la celda de combustible es usada para arrancar una parte o todo el sistema eléctrico del vehículo. Esto puede ser particularmente atractivo para camiones, ya que permitiría la operación del aire acondicionado o la unidad de refrigeración mientras el vehículo está en movimiento, sin la necesidad de arrancar el motor principal.

La implementación de pilas combustibles como fuente de energía, ha sido desarrollada para diversos fines útiles para el ser humano, por ejemplo el desarrollo de tecnología de pilas combustibles para el transporte, utilizando pilas de combustible de membrana de electrolito polimerico (PCMEP).

Las PCMEP entregan una alta densidad de energía, además de presentar características como sus poco peso, costo y volumen. La membrana electrolítica simplifica el sellado o cierre del proceso, reduce la corrosión y mantiene una larga vida de las celdas y de las pila; opera a baja temperatura permitiendo rápidos arranques y respuesta inmediata a los cambios de demanda potencial.

Otra pila de combustible que ha tenido aplicación como elemento auxiliar en el automóvil es la pila de óxidos sólidos, la cual está restringida actualmente en la producción estacionaria de energía eléctrica básica, recientemente. El acuerdo firmado por BMW, Renault y Delphi Automotive Systems para la cooperación en el desarrollo de sistemas que usen las Celdas de óxidos Sólidos como energía auxiliar en automóviles y camiones, ha dado un nuevo giro a las aplicaciones de dicha celda.

Dicho proyecto utiliza una pila de combustible de óxidos sólidos, es una tecnología diferente a la de la pila de membrana sobre la cual tanto Renault como BMW ya realizaron investigaciones para la alimentación de vehículos con tracción eléctrica. En el caso del generador auxiliar de energía del proyecto BMW-Renault -Delphi, este reformador producirá hidrógeno a partir de la gasolina o de gasóleo del vehículo. Además, aparte de hidrógeno y de CO<sub>2</sub>, una pila de óxido sólido también puede usar metano.



El único proyecto con celdas combustibles alcalinas en automóviles lo ha llevado a cabo Zevco, una compañía anglo belga. En Julio de 1998, Zevco presento en Londres un taxi propulsado por energía eléctrica de una pila de combustible alcalina. Hasta diciembre de 1998 Zevco desarrollo 5 taxis, y en el año de 1999 presento otros 50 taxis con esta misma tecnología.

Este sistema CCA, desarrolla 5kW (mejorables hasta 10 kW) de energía continua para alimentar el motor eléctrico. La máxima potencia desarrollada es 45 kW. El taxi acelera de 0 a 50 km/h en 11 segundos y su velocidad máxima son de 100 km/h. El almacenamiento de hidrógeno a bordo alcanza los 30 Nm, y el consumo medio son de 5 Nm<sup>3</sup>/h.

En el año de 1998, el costo de estos vehículos doblaban al de un vehículo diésel convencional, sin embargo en el 2002 Zevco esperaba disminuir el 80% de la pila, y de esta manera reducir aproximadamente a la mitad el costo del vehículo.

### Capítulo 3. Metodología

#### 3.1. Construcción de una celda microbiana de biocombustible

Como ya ha sido mencionado a lo largo de los años se han utilizado una gran cantidad de materiales para la construcción de las CMB, en esta ocasión se buscó aquellos materiales que fueran fáciles de adquirir, con características que no afectaran el comportamiento de la celda.

La construcción de la celda se llevó a cabo tomando en cuenta que el material no afectara en el crecimiento de la levadura dentro de la celda, resistente, fuera fácil de adquirir y manipular Figura 3.1.

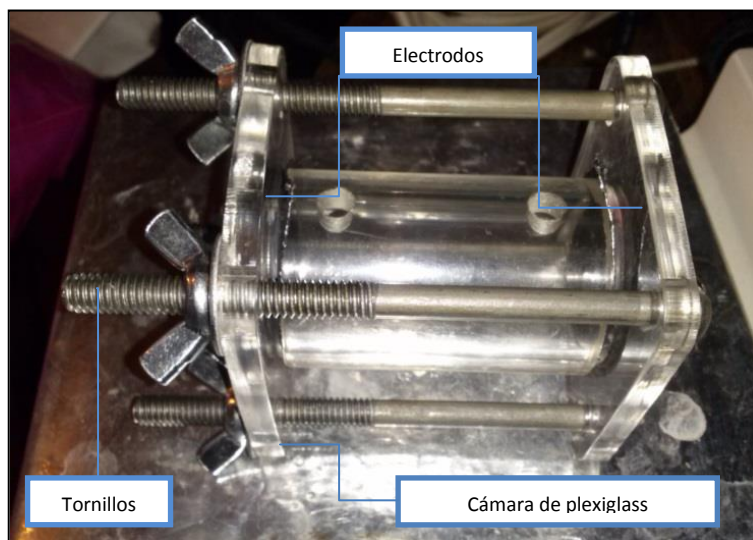


Figura. 3.1. Fotografía de la celda microbiana de biocombustible utilizada para el experimento

##### 3.1.1. Materiales

Se realizó la construcción de dos celdas con un volumen de 125 ml y 40 ml, la celda constó de un cilindro horizontal hecho de polimetilmetacrilato mejor conocido como plexiglass; algunas de las características que poseen el polimetilmetacrilato ( $C_5O_2H_8$ )<sub>n</sub>, es un material transparente, rígido, con una resistencia alta a la intemperie, así como a temperaturas debajo de los 160°C, entre otras características.

El primer cilindro cuenta con una longitud de 5.9 cm, un diámetro externo de 6.2 cm, un diámetro interno de 5 cm, y un espesor de 0.6 cm (Figura 3.2). Los cilindros contaban con una placa en cada uno de los extremos, de la cual una de las placas se le realizó una perforación con un diámetro de 5.3 cm para la celda de mayor volumen lo permitió que el ánodo pudiera airearse (Figura 3.3).

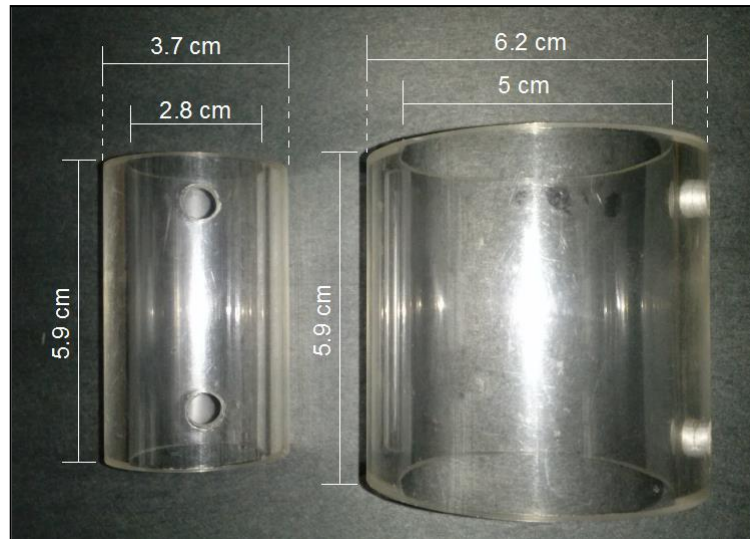


Figura 3.2. Cilindro de polimetilmetacrilato utilizado en el experimento

La segunda de las celdas con un volumen de 40 ml aproximadamente, contaba con un cilindro con una longitud de 5.9 cm, un diámetro externo de 3.7 cm, un diámetro interno de 2.8 cm así como espesor de 0.5 cm (Figura 3.2.), mientras que una de las placas de los extremos poseía un orificio con un diámetro de 2.7 cm.

Las placas de los extremos tenía una dimensión de 8 x 8 cm y 6 x 6 cm, respectivamente con un espesor 0.5 cm.

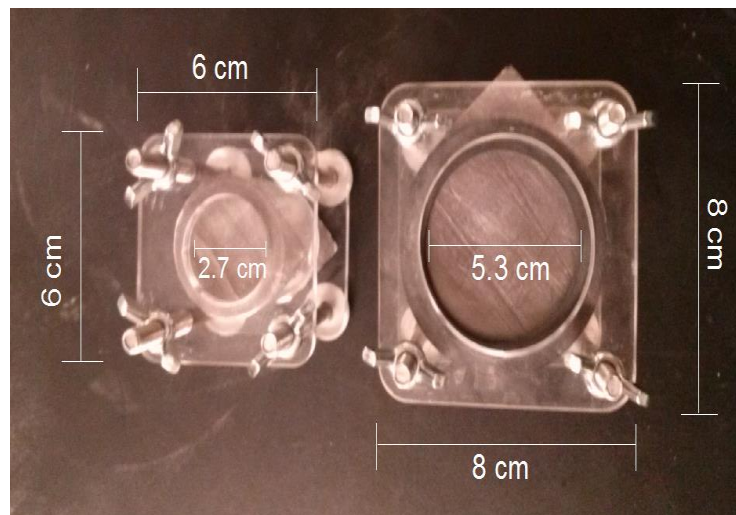


Figura 3.3. Placa de polimetilmetacrilato utilizada en el experimento

Para la construcción de la celda se hizo uso de algunos otros materiales como son las uniones de las placas con los cilindros, para lo cual se ocupó los empaques de hule EPDM, y los tornillos que fueron colocados por la parte exterior de la celda Figura 3.4.

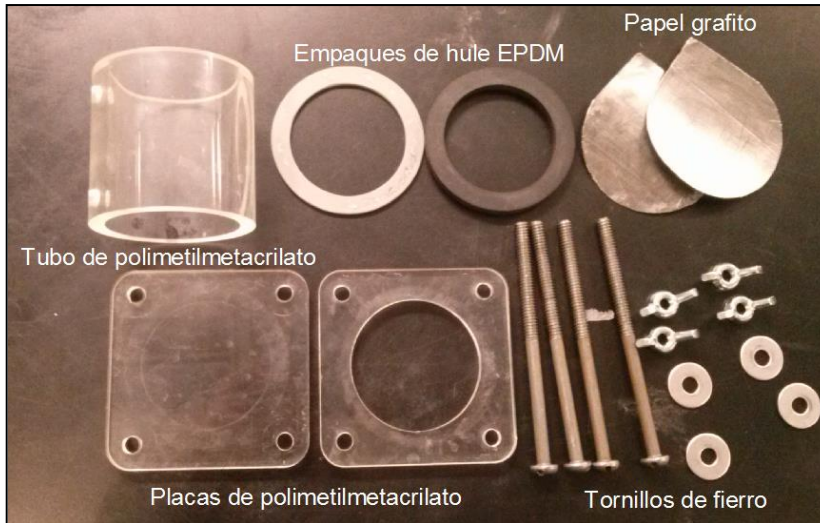


Figura.3.4. Fotografía de los materiales de construcción de la CMB experimental

Uno de los materiales más importantes para la celda son aquellos usados como cátodo y ánodo, donde se utilizó el papel grafito para ambos (Figura 3.5.), tomando en cuenta que el papel grafito cuenta con características como las que se muestran en la Tabla 3.1.

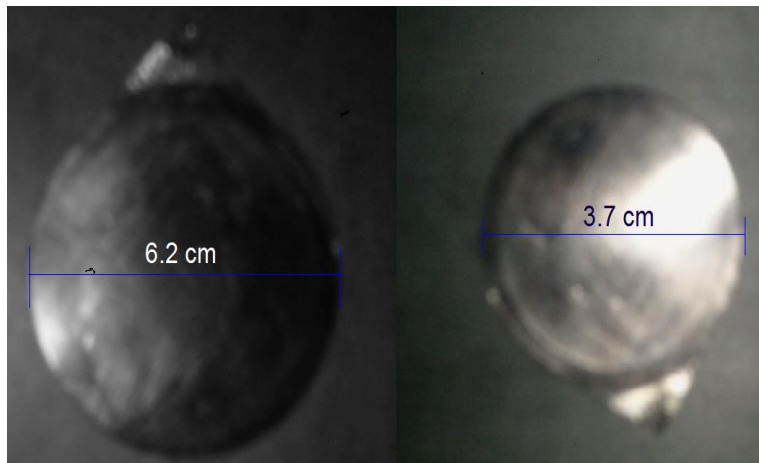


Figura 3.5. Fotografía del cátodo y ánodo de papel grafito utilizados en el experimento



Tabla 3.1. Características del papel grafito (GSISA, 1913; Groover, 1997)

<b>Características fisicoquímicas y otras del grafito</b>	
<b>Impenetrable</b>	Gases y líquidos
<b>Máxima presión de trabajo</b>	140 bar
<b>Temperatura mínima</b>	-200 °C
<b>Temperatura máxima</b>	450 °C
<b>Pureza</b>	98.2 %
<b>En atmosfera inerte</b>	3,000 °C
<b>En vapor</b>	500°C
<b>En aire</b>	450°C
<b>Utilizable desde temperaturas criogénicas hasta 3,000°C</b>	
<b>Resistente a corrosión química</b>	
<b>Libre de asbesto</b>	
<b>Inofensivo para la salud</b>	
<b>Estable a lo largo del tiempo</b>	
<b>Gran anisotropía</b>	
<b>Muy buena resistencia al choque térmico</b>	
<b>Fácil de manipular</b>	
<b>Resistente al choque térmico</b>	
<b>Resistencia a la tensión 15000 PSI</b>	
<b>Densidad</b>	1-1.7 g/cm <sup>3</sup>
<b>Conductor de electricidad</b>	
<b>Inerte en ácidos</b>	

Para realizar cada una de las mediciones como lo son la cantidad de materia orgánica por medio de los sólidos volátiles totales, el pH, así como la cantidad de energía producida se hizo uso de algunos otros materiales que se muestran a continuación.

### **Amplificador**

El amplificador de instrumentación es un dispositivo creado a partir de un conjunto de amplificadores operacionales. Está diseñado para tener una alta impedancia de entrada y un alto rechazo en modo común (Figura 3.6). La operación que se realiza en el amplificador es restar de sus dos entradas multiplicadas por un factor. El uso de estos amplificadores de instrumentación es en sistemas o aparatos que trabajan con señales muy débiles, tales como equipos médicos tal como un electrocardiograma para minimizar el error de medida. El amplificador AD620 cuenta con características que se muestran en la Tabla 3.2.



Tabla 3.2. Componentes del amplificador AD620.

AD620	
Resistencia variable	1-1000
Rango de alimentación	$\pm 2.3 - \pm 8$
Componentes del circuito	
Amplificador de instrumentación AD620	
Resistencia Variable $k\Omega$	
Resistencia de 100 $\Omega$	



Figura 3.6. Fotografía del Dispositivo amplificador acoplado para la medición del experimento

**Multímetro**

Para verificar que las lecturas del dispositivo arduino fueran las correctas se hizo uso de un multímetro marca REDOX 535 380 (Figura 3.7), las características del multímetro son mostradas en la Tabla 3.3.



Figura 3.7. Fotografía del multímetro utilizado en el experimento

Tabla 3.3. Multímetro marca RADOX utilizado en la experimentación.

Características	
Voltaje de corriente directa	200 mV- 600 V
Voltaje de corriente alterna	200 V- 600 V
Amperaje corriente directa	200 $\mu$ /2 m/20 m/200 m /10 A
Alimentación	9 V
Resistencia	200 $m\Omega$ -2 M $\Omega$
Probador de transistores	
Continuidad audible	

### Potenciómetro

Para la determinación del pH se usó un potenciómetro HACH sensION pH 31 (Figura 3.8), que cuenta con características mostradas en la Tabla 3.4.



Figura 3.8. Fotografía del equipo HACH sensION pH 31 utilizado en el experimento.

Tabla. 3.4. HACH sensION pH 31 (HACH, 2013)

<b>Características</b>	
<b>Calibración de electrodo de pH</b>	1-3 puntos de calibración
<b>Almacenamiento interno</b>	400 resultados
<b>Condiciones ambientales para su funcionamiento</b>	
<b>Humedad relativa</b>	≤80% (sin condensación)
<b>Temperatura</b>	5- 40 °C
<b>Entradas</b>	BNC, ref., Pt1000
<b>Exactitud</b>	Potencial de óxido reducción: 0.2 mV
<b>Exactitud de la temperatura</b>	≤ 0.2 °C
<b>Exactitud de mV</b>	≤ 0.2 mV
<b>Exactitud del pH</b>	0.002 pH
<b>Exportación de datos a la PC</b>	
<b>Medición de pH</b>	-2- 16 pH
<b>Parámetros</b>	pH, mV, ISE, POR/Redox, temperatura
<b>Rango de medición de temperatura</b>	-20 – 150 °C
<b>Rango de medición de mV</b>	-1999 - 1999 mV
<b>Resolución de pH</b>	Seleccionable entre y 0.1 pH 0.001, 0.01 y 0.1 pH
<b>Resolución de temperatura</b>	0.1 °C
<b>Resolución de mV</b>	0.1 mV



### Parrilla de calentamiento y agitación

La puesta en marcha de la celda se realizó por medio de una parrilla de calentamiento y agitación marca Termolyne Nuova Stir Plate (Figura 3.9), de la que solo se ocupó la modalidad de agitación, la parrilla cuenta con características mostradas en la Tabla 3.5.



