



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS APLICADAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

**AUMENTO DE LA POTENCIA DE UNA CCM DE
SEDIMENTOS CON UN CÁTODO DE MNO_2/FC ,
MODIFICANDO EL PH, CONDUCTIVIDAD Y MO**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS**

ELIZABETH ALEMÁN GAMA

ASESOR: DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS

CO-ASESOR: DR. SATHISH KUMAR KAMARAJ

CUERNAVACA, MORELOS A 3 DE JUNIO DE 2021

Cuernavaca, Morelos, 18 de mayo de 2021.

DR. JUAN CARLOS GARCÍA CASTREJÓN
COORDINADOR DEL POSGRADO EN
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: Aumento de la potencia de una CCM de sedimentos con un cátodo de MnO_2/FC , modificando el pH, conductividad y MO, que presenta la alumna **Elizabeth Alemán Gama**, para obtener el título de **Doctorado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es **APROBATORIO**.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

DR. ARMANDO HUICOHEA RODRÍGUEZ

DRA. SUSANA SILVA MARTÍNEZ

DR. JOSÉ ALFREDO HERNÁNDEZ PÉREZ

**DR. LUIS IXTLILCO CORTÉS (Claustro
Universitario Valle Anáhuac Chimalhuacán)**

DR. SATHISH KUMAR KAMARAJ (ITEL)

DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS

Se adiciona efirma UAEM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE GONZALO GONZALEZ RODRIGUEZ | Fecha:2021-05-20 09:24:38 | Firmante

shweU+r6BbL3iBtYhmdkd7JQ4rWxtGmBQ9jvc7lkwY/Z/m9iG2Y5yprTHPSu6bA2vj25HX7blxYYs8QUdhtLiGZwn/n8kEr4Fa6KB/Gm+8iQWzhphvjaLGrnsN/TvpeBEQAhnWlbM96uWuXtUPXIYZVobqtJnDs1mR2Z6LMWYvctsG182HUx0RGQPky6yroTKxs7Symbf8OPUnHmNFV4+eVWVXNAGtMbS1/zRsGdy2py3SGFVpoQu5f4AqA1q6RGqkSrmn0nHIOMs5JWuGxNtLFE6BMKB83R9TPbflbjtdpqJexg2Oq9n80mvRyGUinLSLFU99lel7P8FmDZsZdvQ==

SUSANA SILVA MARTINEZ | Fecha:2021-05-20 09:52:08 | Firmante

kF7UsZVzj+gh/1OfaF7M7Higo1SMksHxldhLADxrusKQN41xZBZfenDfwEkyB2bTrGoA3eagFEFH+ClgvgOOPBPUDm5UCQKzaxDHbS4oIfd1izBMhg7vkoAiOPICVBE7IEwXICf6kGaaaxQfAMm1GVITtbkUHAEZw/5IMaV5fP2JhbKT9Sicy+kTepoGhc25xvaL9dpO7FR8yRnZYD8t4Npq3Df2tV2sNAnt9I6Z4dMh6tY8/EuTqdG3QE7nEaZcW9SALrfYjhlkHpEuAdMjJDA3xgorwV6gwlWZuAuUoVg3SjyQyutCNMXuiaMwmZtrHhclCX23dzwgHbvzFKxfg==

ALBERTO ARMANDO ALVAREZ GALLEGOS | Fecha:2021-05-20 10:05:14 | Firmante

Kn6kGmMARRwba/HIGyKUi8CWMlrN8TskoKw6LftQcjhTJBf4Mmurg6kGaT//TLObtchBwadDV7ieuSBYcLPhH3c5X1+zqIBDZ8UfnKEF5wA31vBBEUVZQFAlvgDsmJQSmtvQ0svtUSS5Y4jt4qZnQvp2HVHhTnx8Vc9LXON+LmF4+FCjVKU8RuSmce0uUVBtAMMN4zFir9ykHcCENLD9ghObTvrGBSEORoexdLj/Y217o4LTU8158i2LujsSwcTNileu6ZZWqkHmw6cjdJ/7eG8VJmUVW8RxnY9kU6pl/bWrthLEcSvOeal/Z6mSBL6e0/KEV7oN2Osoop789e/g==