Figura 3.9. Fotografía de calentamiento y agitación Termolyne Nuova Stir Plate que fue utilizada en el experimento

Tabla 3.5. Características técnicas de la parrilla de calentamiento y agitación Thermolyne Nuova Stir Plate (TFSI, 2012a)

<b>Velocidad</b>	100- 1000 rpm
<b>Rango de temperatura</b>	38 a 371°C
<b>Superficie de calentamiento</b>	17.7 cm <sup>2</sup>
<b>Voltaje</b>	240 V
<b>Amperaje</b>	3.6 A
<b>Watts</b>	851 w
<b>Dimensiones</b>	
<b>Altura</b>	11.4 cm
<b>Longitud</b>	11.4 cm
<b>Ancho</b>	29.9 cm
<b>Acero inoxidable con revestimiento de porcelana resistente a la corrosión</b>	
<b>Capacidad de carga</b>	9.1 Kg
<b>Control de baja temperatura</b>	Hasta 38 °C



### Bomba de aire

Se utilizó una bomba Hagen Elite 802 (Figura 3.10), la cual se encargó de suministrar aire dentro de la celda en algunas de las pruebas que se realizaron para el crecimiento de la levadura. La bomba cuenta con las características que se muestran en la tabla 3.6.

Tabla 3.6. Características de bomba marca Elite 802 (RCHC, 2013)

Características	
Para	75.5 L de agua
Presión	3.5 PSI
Consumo eléctrico	3.5 w/h
Flujo	1.5 L/min
Componentes	
Salida doble de aire	
Filtro de aire	
Diafragma de goma	
Cubierta amortiguadora de ruido	



Figura 3.10. Fotografía de Bomba aireadora marca Elite 802 utilizada en el experimento

### Estufa

Se hizo uso de una estufa marca Yamato modelo ADP200C (Figura 3.11), para el secado de las muestras que eran tomadas de la celda, así como para poner en peso constantes las cápsulas que fueron usadas para la muestra. La estufa cuenta con características mostradas en la Tabla 3.7.



Figura 3.11. Fotografía de la estufa utilizada en el experimento



Tabla 3.7. Características de estufa usada en el experimento (YSAI, 2013)

Características de la estufa	
<b>Sistema</b>	Secado al vacío
<b>Rango de temperatura de operación.</b>	+20 a 240 °C
<b>Rango de presión de operación.</b>	101 a 0.1 kPa (presión absoluta)
<b>Tiempo de llegada a temperatura máx.</b>	Aproximadamente 70 min
Componentes	
<b>Material interior</b>	Acero inoxidable tipo 304
<b>Material exterior</b>	Placa de acero laminado con acabados de resina melamina
<b>Material aislante de calor</b>	Lana de roca
<b>Método de calentamiento</b>	Calentamiento directo por descompresión de la cámara
<b>Calentador</b>	Calentador Mica 0.68kw
<b>Medidor de vacío</b>	Tubo tipo Bourdon 101 a 0 kPa
<b>Ventana de observación</b>	Vidrio templado 12 mm de espesor y placa de resina de policarbonato
Controladores	
<b>Método de control de temperatura</b>	Control de PID por microprocesador
Dimensiones	
<b>Dimensiones internas(WxDxH)</b>	200×250×200 mm
<b>Dimensiones externas (WxDxH)</b>	427×447×535 mm
<b>Capacidad</b>	10 L
<b>Fuente de energía 50/60 Hz</b>	115V, monofásico, 7A 220V, monofásico, 4A

### Mufla

Se ocupó una mufla de la marca Thermo scientific (Figura 3.12) para determinar la materia orgánica e inorgánica presentes en las muestras tomadas de la celda microbiana de biocombustible, la mufla contaba con las características mostradas en la Tabla 3.8.



Figura 3.12. Fotografía de la mufla utilizada en el experimento

Tabla 3.8. Características la mufla usada en el experimento (TFSI, 2012b)

Características de la mufla	
Capacidad	2.2 L
Rango de temperatura	100 a 1200 °C
Altura exterior	41.9 cm
Ancho exterior	27.9 cm
Longitud exterior	45.7 cm
Altura interior	9.5 cm
Ancho interior	10.1 cm
Longitud interior	22.8 cm
Voltaje	240 V
Hertz	50/60Hz
Amperaje	9.3 A
Control de temperatura	Digital programable
Aislante	Cuatro elementos incrustados en cemento especial refractario

### Balanza analítica

La balanza analítica utilizada fue de la marca OHAUS como la que se muestra en la Figura 3.13 con las características especificadas en la tabla 3.9 para determinar el peso de las muestras durante el experimento.



Figura 3.13. Fotografía de la balanza analítica utilizada en el experimento

Tabla 3.9. Características la balanza analítica usada en el experimento (OHAUS, 2013)

Capacidad	210 g
Sensibilidad	0.0001 g
Calibración	Interna
Temperatura de operación	20 a 40 C
Humedad relativa	10-80%
Burbuja de nivel	
Linealidad	±0.0002 g
Tiempo de estabilización	3seg.
Tiempo de tara	1seg.
Desviación de tara	0.1 g
Dimensiones	19.6x32x28.7
Diámetro de platillo	9 cm

El dispositivo arduino “uno” se ocupó como transmisor de datos de producción de energía en la celda microbiana de biocombustible (Figura 3.14). El arduino es una placa electrónica basada en el microprocesador ATmega328 (Tabla 3.10). Para registrar los datos el programa funciona como un voltímetro, utiliza los sensores A0 y GND del microcontrolador arduino, en estos fueron conectados los electrodos de la celda para medir el voltaje generado, se utilizó un delay dentro del programa el cual es el encargado de llevar un control del tiempo que puede ser variado ya que 1 seg es igual a 1000, al conectar los sensores a las terminales para medir de la celda es necesario ejecutar el programa Tiny que es el responsable de acumular los datos medidos para posteriormente convertir el tiempo real en la mediciones efectuadas.

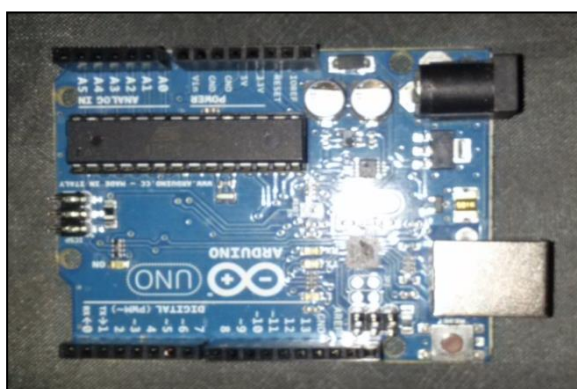


Figura 3.14. Fotografía dispositivo arduino uno utilizada en el experimento

Tabla 3.10. Características del dispositivo arduino utilizado en el experimento (Arduino, 2013)

Características	
Microcontrolador	ATmega328
Tensión de funcionamiento	5 V
Voltaje de entrada recomendado	7 - 12 V
Voltaje límite de entrada	6 – 20 V
Pines de entrada	14 digitales
Pines de salida	6 entradas analógicas
Corriente continua para los pin	40 mA
Memoria Flash	32 KB
Memoria flash para arranque	0.5 KB
SRAM	2 KB
EEPROM	1 KB
Conexión	USB
Velocidad	16 Hz

### 3.2. Alimentación de la celda

Para poner en marcha la celda se hizo uso de un cultivo mixto como sustrato; la celda fue alimentada en forma intermitentemente experimentando con diferentes concentraciones de levadura o bien diferentes áreas de transferencia.

#### 3.2.1. Medio de cultivo

Para tener la proliferación de la levadura desde el punto de vista de la fermentación, es necesario cumplir varios puntos biológicos como fisicoquímicos. En primer término es necesario tener un medio de cultivo con las condiciones adecuadas para que las levaduras puedan desarrollarse. Las levaduras orgánicas requieren para su crecimiento de una fuente de energía y de fuentes de materia. En la mayoría de las fermentaciones industriales la fuente de energía y la de la materia son la misma, ya que en su mayoría utilizan la azúcar para ambas funciones, pero es necesario que la fuente de materia contenga todos los elementos constitutivos de la masa celular en proporciones requeridas para la composición interna de los organismos. En la Tabla 3.11 se muestran algunos compuestos orgánicos de los principales elementos de la masa celular y su porcentaje en peso seco. La composición del medio de cultivo debe considerar todos los elementos de la Tabla 3.11 así como otros necesarios para la producción de metabolitos especiales (Quintero, 1990).

Tabla 3.11. Compuestos orgánicos de los principales elementos constituyentes de las células microbianas (Quintero, 1990)

Elemento	Compuestos orgánicos	% del peso seco
H	Compuestos orgánicos y agua	8
O	Compuestos orgánicos y agua	20
C	Compuestos orgánicos	50
N	Proteínas, ácidos nucleicos y coenzimas	14
S	Proteínas y algunas coenzimas	1
P	Ácidos nucleicos, fosfolípidos y coenzimas	3
Mg	Cofactor de reacciones enzimáticas	0.5
Mn	Cofactor de algunas enzimas	0.1
Ca	Cofactor de enzimas(proteasas)	0.5
Fe	Citocromos, proteínas y cofactor de enzimas	0.2
Co	Constituyentes de vitamina B <sub>12</sub>	0.03
Zn	Constituyente de ciertas enzimas	
Cu		
Mo		

La celda fué alimentada con un medio de cultivo compuesto por extracto de levadura, peptona, y dextrosa, con una relación de 10, 20, 20 g respectivamente por cada litro de agua destilada. Dentro de la celda se hizo uso de un agitador magnético, para tener una concentración homogénea en todo el sistema.

El extracto de levadura es utilizado en medios de cultivo microbiológicos, ya que es un excelente estimulador para el crecimiento de bacterias, posee ciertas características que se muestran en la Tabla 3.12.

Peptona, son hidrolizados proteínicos derivados de caseína, carne y vegetales, que en su presentación final ofrecen una fuente efectiva de nitrógeno y carbono en otros nutrientes. En formulaciones y manejo adecuado estimulan y promueven el crecimiento bacteriano, como se muestra en la hoja de especificaciones de la Tabla 3.13.

Por último la dextrosa, que es utilizada como fuente de energía para el crecimiento de las bacterias (Tabla 3.14).

Tabla 3.12. Características del extracto de levadura (BIOTECNICA, 1982b)

<b>Propiedades fisicoquímicas y otras</b>			
<b>Punto de ebullición</b>	No aplica	<b>Punto de fusión</b>	No aplica
<b>Presión de vapor (MM HG)</b>	No aplica	<b>Rango de evaporación</b>	(butil acetato=1) no aplica
<b>Densidad de vapor (AIR=1)</b>	No aplica	<b>pH</b>	6.0-7.2
<b>Solubilidad en agua</b>	20 g/l	<b>Propiedades explosivas</b>	No establecida
<b>Gravedad específica (H2O=1)</b>	No aplica	<b>Perdidas en el secado</b>	Máximo 5%
<b>Apariencia y olor</b>	Polvo fino de color amarillo a café claro de olor característico y sin partículas extrañas.		
<b>Datos sobre peligro de explosión e incendio</b>		No aplica	
<b>Datos de reactividad</b>		No especificados	
<b>Riesgo para la salud</b>			
<b>Peligros para la salud, enfermedades crónicas y agudas</b>	Agudas: la inhalación puede causar irritación del tracto respiratorio. Crónicas: el contacto prolongado con el polvo puede causar irritación del tracto respiratorio, alergia o asma.		
<b>Signos y síntomas de exposición.</b>	En caso de inhalación: suministrar aire fresco; en caso de trastornos, consultar al médico. En caso de contacto con la piel y ojos: por regla general el producto no irrita la piel. Lavar con agua corriente hasta la eliminación del producto. Lavar con agua corriente los ojos durante 2 o 3 min.		
<b>Primeros auxilios</b>			



Tabla 3.12. Características del extracto de levadura (BIOTECNICA, 1982b) continuación

Medidas de control	
<b>Almacenaje</b>	Guardar en un recipiente cerrado, en un lugar limpio y seco.
<b>Protección respiratoria</b>	Usar cubre bocas bajo condiciones normales de empleo.
<b>Guantes de protección</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Protección ocular</b>	Emplear lentes de seguridad.
<b>Ropa de seguridad</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Manejo e higiene</b>	Lavarse las manos con agua y jabón después de manejar el polvo y evitar la inhalación prolongada.
<b>Ventilación</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Extractor</b>	No especificado
<b>Consideraciones de eliminación</b>	Disolver o mezclar el material con un solvente combustible y quemar en un incinerador químico equipado con postquemador y lavador. Revisar todas las regulaciones ambientales locales, estatales y federales.

Tabla 3.13. Características de la peptona (BIOTECNICA, 1982a)

Propiedades físicas y químicas				
<b>Punto de ebullición</b>	de	No aplica	<b>Punto de fusión</b>	No aplica
<b>Presión de vapor (MM HG)</b>	de	No aplica	<b>Rango de evaporación</b>	(butil acetato=1) no aplica
<b>Densidad de vapor (AIR=1)</b>	de	No aplica	<b>pH</b>	6.5-7.5
<b>Solubilidad en agua</b>	en	20 g/l	<b>Propiedades explosivas</b>	No establecida
<b>Gravedad específica (H2O=1)</b>		No aplica	<b>Perdidas en el secado</b>	Máximo 6%
<b>Apariencia y olor</b>	Polvo fino de color amarillo claro o beige, de olor característico			
<b>Datos sobre peligro de explosión e incendio</b>	No aplica			
Riesgo para la salud				
<b>Peligros para la salud, enfermedades crónicas y agudas</b>	Agudas: la inhalación puede causar irritación en el tracto respiratorio. Crónicos: el contacto prolongado con el polvo puede causar irritación en el tracto respiratorio, alergia o asma.			
<b>Signos y síntomas de exposición.</b>	En caso de inhalación: suministrar aire fresco; en caso de trastornos, consultar al médico.			
<b>Primeros auxilios</b>	En caso de contacto con la piel y ojos: por regla general el producto no irrita la piel. Lavar con agua corriente hasta la eliminación del producto. Lavar con agua corriente los ojos durante 2 o 3 minutos.			
Medidas de control				



Tabla 3.13. Características de la peptona (BIOTECNICA, 1982a) continuación

<b>Almacenaje</b>	Guardar en un recipiente cerrado, en un lugar limpio y seco.
<b>Protección respiratoria</b>	Usar cubre bocas bajo condiciones normales de empleo.
<b>Guantes de protección</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Protección ocular</b>	Emplear lentes de seguridad.
<b>Ropa de seguridad</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Manejo e higiene</b>	Lavar las manos con agua y jabón después de manejar el polvo y evitar la inhalación prolongada.
<b>Ventilación</b>	No se requiere bajo condiciones normales de empleo.
<b>Extractor</b>	No especificado
<b>Consideraciones de eliminación</b>	Disolver o mezclar el material con un solvente combustible y quemar en un incinerador químico equipado con postquemador y lavador. Revisar todas las regulaciones ambientales locales, estatales y federales.

Tabla 3.14. Características de la Dextrosa (APMI, 2011)

<b>Propiedades fisicoquímicas y otras</b>			
<b>Apariencia</b>	Polvo y cristales	<b>Punto de inflamación</b>	No disponible
<b>Color</b>	Incoloro y blanco	<b>Punto de evaporación</b>	No disponible
<b>Olor</b>	Inodoro	<b>Peso específico</b>	1.544
<b>Estado de la materia</b>	Sólido	<b>Densidad relativa</b>	No disponible
<b>Punto de fusión</b>	146 °C	<b>Solubilidad (agua)</b>	Soluble
<b>Punto de ebullición</b>	No disponible	<b>Coefficiente de reparto (n-octanol/agua)</b>	-3.24
<b>Peso molecular</b>	180.16 g/mol	<b>Formula molecular</b>	C <sub>6</sub> -H <sub>12</sub> -O <sub>6</sub>
<b>Datos sobre peligro de explosión e incendio</b>		No aplica	
<b>Datos de radioactividad</b>		No especificado	
<b>Riesgo para la salud</b>			
<b>Vías de exposición</b>	Inhalación. Contacto con la piel. Contacto con los ojos. Ingestión.		
<b>Ojos</b>	El polvo o talco puede irritar el tejido de los ojos. En caso de ocurrir irritación, se espera que sea pasajera.		
<b>Piel</b>	No se conocen ni se esperan daños a la salud en condiciones normales de uso.		
<b>Inhalación</b>	No se conocen ni se esperan daños a la salud en condiciones normales de uso.		
<b>Ingestión</b>	Se espera que represente un riesgo reducido de ingestión.		
<b>Efectos crónicos</b>	Ningunos conocidos/Ninguna conocida.		



Tabla 3.13. Características de la Dextrosa (APMI, 2011) continuación

<b>Efectos potenciales sobre la salud</b>	<b>Los componentes del producto no están clasificados como peligrosos para el medio ambiente. Sin embargo, esto no impide la posibilidad de que los derrames grandes o frecuentes puedan tener un efecto nocivo o perjudicial en el medio ambiente.</b>
<b>Manejo y almacenamiento</b>	
<b>Manejo</b>	No maneje, almacene o abra cerca de llama abierta, fuentes de calor o fuentes de ignición. Proteja el material de la luz solar directa. Lávese cuidadosamente después de la manipulación.
<b>Almacenamiento</b>	Manténgase el recipiente bien cerrado. Almacenar en lugar bien ventilado.
<b>Medidas de control</b>	
<b>Protección para ojos y rostro</b>	Usar gafas de protección ajustadas, si el material genera polvo.
<b>Protección cutánea</b>	Usar ropa apropiada para prevenir el contacto prolongado o repetido con la piel.
<b>Protección respiratoria</b>	Usar equipo respiratorio si hay formación de polvos.
<b>Protección para las manos</b>	Se recomienda usar guantes en caso de uso prolongado.
<b>Consideraciones generales sobre higiene</b>	Proveer estación de lavados de ojos y ducha de emergencia. Rutinariamente lave la ropa de trabajo y el equipo de protección para eliminar los contaminantes.

### 3.2.3. Levadura

#### *Saccharomyces cerevisiae*

Las células de esta levadura pueden ser redondas, ovaladas o alargadas e incluso llegan a formar pseudomicelio. Se produce por gemación multipolar o por formación de ascosporas que pueden seguir a la conjugación, o bien pueden ser desarrolladas a partir de células diploides cuando estas representan la fase vegetativa. La especie tipo *S. cerevisiae* se utilizan en diversas industrias alimenticias para fermentación del pan, como levaduras superficiales, en la fermentación de cerveza tipo inglés, de vinos o en la producción de alcohol, glicerol e invertasa. Las levaduras superficiales son fermentadoras muy activas y se desarrollan rápidamente a 20 °C. La formación de CO<sub>2</sub> y el agrupamiento de las células hacen que estas sean arrastradas a la superficie de ahí su nombre. Las levaduras profundas, que son aquellas ausentes de agrupamientos, su proliferación más lenta y la formación de CO<sub>2</sub> permiten que se depositen en el fondo, efectúan mejor fermentación a temperaturas bajas de 10 a 15 °C (Frazier y Westhoff, 1978).

### 3.3. Puesta en marcha de la celda microbiana de biocombustible

Para poner en marcha la celda microbiana de biocombustible se le agrego el sustrato mixto, formado por extracto de levadura, peptona, y dextrosa en la relación de cantidades 10, 20, 20 g respectivamente por cada litro de agua haciendo la relación adecuada para cada volumen de las celdas como se muestra en la Tabla 3.15.

Se realizaron 7 pruebas en las celdas con una relación de volumen de sustrato aproximadamente para cada volumen de celda, las cuales se muestran en la Tabla 3.15.

Tabla 3.15. Régimen de alimentación de la CMB

Experimento	Extracto de levadura (g)	Peptona (g)	Dextrosa (g)
1	0.4294	0.8717	0.8693
2	0.3491	0.7109	0.7182
3	1.2471	2.6	2.6263
4	0.4	0.8022	0.8009
5	0.4020	0.8423	0.8750
6	1.2564	2.6105	2.8726

Para determinar la materia orgánica e inorgánica indirectamente presente en la celda se determinó tomando en cuenta el método APHA y la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, Residuales y residuales tratadas Figura 3.15.

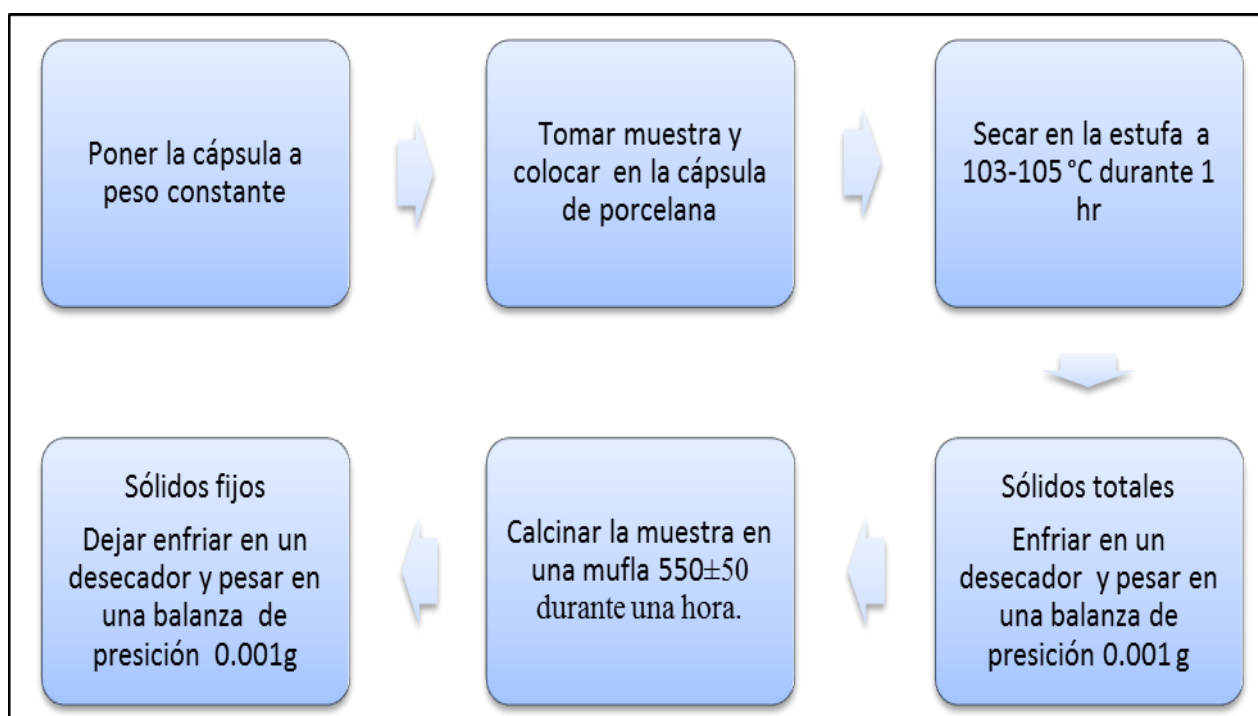


Figura 3.15. Método para determinación de sólidos STV, STT, STF (APHA, 1992; DGN, 2001; DINAMA, 1996)

Para determinar los sólidos se hizo uso de las siguientes ecuaciones.

$$STT = \frac{(p_2 - p_1)}{v} * 1000$$

$$STF = \frac{(p_3 - p_1)}{v} * 1000$$

$$STV = ST - SFT$$

Dónde:

STT= Sólidos totales en g/L

STF= Sólidos totales fijos en g/L

STV= Sólidos totales volátiles en g/L

$p_1$ = Peso constante en g

$p_2$ = Peso de la cápsula más el residuo del secado a 103-105 °C en g

$p_3$ = Peso de la cápsula más el residuo del secado a 103-105 °C en g

$v$ = Volumen de la muestra ml

## Capítulo 4. Resultados

### 4.1.-Evaluacion de la CMB

#### 4.1.1 Pruebas preliminares para el crecimiento de la levadura

Para determinar el crecimiento de la levadura en la celda se realizaron pruebas preliminares. Se procedió a poner a peso constante las cápsulas de porcelana (Figura 4.1), para poder determinar la materia orgánica presente en la CMB.

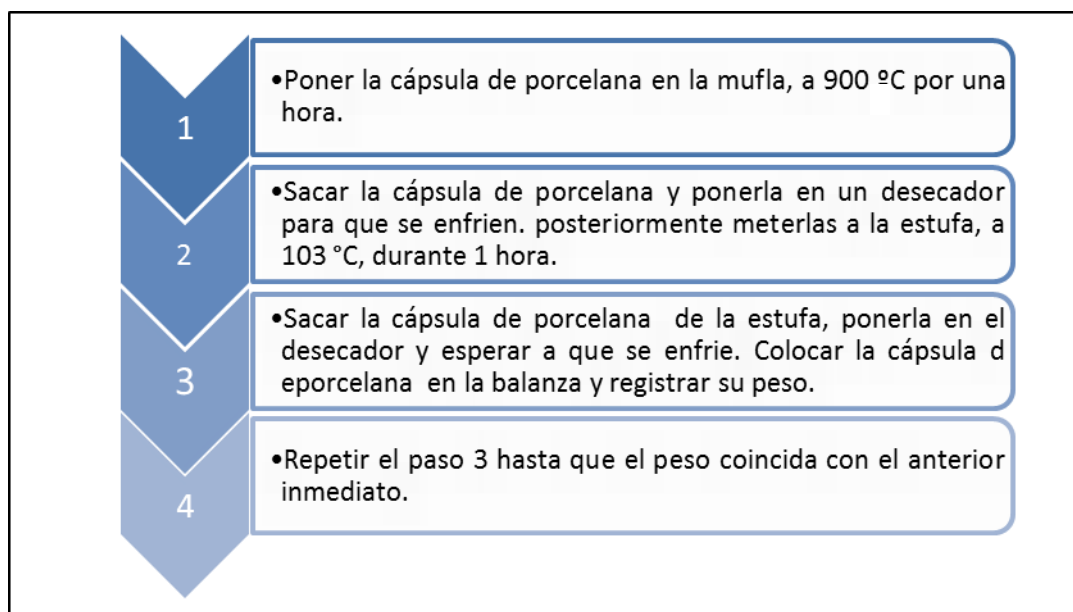


Figura 4.1 Procedimiento para la preparación de capsulas de porcelana a peso constante (DGN, 2008)

Una vez que las cápsulas se encontraban a peso constante se procedió a la caracterización del sustrato. La caracterización del sustrato constó de conocer la materia orgánica e inorgánica presente en el sustrato que fue utilizado en la celda. Para la caracterización del sustrato se realizó una solución con el extracto de levadura, peptona y dextrosa en 10 ml de agua destilada (Tabla 4.1). El sustrato fue caracterizado determinando la concentración de los sólidos como se muestra en la Tabla 4.2.

Tabla 4.1. Composición del sustrato

Compuesto	g/L
Extracto de levadura	0.1062g
Peptona	0.2480g
Dextrosa	0.2589g

Tabla 4.2 Concentración de los Sólidos el sustrato.

	STT (g/L)	SFT (g/L)	SVT (g/L)
Medición 1	57.3	2.2	55.1
Medición 2	52.4	3.4	49.0

En la Figura 4.2 se muestra la concentración de materia orgánica presente en la caracterización del sustrato.

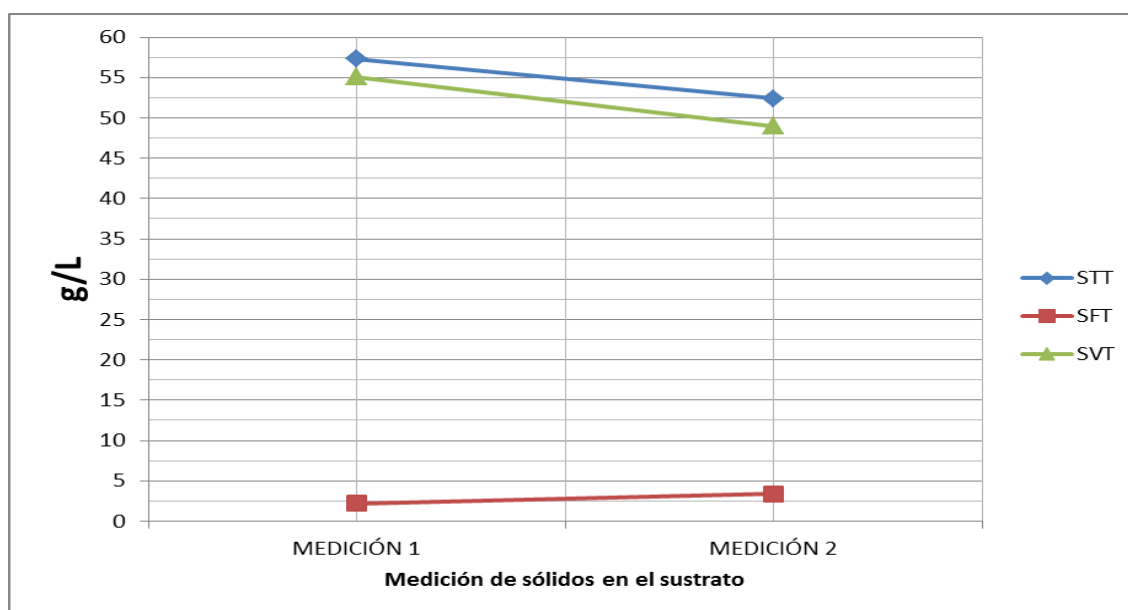


Figura 4.2 Caracterización del sustrato

#### 4.2.-Operación de la CMB

Se realizaron seis experimentos con variación de diferentes parámetros, los cuales fueron:

- ☒ Aireación
- ☒ Concentración de levadura
- ☒ Concentración del sustrato
- ☒ Área de transferencia
- ☒ Amplificador
- ☒ Volumen de la celda

En este capítulo se muestra los resultados obtenidos con cada una de las condiciones con las que se llevó a cabo los experimentos en la celda. La Tabla 4.3 muestra las variaciones que se les dio a cada uno de los experimentos para su puesta en marcha, así como la máxima cantidad de energía producida durante el tiempo de operación de la celda.

Las Figuras nos muestran la cantidad de energía producida en determinado tiempo en cada una de las celdas. Así como la cantidad de materia orgánica e inorgánica presente durante el tiempo de operación de la celda para determinar la producción de energía conforme a la proliferación de la levadura en la celda (Figura 4.3).



Figura 4.3. Fotografía donde se muestra el crecimiento de la levadura en CMB. A) Al inicio B) Después de 24 hrs.

Tabla 4.3. Experimentos de la celda microbiana de biocombustible

Experimento		Condiciones empleadas en la CMB			
1	Levadura (g)		0.0646	Volumen (ml)	40
	Sustrato (g)	Ex. levadura	0.4294	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0.8717	Amplificador	No se utilizó
		Dextrosa	0.8693	Concentración (g/ml)	0.0015
	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		6.2884	Aire	No se utilizó
2	Tiempo		8 hrs	Multímetro	No se utilizó
	Levadura (g)		0.1216	Volumen (ml)	125
	Sustrato (g)	Ex. levadura	1.2471	Arduino	Se utilizó
		Peptona	2.6	Amplificador	No se utilizó
		Dextrosa	2.6263	Concentración (g/ml)	0.0030
Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		20.0864	Aire	Se utilizó	
Tiempo		11 hrs	Multímetro	No se utilizó	

Tabla 4.3. (Continuación) Experimentos de la celda microbiana de biocombustible

Experimento		Condiciones empleadas en la CMB			
3	Levadura (g)		0.0	Volumen (ml)	125
	Sustrato (g)	Ex. levadura	1.2274	Arduino	Se utilizó
		Peptona	2.5472	Concentración (g/ml)	0.0
		Dextrosa	2.4578	Amplificador	No se utilizó
	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		20.0864	Aire	No se utilizó
Tiempo		17 hrs 56 min	Multímetro	No se utilizó	
4	Levadura (g)		0.0	Volumen (ml)	40
	Sustrato (g)	Ex. levadura	0.4	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0.8009	Amplificador	No se utilizó
		Dextrosa	0.8022	Concentración (g/ml)	0.0
	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		6.2884	Aire	No se utilizó
Tiempo		49 hrs 39 min	Multímetro	Se utilizó	
5	Levadura (g)		0,1246	Volumen (ml)	40
	Sustrato (g)	Ex. levadura	0.4020	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0.8750	Amplificador	Se utilizó
		Dextrosa	0.8423	Concentración (g/ml)	0.0031
	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		6.2884	Aire	No se utilizó
Tiempo		47 hrs 42 min	Multímetro	Se utilizó	
6	Levadura (g)		0,1775	Volumen (ml)	125
	Sustrato (g)	Ex. levadura	1.2564	Arduino	Se utilizó
		Peptona	2.8726	Amplificador	Se utilizó
		Dextrosa	2.6105	Concentración (g/ml)	0.0014
	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )		20.0864	Aire	No se utilizó
Tiempo		154 hrs 46 min	Multímetro	Se utilizó	

En el primer experimento se puede observar que la celda empezó a generar energía después de 1 hora con treinta minutos de su arranque, alcanzando un máximo de 0.0097 volts aproximadamente después de 1 hora con cincuenta minutos de operación, diez minutos más tarde disminuyó hasta 0.0048 volts, manteniéndose así durante treinta minutos para después alcanzar otro máximo después de 2 horas con treinta minutos de su puesta en marcha y diez minutos más tarde disminuir a 0.0048 volts. La celda dejó de generar energía después de cuatro horas con veinte minutos (Figura 4.4).