JOSE ALFREDO HERNANDEZ PEREZ | Fecha:2021-05-20 10:23:02 | Firmante

MGNyVMLgWPb03jo6fhkeWS0d0jXqbqw59sPL9/scy20V7/Mf+U4CZ4FFexgHqnlrtjVsScSHZ0TV6RI+5iYDd1d31cGr3z5t4K6h8laikrP6tYSPij7d8GfCiaq5aUBWEz1yG7Fizjui+Vgr2aAGYa89GbVV9L6ydkIBELfHq8pE5M7HBGjDHj9/9ebDXWzV8cF/azGWiljxsCueDswftxi/oiWdF56AICE0OGM0HYQsaqtqaooslsWHe1k83Cl8O3r7p806O5dYGPcN13+Qvj6+Xwjvlhix0kC9tS6ot9R15TcUW1ElmR4yL6ZMCPiFO/AWALqT+2ESWwyjtW==

ARMANDO HUICOCHEA RODRIGUEZ | Fecha:2021-05-20 11:09:30 | Firmante

dehC4RktaSmp/eUeDdVUMjiwTKaTHuBlXyAL9iFh0JwctVRznTe6Ld8rJN8b6rNo+qiT5nZ+f9zUS7JbU1jF5qMO5DI4STla13ihWiktkSrLjYXLh+2pkHg+tpvk01AkM2yews0SMxxO410ULuVw2CuusaZTr3xVfeGECmZOXDDQJqS+DLk7oKGD0mmsN6hHCP7G6+FPry4ZG3MB020E05/EQh8gc+wgPtmQ9mgV6fD3nZa85MYfD5T0BK3uEJ/pO+I00J0nsP3JIYzS76a0ig7Sa3nkF8HMksV5IEk6thRstWksgrwYdYJ9zJcmorORN2BORRTE0J4E6pVlwrxA==

SATHISH KUMAR KAMARAJ | Fecha:2021-05-20 12:20:28 | Firmante

rWbtRqJgA8VBEZyHY2aPgQxsuZNXLih7LoYyMBat92qnScHnwPBFiUuQ898Xrs+DZ6KeONxu4oK7REW2cwn/7/9cYRkrmhwyarVFCNIgTdl5alr3kBDYATgZelx8tSgHHOUULW1SIPb/5kegNKILPDuDWG24sX8Ya2zEr4j4tkmD0qXjXAon3u1M6BsP1Q2tGkM+w3JypX2JdyCmevkrJTKQlxf4VEoTf5+ctQkyY+BSG3e1ZT45ZJOW5QcsNTNlb67uL3CLuTzZjPaJelrz4wGlxifRfzmV1RhStUN37c1Gpmtmdm8R3VfVSMdfWr/Xgq8KV9cAVE+tMdeG72Q==

LUIS IXTLILCO CORTES | Fecha:2021-05-28 11:44:05 | Firmante

EvanPDh+aR3MfTYIGDfwwWpwyNpTXFlyLpJeXRSsed6tHlaXcthvFyfHfFozYpv842seXKga0tt8QLNK+RVjgpR7e/duYcnJwpNjvWu3lh4Jo5uwq3aKlff7Lm5zWvowaQIDKAHN54muiOdOkVgKMKhdY4e/SPXF9G/1gA/6f6sy1e4eSXDndqOFfKvYZiSSS2fraLtzqs/svts7mwx7XhHw2qpYn8+miWEdrEWLeqNmpicN6zGO45j8OeOSe6qp9PjrgADzII42LdMryzyKSoTsg8PwfI9Tk7r/baEZs+1lfdp9ddKtMvUxtrubdM82H9w46y1bnVeNa6yOPUmhZg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



nll04f

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/j0vFeDuGgXEZQuZBAAsVDoVlvqgnifL4>





AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi amado padre Jehová, porque me acompaña siempre, por darme las fuerzas, herramientas y amigos para continuar cada día.

A mi amado esposo D'Angelo Jiménez por su compañía, sacrificio, tiempo y apoyo día con día.