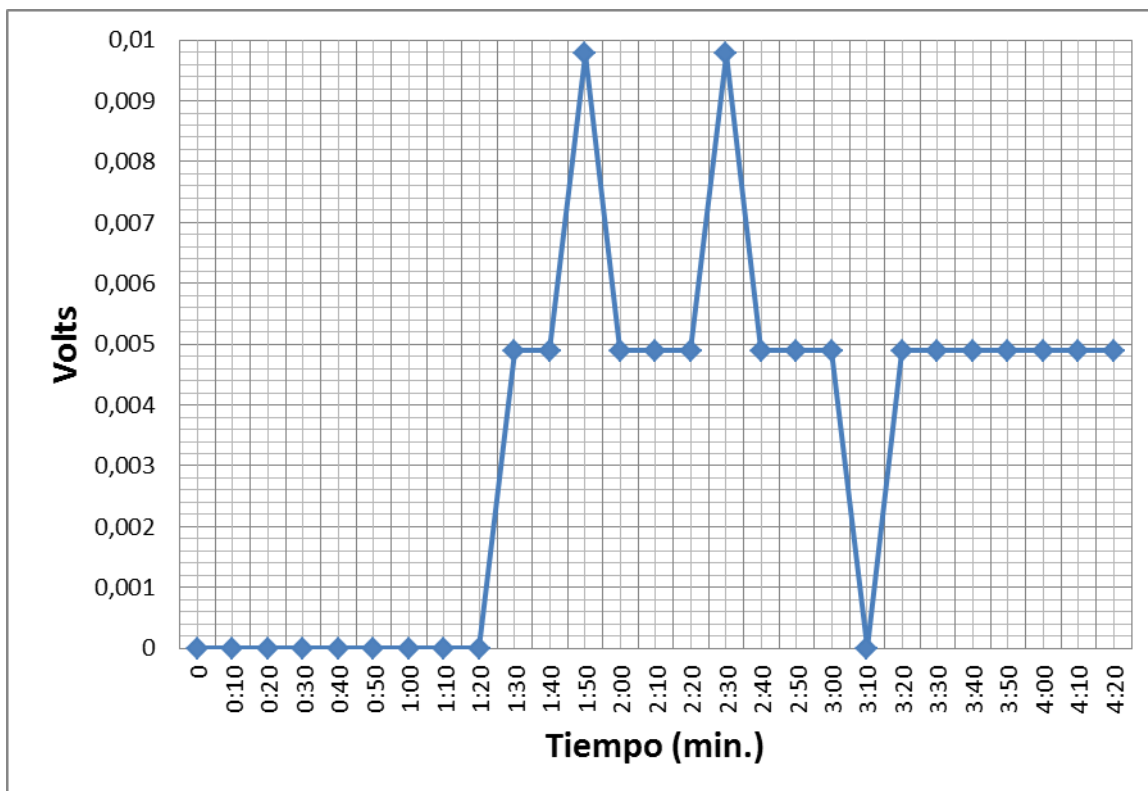


Figura 4.4. Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo durante el experimento 1

En la Figura 4.5 se observa los resultados obtenidos de sólidos totales (STT), fijos (STF) y volátiles (STV), durante el experimento 1. Se tomaron cuatro muestras, al inicio de la operación de la celda, la segunda al inicio que se empezó a generar energía, la tercera al alcanzar uno de los máximos y la última antes de finalizar la generación de energía.

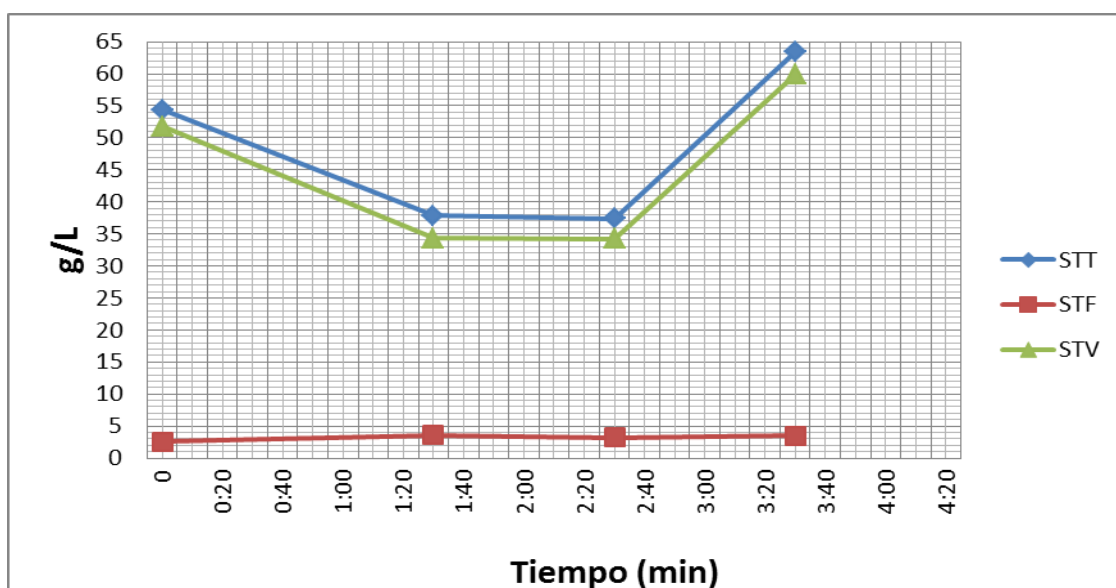


Figura 4.5. Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo en el experimento 1.



La Figura 4.6 muestra los sólidos volátiles (STV), así como la generación de energía producida, donde se muestra que al alcanzar el máximo la materia orgánica disminuye (Figura 4.6).

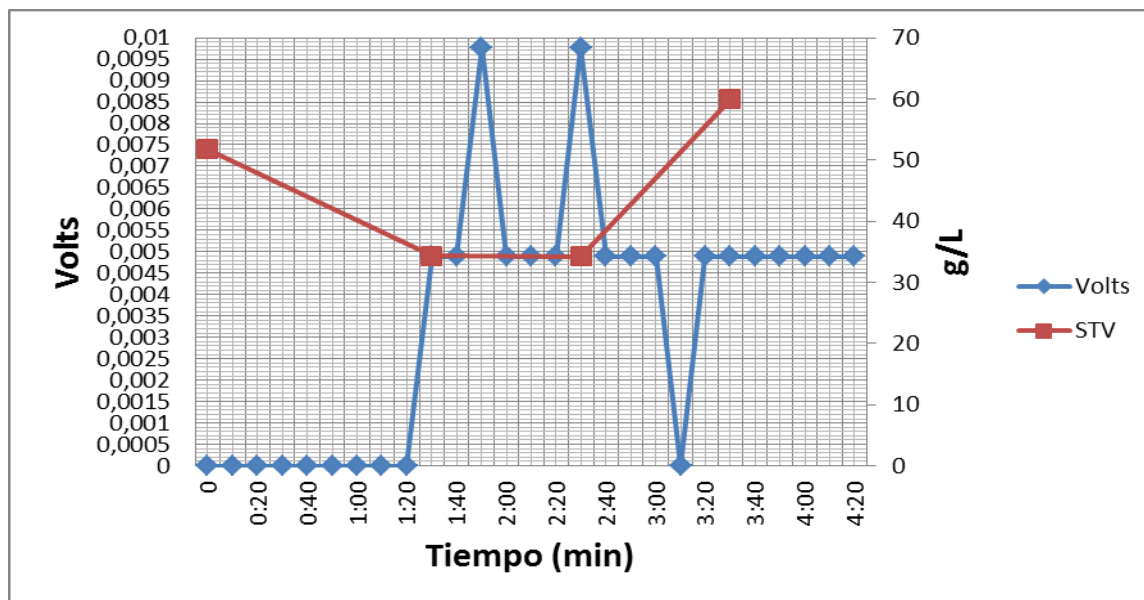


Figura 4.6. Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración SVT en el experimento 1.

Para el experimento 2. Se hizo uso de la aireación donde empezó a generar una diferencia de voltaje después de 1 hora con veinte minutos, se alcanzó un máximo 0.14 volts después de 2 horas con treinta minutos para terminar de generar energía después de 8 horas con veinte minutos (Figura 4.7).

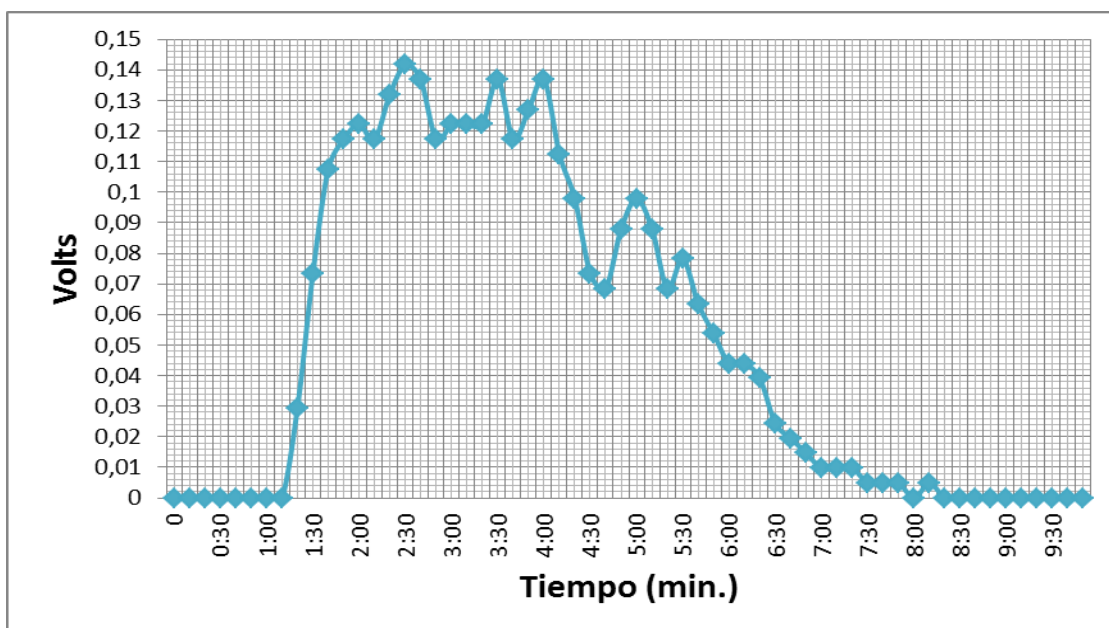


Figura 4.7. Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo durante el experimento 2.

La Figura 4.8 muestra la materia orgánica e inorgánica presente en el experimento 2 del que se tomó seis muestras durante el tiempo que estuvo en operación la celda (Figura 4.8).

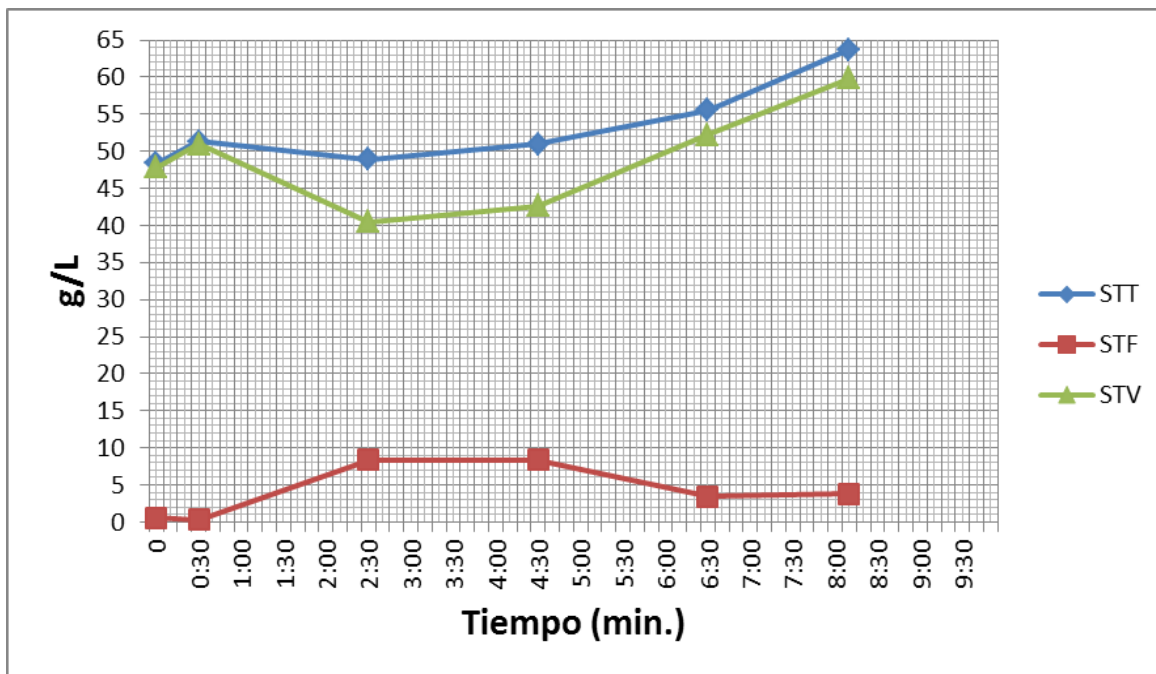


Figura 4.8. Comportamiento de los sólidos con respecto al tiempo en el experimento 2.

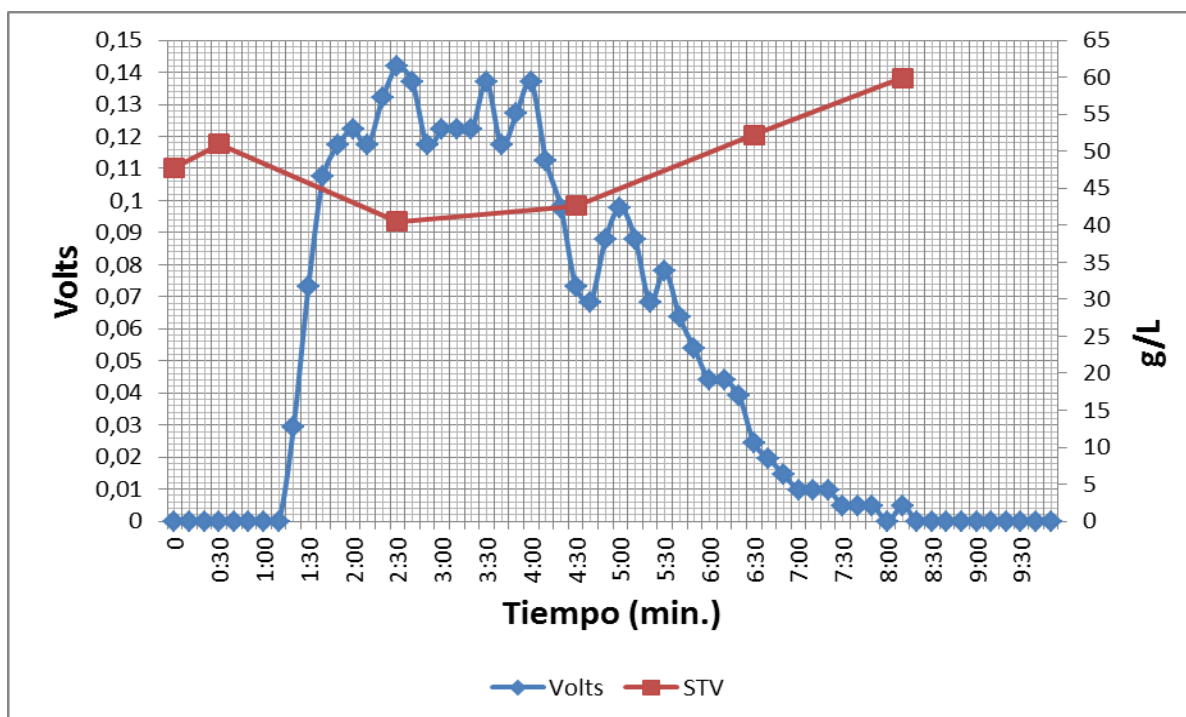


Figura 4.9. Comportamiento de la generación de energía y materia orgánica presente durante el experimento 2.



En la Figura 4.9 se muestra la cantidad de voltaje generado durante las 9 horas con cincuenta minutos que estuvo en funcionamiento la celda. Se puede observar cómo se alcanza el mayor voltaje durante el funcionamiento de la celda cuando la materia orgánica presente esta en menor cantidad, mientras que al dejar de producir energía la materia orgánica presente fue en aumento. Esto puede deducirse que probablemente cuando se produjo más energía la levadura presente estaba formando la biopelícula en el ánodo.

En la Figura 4.10 se muestra la energía producida en la celda sin agregar levadura en un volumen de 125 ml durante 17 horas con treinta y tres minutos. Donde alcanzó un máximo de 0.0489 volts, sin embargo se cree que la producción de energía se debió a que probablemente, el sustrato utilizadó pudo estar contaminado y bien los electrodos no se encontraban totalmente limpios.