A mi gran inspiración, mi mayor motivación para culminar con éxito este trabajo de tesis, por crear esas ganas de buscar lo mejor para ti; mi amada hija Nicolle Ibeke.

A mi valiente hermana Magdalena, por su sacrificio y años de trabajo, por darme lo mejor, por mantenerme de pie y ser mi ejemplo a seguir. Agradezco a mis queridos hermanos Mayra, Roxana y Miguel Ángel por su apoyo y cariño; por ser mi familia.

A mis queridos suegros Ofelia y Joaquín, por su gran cariño y apoyo.

Al Dr. Alberto A. Álvarez Gallegos, por ser mi asesor de tesis, por su apoyo, tiempo, conocimiento, paciencia y confianza hasta el final de este proyecto, gracias.

A cada uno de mis sinodales: Dra. Susana Martínez Silva, Dr. Alberto Álvarez Gallegos, Dr. Sathish Kumar Kamaraj, Dr. José Alfredo Hernández Pérez y al Dr. Luis Ixtlilco Cortés, por el tiempo dedicado a la revisión de tesis y su aprobación.

A todos mis amigos, que me apoyaron y motivaron para escribir esta tesis, por compartir su conocimiento, por los gratos momentos compartidos en el laboratorio, su compañía y cariño; Citlalli, Viridiana, María Yesenia, Atalía, Antonia, Nancy, Lourdes, Adrián, Ana Gabriela, Luisa, Lidia y José Alfredo, a todos ustedes muchas gracias.

A la Dra. Adriana, por su ayuda en la caracterización de los materiales con la técnica de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo.

A la Dra. Katy Juárez López, por su apoyo, equipo y material para llevar a cabo el análisis de la comunidad microbiana, y sus estudiantes que amablemente nos apoyaron en esta etapa; Alan cornejo, Emmanuel Alvizo y Adrián Martínez.

Al CONACyT por la beca que me otorgó durante el desarrollo de este trabajo de tesis.

Porque siempre estarán presentes en cada paso que doy, dedico esta tesis en memoria a mi madre Virginia Gama Castillo y mis adorados abuelos; Andrés Eron Gama Jaimes y Eugenia Castillo Figueroa, por su gran amor, por formar a la persona que soy ahora y porque siempre me motivaron para alcanzar mis metas.

RESUMEN

Una celda de combustible microbiana (CCM) o biocelda es un sistema bioelectroquímico que genera energía renovable y que simultáneamente degrada contaminantes ricos en materia orgánica mediante la actividad metabólica de bacterias anaerobias. Desafortunadamente, ocurren muchos accidentes de derrames de petróleo que causan gran impacto ambiental, contaminando grandes áreas de flora y fauna. Las CCMs han demostrado que pueden producir una energía útil y al mismo tiempo biodegradar suelos contaminados con petróleo.

Tecnología de celdas de combustible microbiana fueron estudiadas para evaluar su desempeño en el aumento en la densidad de potencia en función a la conductividad del catolito con distintas concentraciones de Na_2SO_4 (0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M), variación del pH (8, 5, 4 y 2) y uso de un catalizador catódico de MnO_2 depositado sobre fibra de carbono (FC).

Se utilizaron sedimentos contaminados con petróleo (SCP) como materia orgánica (MO) y fuente natural de bacterias. En este estudio se construyeron 11 CCMs de sedimentos con una sola cámara en forma cilíndrica ($d=10$ cm y $h=15$ cm) con policloruro de vinilo (PVC). Se utilizaron como materiales de electrodo fibra de carbono (FC) como ánodo y cátodo con un diámetro de 10 cm (área de superficie proyectada de 78.56 cm^2).

Una CCM se evaluó con la MO principal denominada CCM- Control, a otras celdas se les adiciono además de la materia principal otra MO derivada del petróleo; queroseno y gasolina con distintas cargas de materia (3, 9 y 15 g) denominadas; CCM-3g Q, CCM-9g Q, CCM-15g Q, CCM-3g G, CCM-9g G y CCM-15g G. También se utilizaron dos tipos de MO más fáciles de degradar; chitin natural (cáscaras de camarón) y comercial (Sigma) con dos distintas cargas (3 y 8g), denominadas; CCM-3g CN, CCM-8g CN, CCM-3g CC y CCM-8g CC, respectivamente, con el objetivo de evaluar la facilidad de las bacterias

para la oxidación de la materia y su efecto en la producción de energía en función a la materia compleja como lo son los hidrocarburos de petróleo a una materia más simple (residuos de cascara de camarón), además del impacto en la concentración del sustrato.