En la Figura 4.11 se observa el experimento 4 que fue realizado solo con el sustrato. Aunque a diferencia del caso anterior, se realizó en un volumen de 40 ml, durante 49 horas con 39 minutos, y como al contrario del realizadó en 125 ml, se obtuvo un aumento en los primeros 10 minutos de funcionamiento de la celda, sin embargo con forme avanza el tiempo dejo de producir energía y se mantuvo así hasta que se detuvo el experimento.

Otro dato que observó es que la producción de energía se produjo enseguida que se pusieron en marcha las celdas. Por lo que puede deberse a algún ruido que cause interferencia durante la marcha de la celda.

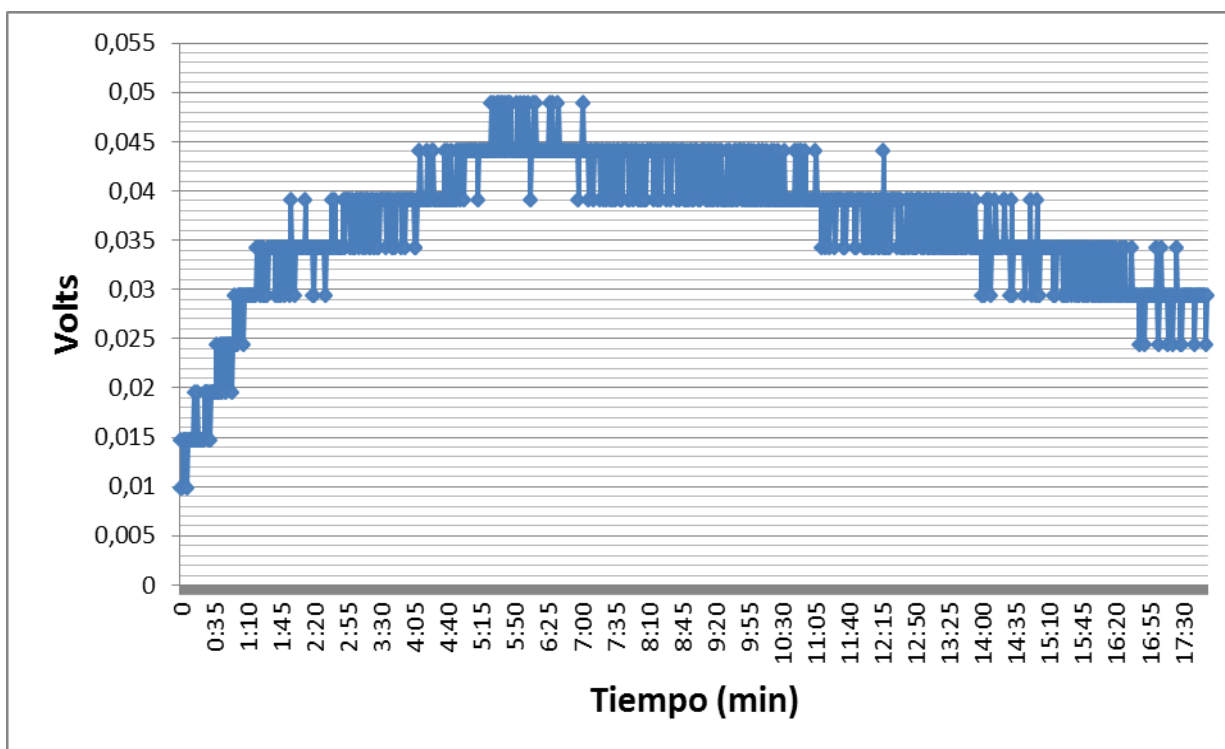


Figura 4.10. Comportamiento de la generación de energía producida con respecto al tiempo experimento 3.

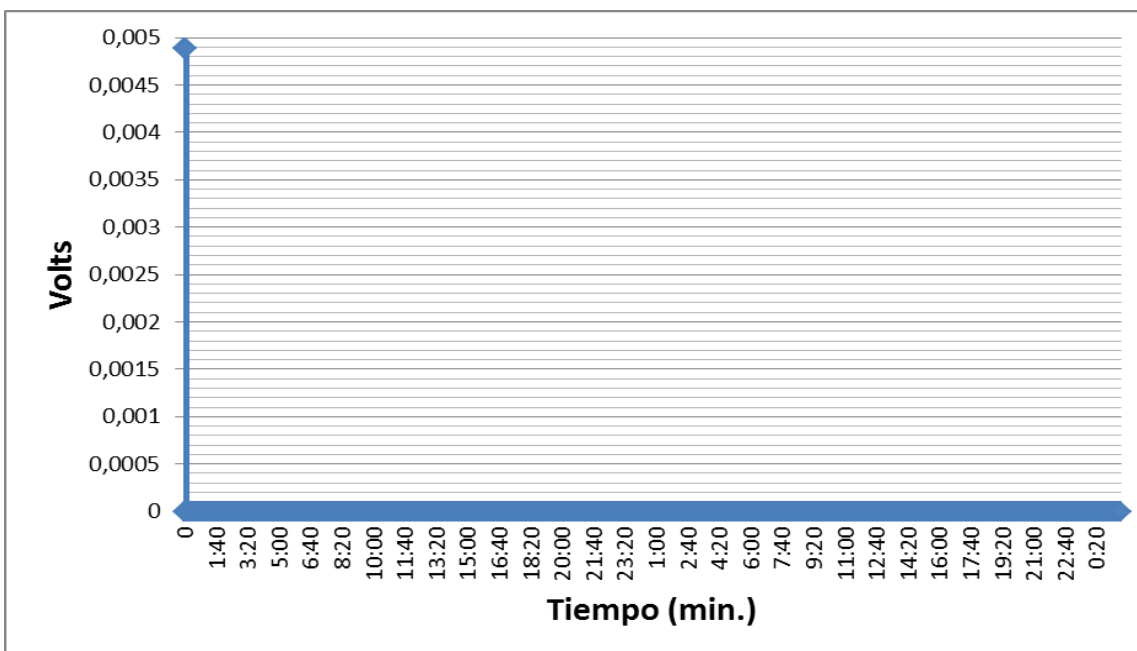


Figura 4.11. Comportamiento de la generación de energía producida con respecto al tiempo experimento 4.

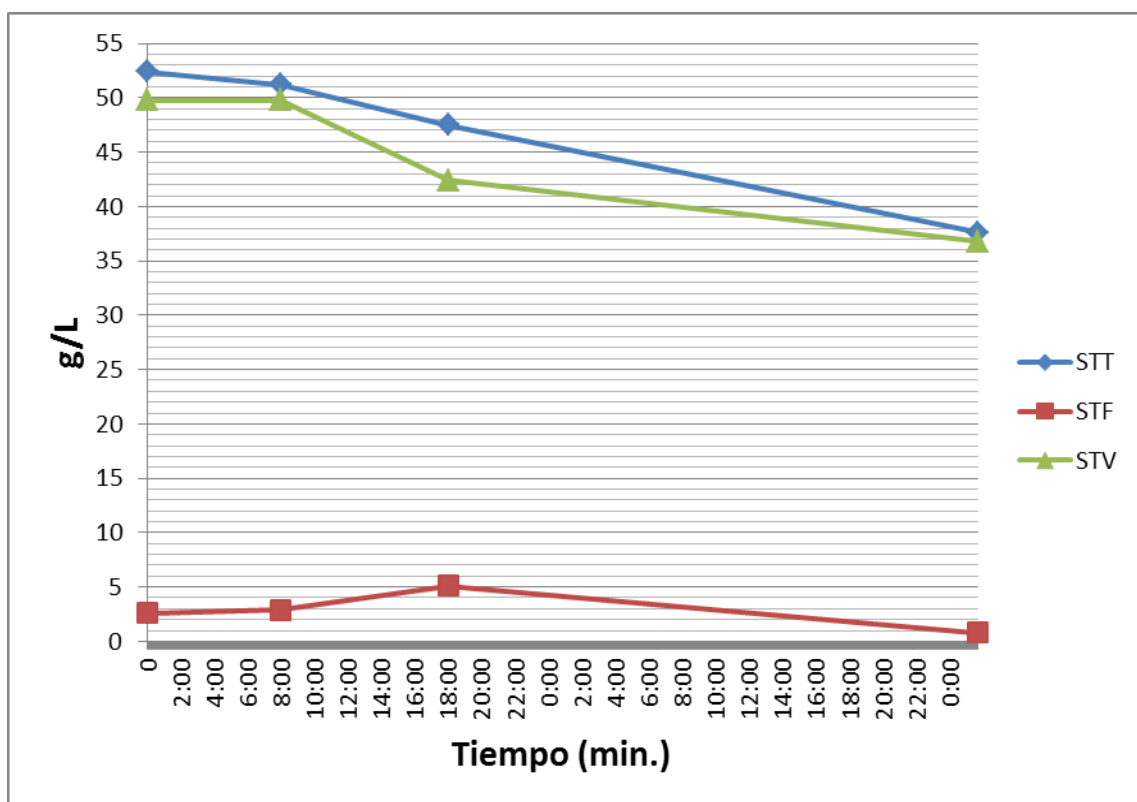


Figura 4.12. Comportamiento de los sólidos presentes en la celda con respecto al tiempo durante el experimento 4.

En la Figura 4.12 se observan los sólidos totales, fijos y volátiles presentes durante la puesta en marcha del experimento 4, que a diferencia de los anteriores fueron disminuyendo en el tiempo que estuvo en marcha la celda.

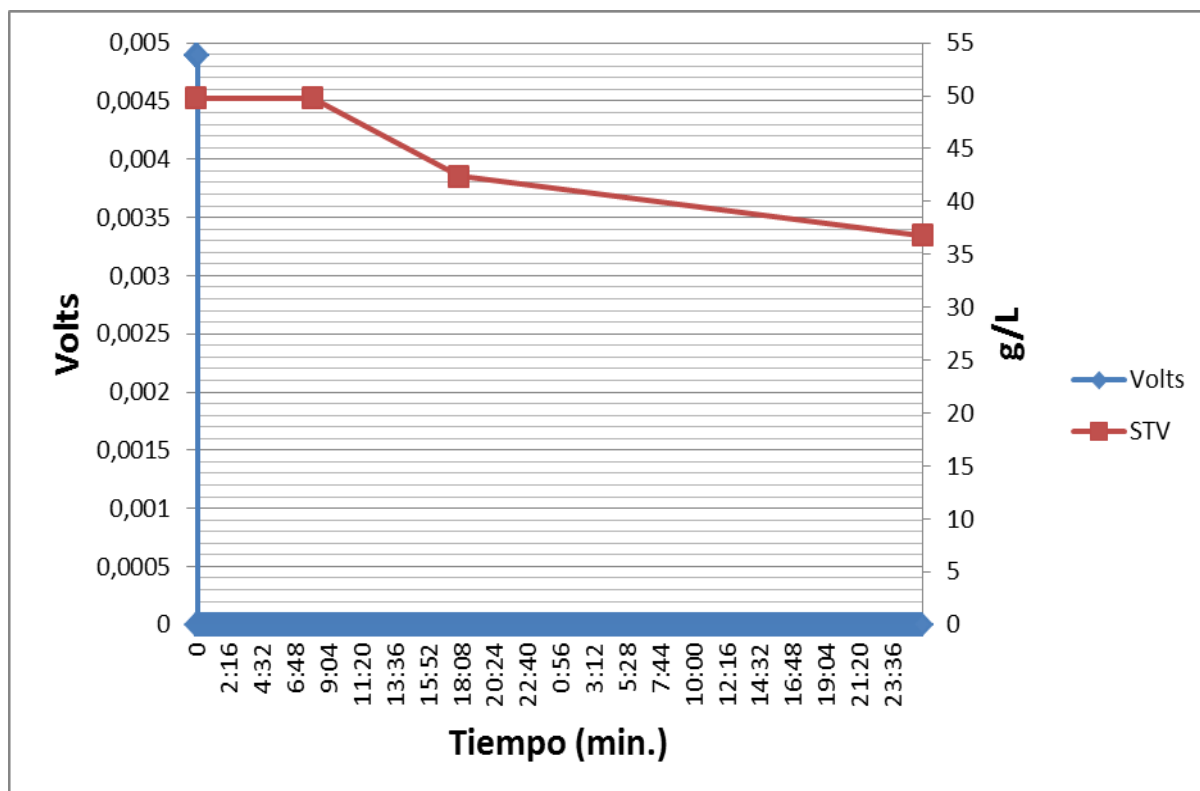


Figura 4.13. Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración de sólidos volátiles presentes en el experimento 4.

La Figura 4.13 nos muestra el voltaje generado en la celda con solo sustrato, y la cantidad de materia orgánica que se presentó en la celda. Se observa que el máximo voltaje se generó al inicio de la puesta en marcha de la celda, tanto en la producción de energía y la materia orgánica presente. Sin embargo de las cuatro muestras que se tomaron fueron descendiendo hasta llegar a 36.8 g/L (Figura 4.13).

Para monitorear la energía producida en el experimento número cuatro se hizo uso al igual que en los demás del dispositivo arduino y de un multímetro. Esto fue para determinar la cantidad que registro el arduino era aproximadamente la misma. Sin embargo, se puede observar que al igual que en el arduino registró una producción de energía durante el inicio de la celda, y conforme avanzó el tiempo, se presentaron datos negativos en las lecturas del multímetro. Esto fue probablemente a que la composición del de los electrodos cambió por el contacto con el sustrato de la celda, y fue disminuyendo con forme disminuía la cantidad de materia orgánica presente en la celda (Figura 4.14).

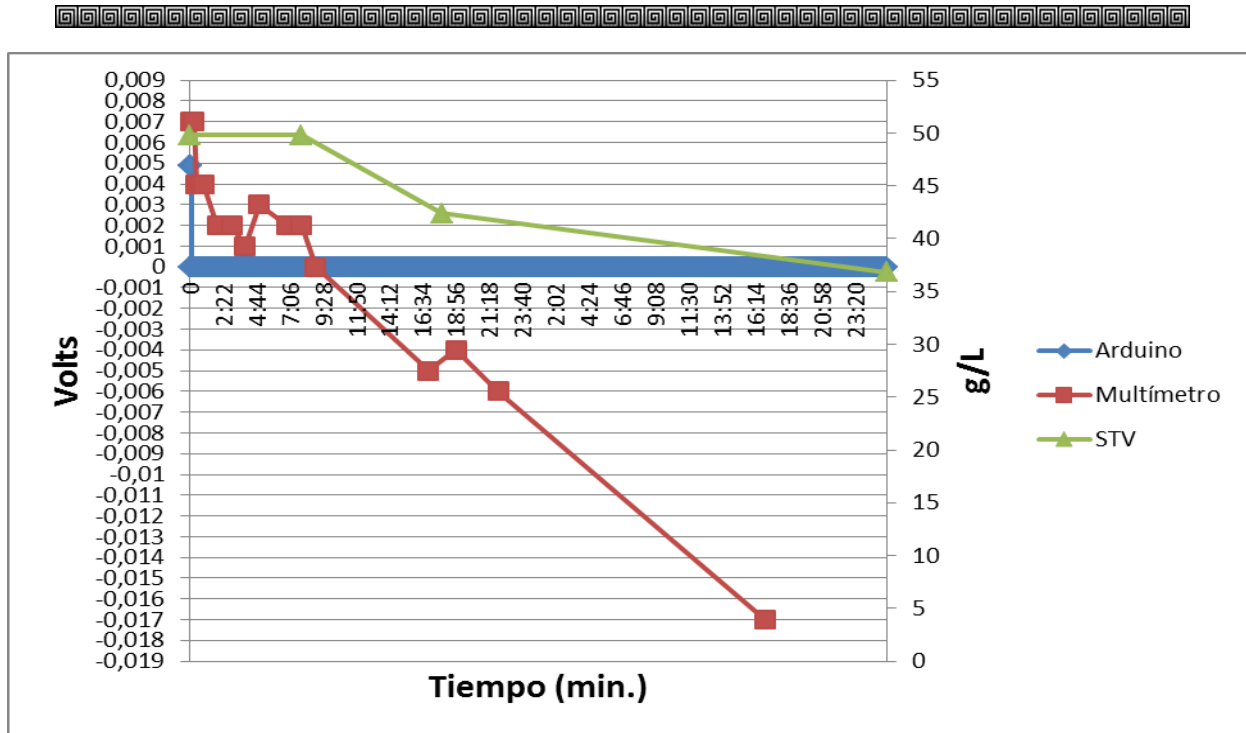


Figura 4.14. Comportamiento de la generación de energía con el arduino y multímetro, con respecto al tiempo v los sólidos presentes durante el experimento 4.