La síntesis del catalizador catódico de MnO_2 soportado sobre FC se realizó mediante reacción redox directa a partir de una solución de permanganato de potasio (KMnO_4) 0.1 M.

Para evaluar el desempeño de las CCM se realizaron curvas de polarización variando la resistencia externa de 38 a 0.180 $\text{k}\Omega$, los datos se registraron cada 20 segundos con un software de adquisición de datos LabVIEW y una tarjeta microcontroladora comercial (Arduino uno) conectadas a una PC. Posteriormente, se realizaron las curvas de densidad de potencia (DP).

Se realizaron pruebas de voltametría de barrido lineal con un potencial de barrido de 5 mVs^{-1} , con el fin de observar la cinética de la reacción de reducción de oxígeno (RRO) utilizando el catalizador de MnO_2/FC sintetizado en este estudio y se comparó con un catalizador comercial de platino; Pt/C E-TEK D). Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

En la CCM-control se obtuvo una densidad de corriente y una densidad de potencia de 44.99 mA m^{-2} y 4.18 mW m^{-2} , respectivamente. Los mejores resultados se obtuvieron trabajando a *pH* ácido de 2, a mayores concentraciones del catolito; 0.8 M y con catalizador de MnO_2 . La CCM-8g CN obtuvo mayor energía con 179.21 mWm^{-2} y una densidad de corriente de 351.93 mA m^{-2} , 43 veces mayor que la Celda control. Posteriormente, en las mejores condiciones de operación, la CCM-3g Q (alimentada con queroseno como MO) duplicando el área del ánodo (0.0157 m^2) produjo una densidad de corriente de 248.14 mA m^{-2} y una densidad de potencia de 183.78 mW m^{-2} , mientras que, a *pH* 8.23 (catolito), cátodo sin catalizador y área del ánodo

0.00785 m² se obtuvo una densidad de potencia de 1.76 mW m⁻². Las CCMs alimentadas con gasolina como MO, mostraron el menor desempeño 9.07 mW m⁻²; 15.84 mA m⁻², 19.78 mW m⁻²; 37.82 mA m⁻², 12.53 mW m⁻²; 30.12 mA m⁻² para las celdas CCM-15gG; -9gG; -3gG, respectivamente.

El análisis químico elemental y morfológico de la FC, catalizador de MnO₂ y Pt/C se realizó mediante Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión Campo (FESEM).

La caracterización cristalográfica del catalizador MnO₂ se realizó mediante Difracción de Rayos X (DRX).

Se realizó la extracción de DNA de la biopelícula del ánodo y parte del sedimento, y secuenciación del gen rRNA para el análisis de la diversidad microbiana.

ABSTRACT

A microbial fuel cell (MCC) or biocell is a bioelectrochemical system that generates renewable energy and simultaneously degrades pollutants rich in organic matter through the metabolic activity of anaerobic bacteria. Unfortunately, many oil spill accidents occur that cause great environmental impact, contaminating large areas of flora and fauna. CCMs have shown that they can produce useful energy while biodegrading oil-contaminated soils.

Microbial fuel cell technology was studied to evaluate its performance in the increase in power density as a function of the conductivity of the catholyte with different concentrations of Na₂SO₄ (0.05, 0.2, 0.5 and 0.8 M), pH variation (8, 5, 4 and 2) and use of a cathodic MnO₂ catalyst deposited on carbon fiber (FC).

Petroleum-contaminated sediments were used as organic matter (OM) and a natural source of bacteria. In this study, 11 MCCs with a single cylindrical chamber (d = 10 cm and h = 15 cm) were constructed with polyvinyl chloride (PVC). Carbon fiber (FC) as the anode and cathode with a diameter of 10 cm (projected surface area of 78.56 cm²) were used as electrode materials.

A CCM was evaluated with the main MO called CCM-Control, other cells were added in addition to the main matter other MO derived from oil; kerosene and gasoline with different loads of matter (3, 9 and 15 g) called; CCM-3g Q, CCM-9g Q, CCM-15g Q, CCM-3g G, CCM-9g G, and CCM-15g G. Two types of OM that are easier to degrade were also used; natural chitin (shrimp shells) and commercial (Sigma) with two different loads (3 and 8g), called; CCM-3g CN, CCM-8g CN, CCM-3g CC and CCM-8g CC, respectively, with the aim of evaluating the ease of bacteria for the oxidation of matter and its effect on energy production based on the complex matter such as petroleum

hydrocarbons to a simpler matter (shrimp shell residues; chitin), in addition to the impact on the concentration of the substrate.

The synthesis of the MnO₂ cathodic catalyst supported on FC was performed by direct redox reaction from a solution of potassium permanganate (KMnO₄) 0.1 M.

To evaluate the performance of the CCM, polarization curves were made varying the external resistance from 38 to 0.180 kΩ, the data was recorded every 20 seconds with a LabVIEW data acquisition software and a commercial microcontroller card (Arduino uno) connected to a PC. Subsequently, the power density curves (PD) were made.

Linear scan voltammetry tests with a scan potential of 5 mVs⁻¹ were performed in order to observe the kinetics of the oxygen reduction reaction (RRO) using the MnO₂ catalyst synthesized in this study and compared with a commercial platinum catalyst; Pt/ C E-TEK D). All tests were performed in duplicate.

In the CCM-control a current density and a power density of 44.99 mA m⁻² and 4.18 mW m⁻² were obtained, respectively. The best results were obtained by working at acid pH of 2, at higher concentrations of the catholyte; 0.8 M and with MnO₂ catalyst. The CCM-8g CN obtained higher energy with 179.21 mW m⁻² and a current density of 351.93 mA m⁻², 43 times higher than the Control Cell. Subsequently, under the best operating conditions, the CCM-3g Q (fed with kerosene as MO) doubling the area of the anode (0.00157 m²) produced a current density of 248.14 mA m⁻² and a power density of 183.78 mW m⁻² while, at pH 8.23 (catholyte), cathode without catalyst and anode area 0.0078.56 m², a power density of 1.76 mW m⁻² was obtained. The CCMs fed with gasoline as MO, showed the lowest performance 9.07 mW m⁻²; 15.84 mA

m^{-2} , 19.78 mW m^{-2} ; 37.82 mA m^{-2} , 12.53 mW m^{-2} ; 30.12 mA m^{-2} for cells CCM-15gG; -9gG; -3gG, respectively.

DNA extraction from the anode biofilm and part of the sediment was performed, and rRNA gene sequencing for the analysis of microbial diversity.

Elemental and morphological chemical analysis of the CF, MnO_2 catalyst and Pt/C was performed using a Field Emission Scanning Electron microscopy (FESEM).

The crystallographic characterization of the MnO_2 catalyst was carried out by X-ray Diffraction (XRD).

Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
Capítulo I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. Hipótesis.....	5
1.3. Objetivo General.....	6
1.3.1. Objetivos específicos.....	6
1.4. Metas.....	7
1.5. Estructura de la tesis.....	7
Capítulo II.....	9
MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Funcionamiento de una CCM.....	9
2.2. Desempeño de una Celda de combustible.....	11
2.3. Formación de una biopelícula electroactiva.....	14
2.4. Mecanismo de transferencia de electrones.....	16
2.4.1. Transferencia intracelular de electrones.....	16
2.4.2. Transferencia extracelular de electrones.....	17
2.5. Reacción de reducción de oxígeno.....	18
2.6. Diseños de celdas de combustible microbianas.....	20
2.6.1. CCM de doble cámara.....	20
2.6.1.2. CCM en forma de cubo.....	22