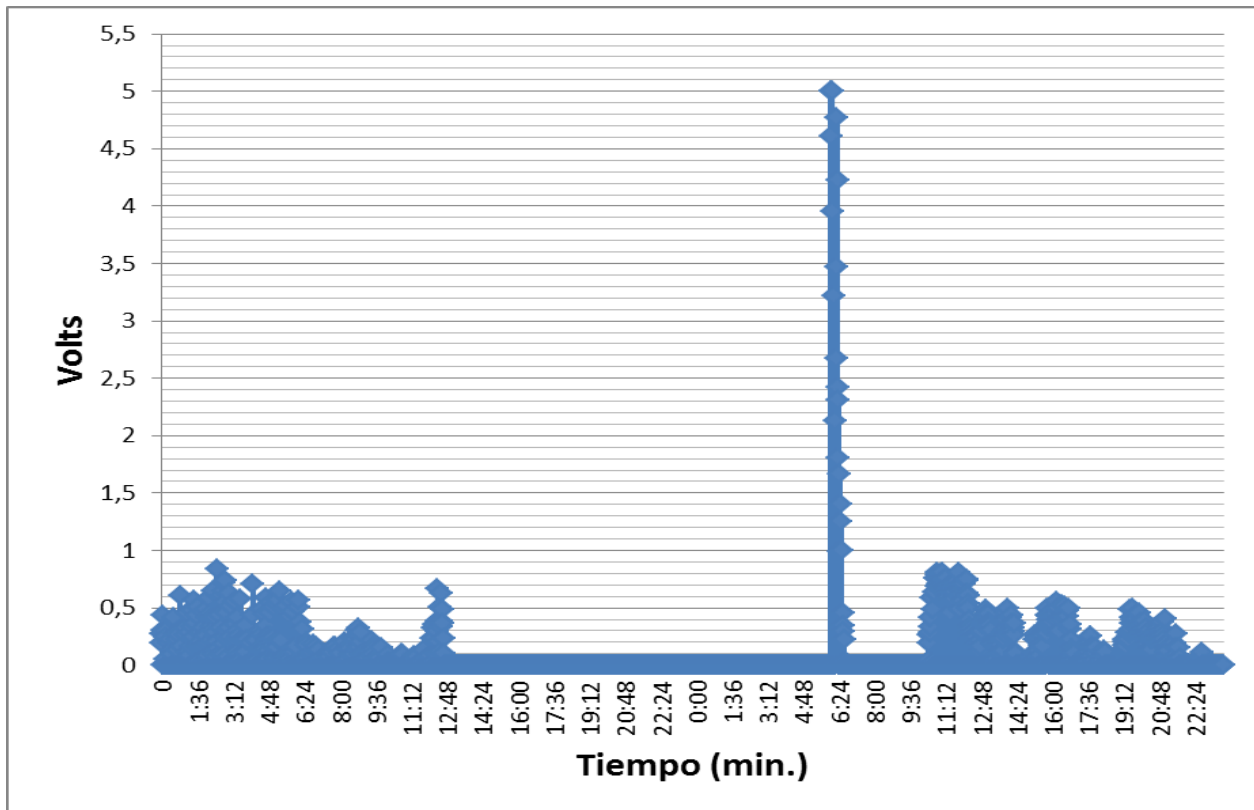


Figura 4.15. Comportamiento de la generación de energía utilizando un amplificador AD620 durante el experimento 5.

Para el experimento número 5 se hizo uso de un amplificador de señales AD620, en la Figura 4.15 se puede observar el aumento de la señal de la energía producida se observa una producción de energía del inicio de la puesta en marcha hasta después de 12 horas con 42 minutos. Sin embargo, después de esto, se mantuvo constante sin producir energía hasta que después de 30 horas con tres minutos se presentó un máximo alcanzando los 5 volts con el amplificador manteniendo una producción de energía durante 42 minutos. Para después, se volvió a mantenerse sin producción por 3 horas con 39 minutos y volver a generar alcanzando un máximo de 0.5522 volts.

Para determinar la materia orgánica e inorgánica en el experimento 5 se tomaron cinco muestras durante la operación de la celda. Se puede observar en la Figura 4.16 se tomó primera muestra al inicio de la puesta en marcha de la celda, donde prácticamente la materia presente en la celda era orgánica en su totalidad. Sin embargo, la mayor cantidad de sólidos se presentaron en la segunda de las muestras tomadas, aunque más tarde en la tercera muestra se observara una disminución de sólidos, y posterior, mente las muestras volvieron a aumentar los sólidos como se puede observar en la Figura 4.16.

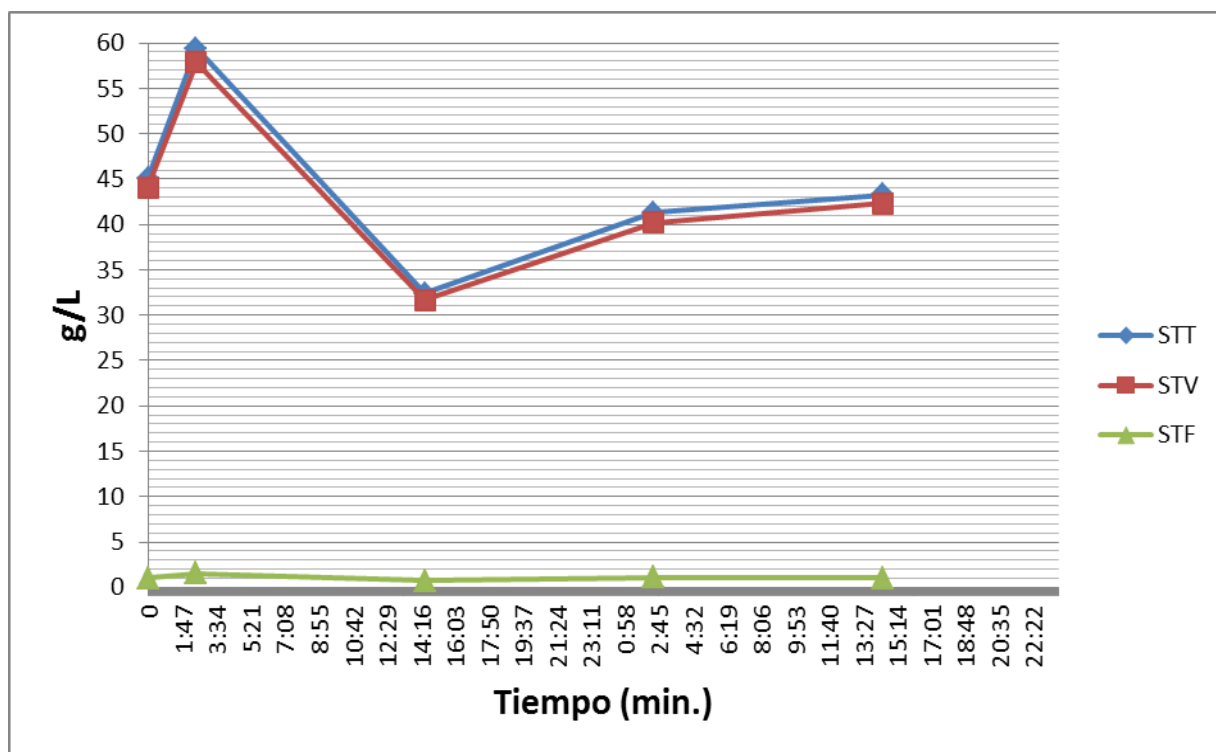


Figura 4.16. Comportamiento de la concentración de los sólidos totales, fijos y volátiles, durante el experimento 5.

En la Figura 4.17 se puede observar el voltaje producido así como los sólidos volátiles totales durante la operación de la celda observándose un aumento de los sólidos con forme se produjo energía y descendieron cuando la celda dejó de producir.



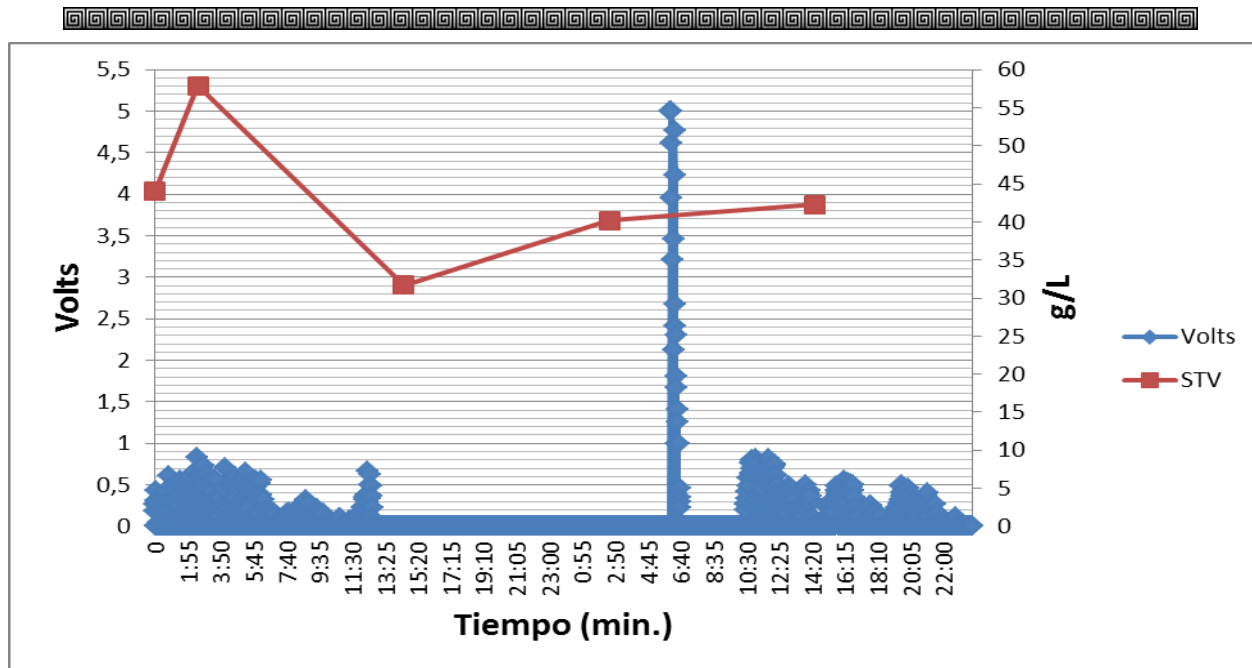


Figura 4.17. Comportamiento de energía producida con respecto a la concentración de sólidos volátiles totales, durante el experimento 5.

Para poner en marcha el quinto experimento se hizo uso de un amplificador como ya había sido mencionado, el cual se le adaptó el multímetro para poder ver que las lecturas que registraba el arduino eran las correctas. En la Figura 4.18 se observa como las lecturas de amplificador y el multímetro no se presentaron de igual forma. Sin embargo cuando en la celda se produjo energía, el multímetro al igual que el arduino registró producción. Cuando la celda dejó de generar energía el multímetro dejó de marcar, aunque a diferencia del arduino con forme pasó el tiempo, los valores del multímetro fueron descendiendo (Figura 4.18).

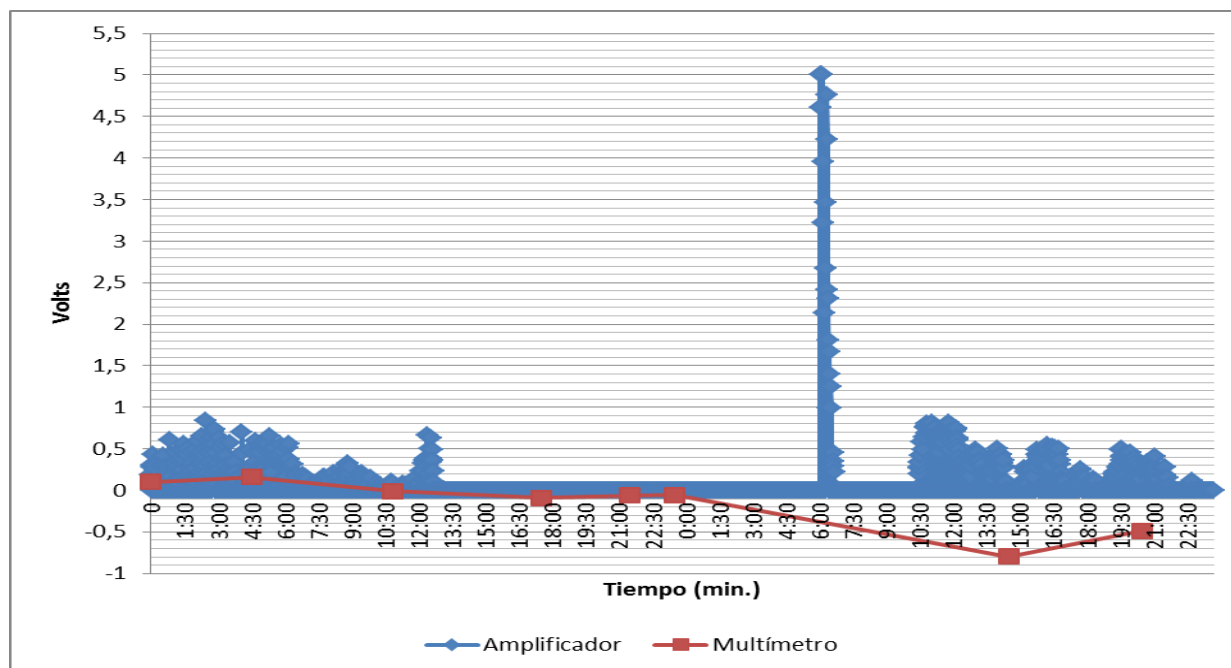


Figura 4.18. Comportamiento de la energía registrada con el arduino y multímetro con respecto al tiempo durante el experimento 5.



Para el experimento seis se usó del amplificador de señal, en la figura 4.21 podemos observar la producción de energía registrada la celda con un arduino durante las 146 horas 54 minutos que estuvo en funcionamiento la celda, observando un máximo de 3.8416 volts generados, para después descender hasta cero y volver a producir energía 3.0205 volts disminuyendo y enseguida volver a crecer hasta 3.6510 volts como se puede observar en la Figura 4.21.

Para determinar los sólidos presentes en el último experimento se tomaron once muestras durante toda la operación de la celda. En la Figura 4.19 se observa como en las primeras horas de operación se aumentó la cantidad de sólidos y más adelante disminuyeron.

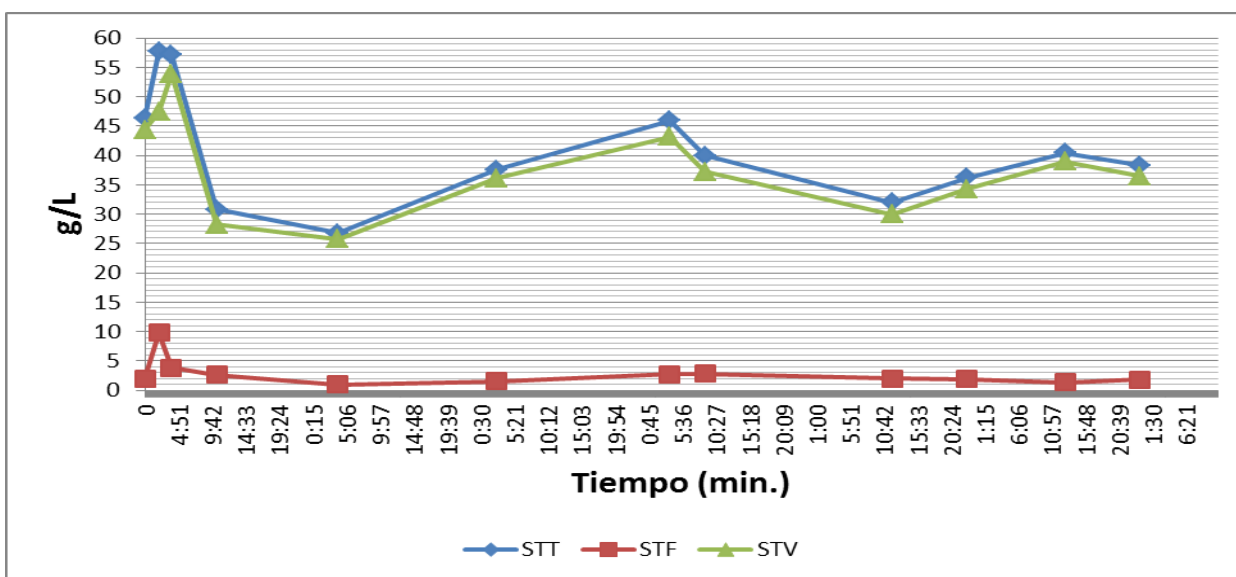


Figura 4.19. Comportamiento de la concentración de sólidos en la celda durante el experimento 6.

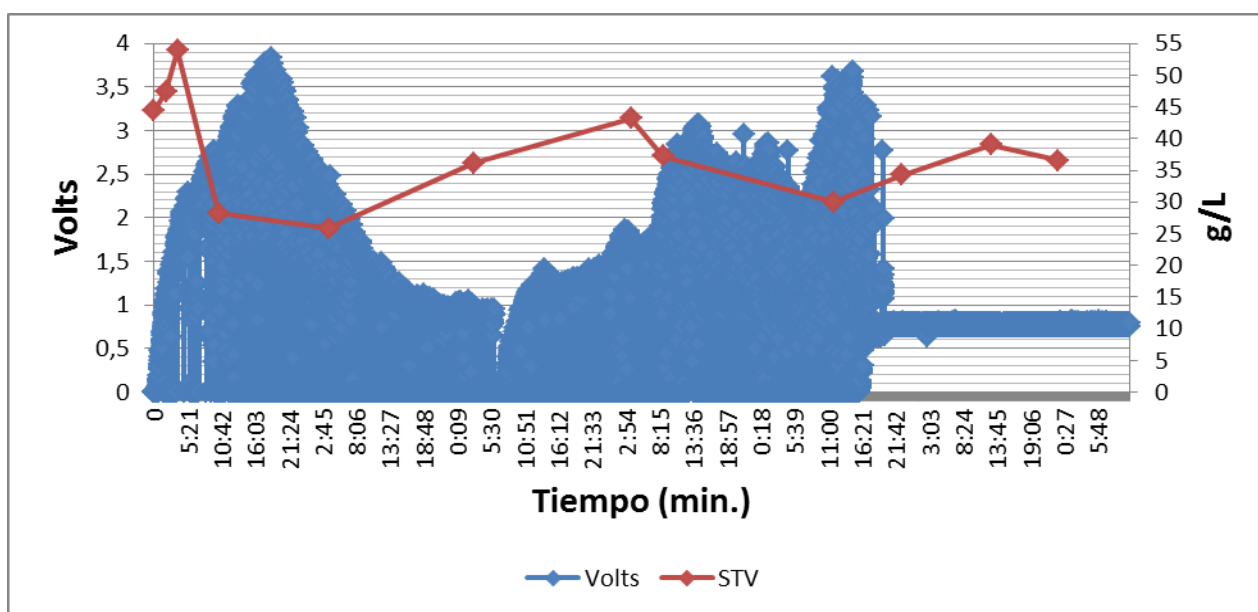


Figura 4.21. Comportamiento de la producción de energía con respecto a la concentración de los sólidos en la celda durante el experimento 6.

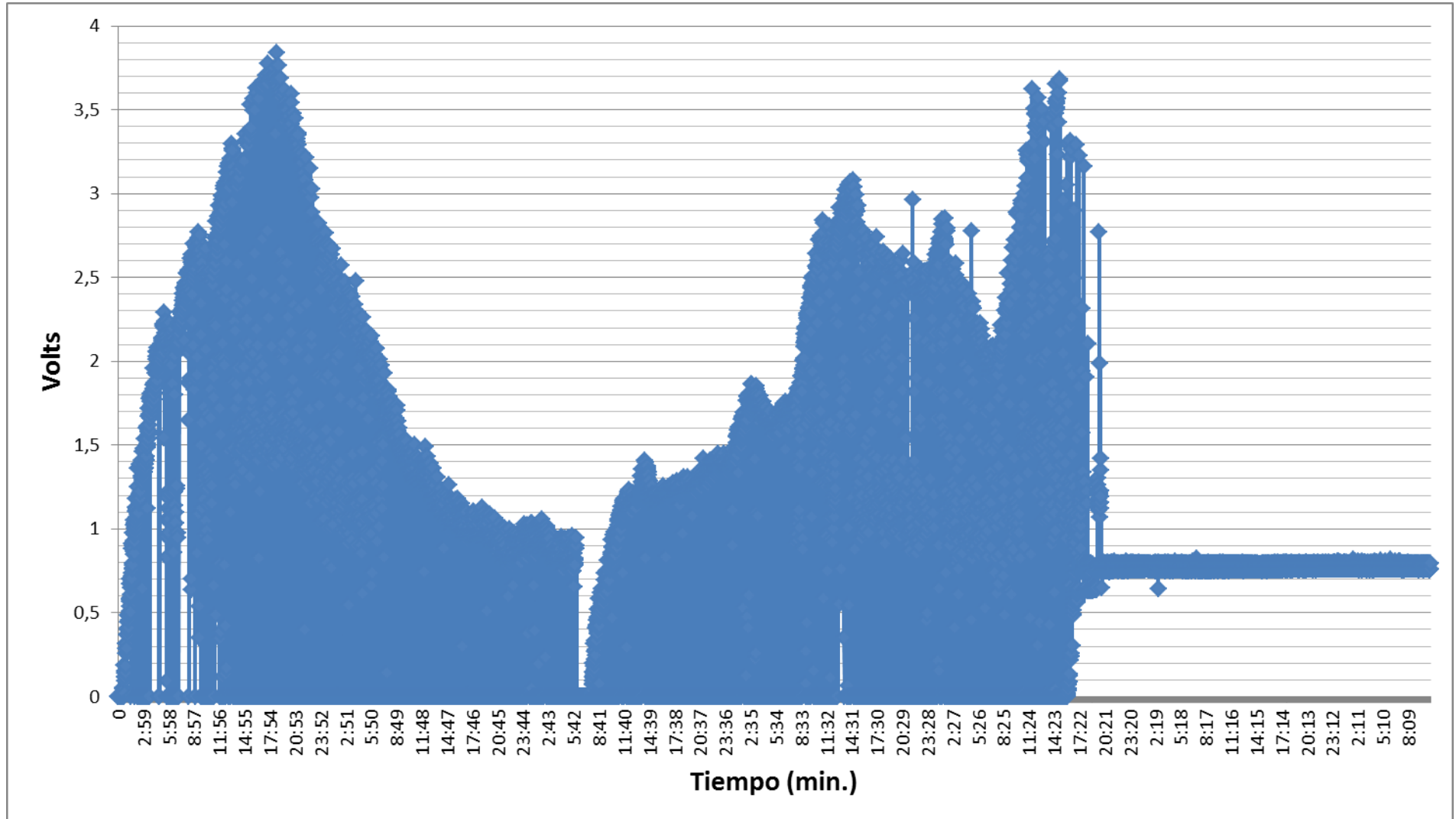


Figura 4.21. Comportamiento de la energía registrada con el arduino con respecto al tiempo en el experimento 6.



En la Figura 4.20 se observa que hay menos materia orgánica cuando se produce la mayor cantidad de voltaje, mientras que cuando la producción de energía es menor la cantidad de materia orgánica aumenta.

Por último, en la Figura 4.22 se muestra la energía registrada con el arduino y la registrada con el multímetro durante el tiempo de operación de la celda.

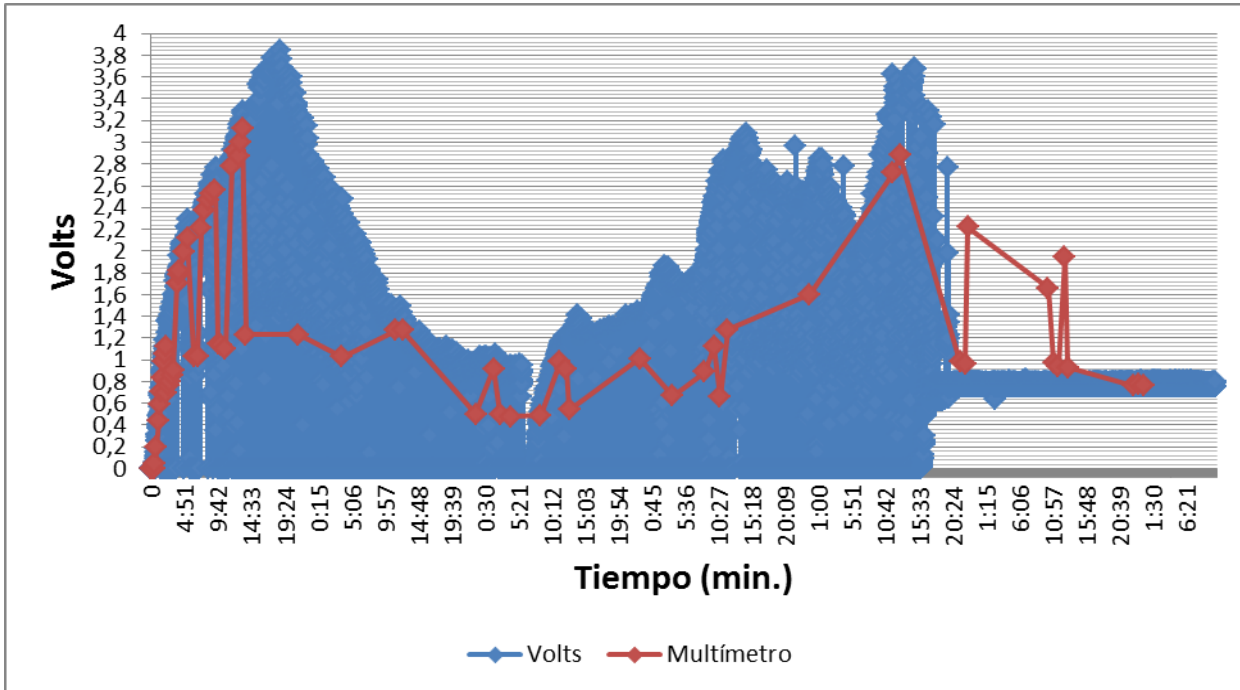


Figura 4.22 Comportamiento de la producción de energía medida por el arduino y multímetro en la celda durante el experimento 6.

En la Tabla 4.4 se muestra los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos realizados.

Tabla 4.4. Resultados de los experimentos realizados.

Experimento	Concentración de levadura (g/L)	Concentración de sustrato en (g/L)	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )	Tiempo de operación	Voltaje máximo generado (Volts)	Tiempo en producir energía
1	0.0015	54.3	6.2884	8hr	0.0098	1hr 30min
2	0.0030	51.8	20.0864	11hrs	0.1417	1hr 20min
3	0.0	49.9	20.0864	17hrs 56min	0.0489	1min
4	0.0	50.1	6.2884	49hrs 39min	0.0049	1min
5	0.0031	53.0	6.2884	47hrs 42min	0.05	1min
6	0.0014	53.9	20.0864	154hrs 46min	0.0384	35min



**4.3. Evaluación de la eficiencia de operación**

Para determinar la eficiencia de la celda se puso en marcha uno del experimento donde se midió el amperaje (Figura 4.23), dicha eficiencia se determinó con base a la eficiencia coulombica, la ecuación se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera en electricidad (Alzate, 2008).

$$Ec = \frac{C_p}{C_{ti}} * 100 \dots\dots\dots Ec.4.1$$

Para la determinación de  $C_p$  se determinó el área bajo la curva de la Figura 4.22 desde 5400 seg. que empezó a generar corriente hasta 288900 seg., tiempo que estuvo en operación la celda.

Para determinar  $C_{ti}$  se calculó por medio de la ecuación:

$$C_{ti} = \frac{F * b * S * v}{M} \dots\dots\dots Ec.4.2$$

Dónde:

F= Constante de Faraday (98485 C/mol)

b= Número de moles de electrones producidos por mol de sustrato.

S= Concentración de sustrato (g/L)

v= Volumen de líquido

M= Peso moléculas del sustrato

Para este experimento el  $C_p = 8,390.7$ , mientras que el  $C_{ti} = 34,305.6$  obteniendo una eficiencia de:

$$Ec = \frac{8,390.7}{34,305.6} * 100 = 24.5\%$$

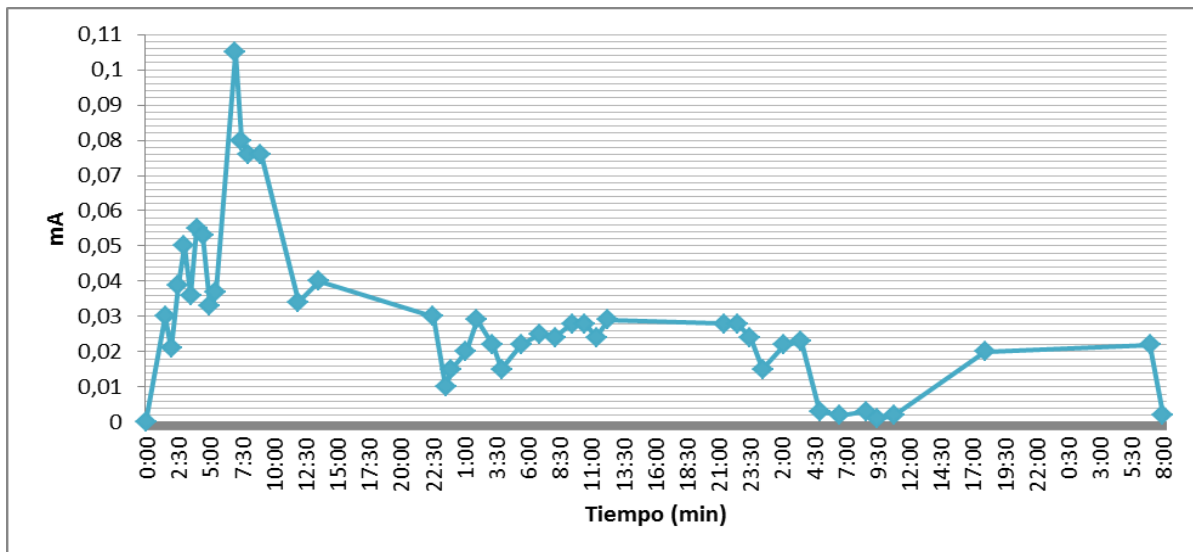


Figura 4.23 Producción de corriente eléctrica en el experimento número 6.

#### 4.4. Evaluación económica de la CMB

El uso de celdas microbianas de biocombustibles como medio de producción de energía, podría resultar factible, sin embargo en el presente prototipo de celda microbiana de biocombustible, sin membrana se puede notar que por el momento no puede ser la forma más adecuada para la producción de energía. En el experimento, la producción de energía fue mínima, por lo que es posible que se requiera una celda de mayor tamaño o bien un arreglo de celdas para producir mayor cantidad de energía durante mayor tiempo.

Por ejemplo, para cumplir con la batería de un celular sería necesario en arreglo en paralelo un se requerirían de 75 celdas microbianas de biocombustible como la desarrollada en este trabajo aproximadamente, de 40 ml con una concentración de 0.0031 g/L o bien 25 CMB aproximadamente de 125 ml con una concentración de 0.0030 g/L con aireación.

Otra de las opciones para tener un mejor rendimiento en una celda podría ser la variación del cátodo y ánodo, con uno que contenga una mayor porosidad que el papel de grafito que fue utilizado en el experimento.

#### 4.5. Evaluación energética y ambiental

Como ya se ha mencionado anteriormente, la celda microbiana de biocombustible es una propuesta comprometedor para ayudar a detener el cambio del medio climático y producir energía limpia y segura. Ya que puede producir energía sin necesidad de hacer uso de un combustible fósil que genere una cierta cantidad de CO<sub>2</sub>. Asimismo sin necesidad de usar la aeración para no consumir energía eléctrica aunque en ese caso, la generación de energía sería más lenta. En la Tabla 4.5 se muestra la producción de voltaje máximo en cada uno de los experimentos de la celda microbiana de biocombustible con diferentes áreas de transferencia.

Tabla 4.5. Voltaje producido a diferentes concentraciones de levadura

Experimento	Área de transferencia (cm <sup>2</sup> )	Levadura (g/L)	Volts	Tiempo
1	6.2884	0.0015	0.0098	8hr
2	20.0864	0.0030	0.1417	11hrs
3	20.0864	0.0	0.0489	17hrs 56min
4	6.2884	0.0	0.0049	49hrs 39min
5	6.2884	0.0031	0.05	47hrs 42min
6	20.0864	0.0014	0.0384	154hrs 46min

En la tabla 4.6 se puede observar una comparación con otros experimentos realizados en algunas celdas microbianas de biocombustible con diferentes sustratos, así como electrodos, y cultivos.

Tabla 4.6 Cuadro comparativo de otra celdas microbianas de biocombustible (a partir de Alzate y col., 2008).

Sustrato	Cultivo	electrodos	Eficiencia coulombica (%)	Referencia
Lactato	<i>Shewanella</i>	Carbón reticulado vítreo	2.4	Ringeisen y col., 2006
Agua residual domestica	Bacterias presentes en aguas residuales	Grafito	3-12	Liu y col., 2004
Glucosa	Cultivo mixto	Grafito plano	89	Rabaey y col., 2003
Acetato	Bacterias presentes en aguas residuales domésticas	Papel carbón	65	Min y Logan, 2004
Glucosa	Bacterias presentes en aguas residuales domesticas	Papel carbón	9-12	Liu y Logan, 2004
Acetato	<i>Geobacter Metallireducens</i>	Papel carbón	19	Min y col., 2005
Peptona	Bacterias presentes en aguas residuales domésticas	Papel carbón	6	Heilmann y Logan, 2006
Acetato	Lodos activados	Papel carbón	63-78	Oh y col., 2004
Glucosa	Bacterias contenidas en aguas residuales	Papel carbón	40-55	Liu y Logan, 2004
Acetato	Lodos activados	Grafito Plano	No reporte	Park y Zeikus, 2003
Glucosa	Bacterias contenidas en aguas residuales	Fibra de carbón	23	Logan y col., 2007
Glucosa	Cultivos mixtos	Papel carbón	60	Alzate, y col., 2008
Peptona, dextrosa y ex. de levadura	<i>Sacharomice Cerevacea</i>	Papel grafito	24.5	Este experimento



### Capítulo 5. Conclusiones

Las celdas de microbianas de biocombustible son bioreactores que tienen la función de realizar la oxidación de la materia orgánica a través de microorganismos. En este experimento se llevó a cabo por medio de una cámara sin uso de membrana para tratar de reducir costos.

La producción de energía a través de una celda microbiana de biocombustible se dio de una forma limpia y segura, usando un cultivo mixto compuesto de extracto de levadura, peptona y dextrosa, en el cual la producción de energía se produjo por medio de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que sirvió como un biocatalizador para liberar los electrones.

Para determinar la producción de energía se hizo uso de un dispositivo arduino para hacer la medición de voltaje y con ayuda de un multímetro fue posible determinar el amperaje producido durante la operación de la celda, se observó que el voltaje producido fue mínimo por lo que se llegó a la determinación de adaptar un amplificador para poder observar la producción de mejor manera.

La eficiencia de la celda se vio ligada a la cantidad de sustrato en cada uno de los experimentos así como la concentración de la levadura. Por lo que se llegó a la conclusión que la producción de energía se dio en mayor cantidad en la que se usó la aeración dentro de la celda, ya que se puede observar como el voltaje fue mayor que en otros de los experimentos realizados, además de que la producción de energía se dio en un rango de tiempo más corto a comparación de los demás experimentos.

Haciendo una comparación con otros experimentos realizados se observó que la eficiencia usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtuvo una mayor eficiencia que con las bacterias presentes en aguas residuales. Sin embargo estuvo por debajo de la producción que se dio usando un cultivo mixto, y aproximadamente la misma eficiencia que cuando se usaron las bacterias presentes en aguas residuales como cultivo y la glucosa como sustrato.

Otra de las observaciones durante la puesta en marcha fue en el experimento 3 y 4 donde se dio una producción de energía cuando no fue sembrado ningún cultivo; situación donde se llegó a la conclusión que se dio una interferencia de matriz, ya sea del ambiente o bien del mal lavado del material.

Finalmente los objetivos se lograron, puesto que la celda generó una pequeña cantidad de energía limpia y segura para el medio ambiente. Por otro lado cabe mencionar que es una fuente de energía para enfocarse a futuro, ya que son un medio limpio para generación de energía sin mencionar el tiempo de vida, así con algunas otras ventajas de estos dispositivos como poder ser usados en el tratamiento de aguas residuales.



## BIBLIOGRAFIA

### Bibliografía

Acuña, F. y Muñoz, V. 2001. Celdas combustibles, una alternativa amigable con el medio ambiente para la generación de potencia y su impacto con el desarrollo sustentable de Colombia en el siglo XXI. **Ingeniería y desarrollo Universidad del Norte**. 10: 94-104.

Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, T., Boon, N., y Verstraete, W. 2006. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. **Environ. Sci. Technol.** 40: 3388-3394.

Allen, R. y Bennetto, H. 1993. Microbial fuel-cells: electricity production from carbohydrates. **Appl. Biochem Biotechnol.** 39(40): 27-40.

Angenent, L., Karim, K., AL-Dahhan, M., Wrenn, B. y Domingues-Espinosa, R. 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. **Trends Biotechnol.** 22: 477-485.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998). 18 ed. APHA, AWWA, WEF. Pág. 1170. Washington, DC, EEUU.

APHA, 1992. Standard methods for the examinations of water and wastewater. 18 ed. American Public Health Association. Washington, DC, EE. UU.

APMI, 2011. Hoja de datos de seguridad de dextrosa. MSDS ID: D0835 (2). Producido por Avantor Performance Materials, Inc. Xalostoc, Estado de México. México.

Arduino. 2013. Technical specifications para el arduino uno. Producido por arduino. Code: A000066. México

Atlas, R., y Bartha, R. 1993. Microbial ecology, fundamentals and applications. USA: Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.

Alzate, L., Fuentes, C. Albares, Álvarez, A. y P. J. Sebastian. 2008. Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo PEM. **INTERCIENCIA**. 33 (7): 503-509.

Alzate, L., Sebastian, P. y Pérez, A. 2007. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. **Int. J. Hydrogen Energy**. 32: 3141-3146.

Biotécnica, 1982a. Hoja de datos de seguridad. Peptona de caseína tipo I (triptona). 100 (4). San Jacinto Amilpas, Oaxaca, México.

Biotécnica, 1982b. Hoja de datos de seguridad del Extracto de levadura. 151 (4). San Jacinto Amilpas Oaxaca, México.

## BIBLIOGRAFIA

Bond, D., Holmes, D., Tender, L., y Lovley, D. 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. **Science**. 295(5554): 483-485.

Bond, D. y Lovley, D. 2003. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. **Applied and Environmental Microbiology**. 69 (3): 1548-1555.

Bond, R. y Lovley, D. 2005. Evidence for involvement of an electron shuttle in electricity generation by *Geothrix fermentans*. **Appl. Environ. Microbiol.** 71: 2186-2189.

Bretschger, O., Obratsova, A., Sturm, C., Chang, I., Gorby, Y., Reed, S., Culley, D., Reardon, C., Barua, S., Romine, M., Zhou, J., Beliaev, A., Bouhenni, R., Daad Saffarini, D., Mansfeld, F., Kim, B., James K. Fredrickson, J. y Neelson, K. 2007. Current Production and Metal Oxide Reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 Wild Type and Mutants. **Applied and Environmental Microbiology**. 73(21): 7003-7012.

Bullen, A., Arnot, T., Lakeman, J. y Whals, F. 2006. Biofuel cells and their developed. **Biosens. Bioelectron.** 21: 2015-2045.

Buran, B., Butler, L., Currano, A., Smith, E., Tung, W., Cleveland, K., Buxton, C., Lam, D., Obler, T., Rais-Bahrami, S., Stryker, M. y Herold, K. 2003. Environmental benefits of implementing alternative energy technologies in developing countries. **Applied Energy**. 76: 89-100.

Burgos, R. 2012. Evaluación electroquímica de materiales anódicos y su aplicación en celdas de combustible microbianas. Título de Ingeniero Químico Industrial. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán. México.

Cano, U. 1999. Las celdas de combustible: Verdades sobre la generación de electricidad limpia y eficiente vía electroquímica. **Boletín iie**. 23(5): 208-215.

Carmona, A. Fernandez, J. y Poggi, H. 2006. Características de una celda combustible microbiana para el tratamiento de efluentes contaminados. Grupo de bitemología ambiental y procesos anaerobios, Dept. Bitemología y Bioingeniería. Centro de investigación y estudios avanzados del I.P.N. México, D.F.

Chaudhuri, S. y Lovley, D., 2003. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediator less microbial fuel cells. **Nature Biotechnology**. 21(10): 1229-1232.

Choi Y., Jung E., Kim S. y Jung S. 2003. Membrane fluidity sensing microbial fuel cell. **Bioelectrochemistry**. 59:121-7.

Cheng, S., Liu, H. y Logan, B. 2006a. Increased Power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. **Env. Sci. Technol.** 40: 2426-2432.

## BIBLIOGRAFIA

Cheng, S., Liu, H., y Logan, B. 2006c. Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE in single chamber microbial fuel cells. *Environ. Sci. technol.* 40: 364-369.

Choi, Y, Jung, E, Kim, S. y Jung, S. 2003. Membrane fluidity sensing microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry.* 59: 121-7.

DGN, 2001. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, Residuales y residuales tratadas. México D.F., México.

Dresselhaus, M. y Thomas, I. 2001. Alternative energy technology. *Nature.* 414: 334-337.

Du, Z., Li, H. y Gu, T. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising Technology for wastewater treatment and bioenergy. *ELSEVIER, Biotechnology Advances.* 25(5): 464-482.

Frazier, W. y Westhoff, D. 1978. Microbiología de los alimentos. Editado por Acribia S.A. Pág. 35-42. Zaragoza, España.

Giral, J. 1940. Fermentos, La casa de España en México, Pág. 239. D.F., México.

Groover, M. 1997. Fundamentos de manufactura moderna. Materiales, procesos y sistemas. Editado por Prentice hall. Pág. 178. Estado de México, México.

Grove, W. 1839. On Voltaic Series and the Combination of Gases by Platinum. *The London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of science.* Ser. 3 Vol. 4, pp 129-130, 1839.

Grzebyk M. y Pozniak G. 2005. Microbial fuel cells (MFCs) with interpolymer cation exchange membranes. *Sep Purif Technol.* 41: 321-328.

GSISA, 1913. Papel carbón, el grafito flexible. Catálogo de altas temperaturas. Publicado por Grupo Schunk Iberica S.A. Madrid, España.

HACH, 2013. Manual del usuario sensION PH31. Publicado por HACH Company. Versión 3. Estado de México, México.

Hebermann, W. y Pommer, E. 1991. Biological fuel cells with sulphide storage capacity. *Applied microbiology and biotechnology.* 35: 128-133.

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

Holmes D., Bond D., O'Neil R., Reimers C., Tender L. y Lovley D. 2004. Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Microbial Ecol.* 48: 178-90.

## BIBLIOGRAFIA

Jones, J. y Dungan R. 1997. Ingeniería Termodinámica. Prentice-Hall Hispanoamericana. Pág. 864 México.

Kim, B., Kim, H., Hyun, M. y Park, D. 1999a. Direct electrode reaction of Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. **J Microbiol Biotechnol.** 9: 127-31.

Kim H., Hyun M., Chang I. y Kim B. 1999b. A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. **J Microbiol Biotechnol.** 9: 365-7.

Kim, H., Park, H., Jun, M., Chang, I., Kim, M. y Kim, B. 2002. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. **ELSEVIER, Enzyme Microbiol. Technol.** 30(2): 145-152.

Kim, J., Yang, I., Shin, H., Cho, K., Ryu, E., Kim, S., Park, S. y Kim, K. 2006. Insight into autoproteolytic activation from the structure of cephalosporin acylase: a protein with two proteolytic chemistries. **Proc Natl Acad Sci.** 103: 1732-7

Lee, S., Choi, Y., Jung, S. y Kim, S. 2002. Effect of initial carbon sources on the electrochemical detection of glucose by *Gluconobacter oxydans*. **Bioelectrochemistry.** 57: 173-8.

Leropoulos I., Greenman J., Melhuish C. y Hart J. 2005. Comparative study of three types of microbial fuel cell. **Enzyme Microb Tech.** 37: 238-45.

Liu, H., Cheng, S. y Logan, B. 2005. Production of electricity from acetate or butyrate in a single chamber microbial fuel cell. **Env. Sci. Technol.** 39: 658-662.

Liu Z., Lian J., Du Z. y Li H. 2006. Construction of sugar-based microbial fuel cells by dissimilatory metal reduction bacteria. **Chin J Biotech.** 21:131-7.

Liu, H. y Logan, B. 2004. Electricity generation using an air- cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. **Environmental Science & technology.** 38(14): 4040-4046.

Liu, H., Ramnarayanan, R. y Logan, B. 2004. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. **Env. Sci. Technol.** 38: 2281-2285.

Logan, B., Aelterman, P., Hamelers, B., Rozendal, R., Schöder, U. Keller, J., Freguic, S., Verstraete, W. y Rabaey, K. 2006. Microbial fuel cells: methodology and technology. **Enviromental Science and technology.** 40 (17): 5181-5192.

Logan B., Cheng S., Watson V. y Estadt G. 2007. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air- cathode microbial fuel cells. **Env. Sci. Technol.** 41: 3341-3346.

Logan, B. y Regan, J. 2006a. Electricity- producing bacterial communities in microbial fuel cells. **Trends microbiology.** 14(12): 512-518.

## BIBLIOGRAFIA

Logan, B. y Regan, J. 2006b. Microbial fuel cells- challenges and applications. *Environmental Science & technology*. 40(17): 5172-5180.

López, J. y col. 2004. La pila de combustible. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.

López de Lacey, A., Fernández, V. M., MALKI, M. y Amils Pibernat, R. Electrodo bacteriano aeróbico para ánodo de una pila de combustible sin mediadores redox ni membrana intercambiadora de protones. Pág. 28. Madrid, ES, 11728006, 16.03.2009, 200701534.

Lovley, D. 2008. Extracellular electron transfer: wires, capacitor, iron lungs, and more. *Geobiology*. 6: 225-231.

Lovley D. 1993. Dissimilatory metal reduction. *Annu Rev Microbial*. 47: 263–90.

Lovley D. 1985. Minimum Threshold for Hydrogen Metabolism in Methanogenic Bacteria. *Applied and environmental microbiology*. 49(6): 5530-5531.

Menicucci J., Beyenal H., Marsili E., Veluchamy R., Demir G., Lewandowski Z. 2006. Procedure for determining maximum sustainable power generated by microbial fuel cells. *Environ Sci Technol* 40: 1062-8.

Min B., Cheng S. y Logan B. 2005. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Res*. 39:1675-86.

Min, B. y Logan, B. 2004. Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Env. Sci. Technol*. 38: 5809-5814.

Niessen J., Schroder U. y Scholz F. 2004. Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation and bacterial fuel cell operating on starch. *Electrochem Commun*. 6: 955-8.

Oh S., Min B. y Logan B. 2004. Cathode Performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Env. Sci. Technol*. 38: 4900-4904.

Panwar, N., Kaushik, S. y Kothari, S. 2011. Role of renewable energy sources in environmental protection. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15: 1513-1524.

Park, H., Kim, B., Kim, H., Kim, H., Kim, G., Kim, M., y col. 2001. A novel electrochemically active and Fe (III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*. 7: 297-306.

Park, D., Kim, B., Moore, B., Hill, H., Song, M. y Rhee, H. 1997. Electrode reaction of *Desulfovibrio desulfuricans* modified with organic conductive compounds. *Biotechnol Tech*. 11: 145-58.



## BIBLIOGRAFIA

Rittmann B. 2008. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.* 100: 203-212

Roller, S., Bennetto, H., Delaney, G., Mason, J., Stirling, J. y Thurston, C. 1984. Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. Comparison of redox-mediator reduction rates and respiratory rates of bacteria. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 34: 3-12.

Schröder, U., Niessen, J., y Scholz, F., 2003. A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than order of magnitude. *Angew. Chem. Int. ed.* 42(25): 2880-2883.

Shukla, A., Suresh, P., Berchmans, S. y Rajendran, A. 2004. Biological fuel cells and their applications. *Current Science.* 87(4): 455-468.

Siddiqui, A. y Fleten, S., 2010. How to proceed with competing alternative energy technologies: A real options analysis. *Energy Economics.* 32: 817-830.

Suzuki, S. 1976. Fuel cells with hydrogen forming bacteria. *Hosp. Hyg. Gesundheitswes. Desinfekt.* 68: 159.

Tayhas, G., Palmore, R. y Whitesides, G. 1994. Microbial and Enzymatic Biofuel Cells in Enzymatic conversion of biomass for fuel production. *American Chemical Society Symposium* 566(14): 271-290.

TFSI, 2012a. Thermo Scientific Laboratory Products for Every Lab, Every Day, essential solutions for maximizing productivity. Catálogo SP18420-26Q Producido por Thermo Fisher Scientific. Whaltman, Massachusetts, EE. UU.

TFSI, 2012b. Thermo Scientific Laboratory Products for Every Lab, Every Day, essential solutions for maximizing productivity. Catálogo FD1530M. Producido por Thermo Fisher Scientific. Whaltman, Massachusetts, EE. UU.

Thurston C., Bennetto H., Delaney G., Mason J., Roller S. y Stirling J. 1985. Glucose metabolism in a microbial fuel cell. Stoichiometry of product formation in a thionine-mediated *Proteus vulgaris* fuel cell and its relation to Coulombic yields. *J Gen Microbiol.* 131: 1393-401.

Vega, C. y Fernandez, I. 1987. Mediating effect of ferric chelate compounds in microbial fuel cells with *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, and *Erwinia dissolvens*. *Bioelectrochem Bioenerg.* 17: 217-22.

Venkata, M., Veer, R. y Sarma, P., 2008. Biochemical evaluation of bioelectricity production process from anaerobic wastewater treatment in a single chambered microbial fuel cell (MFC) employing glass wool membrane. *Biosensors and Bioelectronics.* 23: 1326-1332.

## BIBLIOGRAFIA



Villa V., Navarrete R., Esperanza B., y Felix M. 2013. Una mirada al género *geobacter*, bacterias anaerobias productoras de electricidad. Congreso Nacional de Ingenierías. Instituto Tecnológico de Lagos de Moreno. Lagos de Morelos, Jalisco. México.

YSAI. 2013. Catálogo Ovens, Vacuum oven. Series ADP200C/210C/300C/310C. Producido por Yamato Scientific American Inc. Santa clara, California. EE. UU.

Zerta, M., Schmidt, P. R., Stiller, C. y Landinger, H. 2008. Alternative World Energy Outlook (AWEO) and the role of hydrogen in a changing energy landscape; *International Journal of Hydrogen Energy*. 33: 3021-3025.