2.6.2. CCM de una sola cámara	22
2.6.2.1. CCM con flujo ascendente	23
2.6.2.2. CCM con Cátodo-aire.....	23
2.6.2.3. CCM de forma tubular concéntrica	23
2.6.3. CCM con múltiples cámaras	24
2.6.3.1. CCM-CEM.....	24
2.6.4. CCM de sedimentos	25
2.7. Materiales de electrodo	26
2.8. Sustratos	28
2.8.1. Hidrocarburos de petróleo	29
2.8.1.1. Queroseno	29
2.8.1.2. Gasolina	29
2.8.2. Chitin Natural y comercial	30
2.9 pH.....	30
2.10. Aplicaciones de una CCM.....	31
Capítulo III.....	32
METODOLOGÍA	32
3.1. Obtención de la materia orgánica.....	32
3.1.1. Composición de la materia orgánica	33
3.2. Limpieza y arreglo de los electrodos de trabajo	33
3.3. Síntesis del catalizador catódico MnO ₂	34
3.4. Preparación de sulfato de sodio	35
3.5. Construcción de las CCMs	35
3.5.1. Instalación y conexión de las CCMs	37
3.5.2. Diagrama de bloques de conexión de celdas.....	38
3.6. Cálculos	39
3.6.1. Voltaje	39
3.6.2. Densidad de corriente.....	39

3.6.2. Densidad de potencia	39
3.6.3. Curvas de polarización.....	40
3.6.4. Curvas de densidad de potencia	40
3.7. Voltametría de barrido lineal	40
3.8. Análisis de la comunidad microbiana.....	41
3.8.1. Extracción del DNA total.....	41
3.8.3 Amplificación de gen 16S rRNA para bacterias en el sedimento	43
3.9. Análisis de Microscopia electrónica de barrido (SEM)	44
3.10 Análisis de difracción de rayos X (DRX)	45
Capítulo IV	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.1. Tiempo de aclimatación de las bacterias	46
4.2. Caracterización electroquímica	47
4.2.1. Evaluación de la concentración del catolito	47
4.2.2. Evaluación del efecto del pH en el catolito	55
4.2.3. Evaluación de diferentes cargas de MO	66
4.2.4. Evaluación del efecto del catalizador catódico MnO ₂	69
4.2.5. Evaluación del efecto del catalizador catódico comercial Pt/C	72
4.2.6. Producción de energía	77
4.2.7. Voltametría de barrido lineal	81
4.4. Análisis morfológico por FESEM.....	83
4.4.1. Análisis morfológico de FC.....	83
4.4.2. Análisis morfológico de MnO ₂ /FC.....	84
4.4.3. Análisis morfológico de Pt/C	86
4.5. Caracterización cristalografica por DRX	87
4.3. Análisis de la comunidad microbiana.....	88
4.3.1. Extracción de DNA total.....	88
4.3.2. Análisis de la comunidad bacteriana.....	90
Capítulo V.....	98

CONCLUSIONES.....	98
Recomendaciones a futuro.....	100
Referencias	102
Anexos	113

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición de los sedimentos contaminados con petróleo. Análisis realizado en el Instituto de Biotecnología-UNAM.	32
2	Concentración molar de Na ₂ SO ₄ adicionado al catolito.	34
3	Reactivos utilizados para PCR de bacterias en la biopelícula.	41
4	Condiciones de operación del termociclador para PCR de bacterias.	42
5	Reactivos utilizados para PCR para bacterias en sedimentos.	42
6	Condiciones de operación del termociclador para PCR de bacterias en sedimentos.	43
7	Tabla comparativa con las mejores condiciones de estudio; pH 2, 0.8 M de Na ₂ SO ₄ . En todas las pruebas se utilizó el catalizador MnO ₂ .	74
8	Tabla comparativa de distintos CCMs, sustratos como MO y potencia entregada por la biocelda.	78
9	Cuantificación de extracción de DNA.	83
10	Clasificación por nivel taxonomico con numero de OTU's. A-Dominio Arquea; B- Dominio Bacteria.	85
11	Análisis elemental de la FC.	86
12	Análisis elemental del catalizador comercial TC/Pt.	88
13	Análisis elemental del catalizador comercial FC/MnO ₂	90

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Esquema de trabajo de una CCM convencional.	9
2.2	Curva de polarización. Pérdidas de voltaje: (1) pérdidas de activación; (2) pérdidas óhmicas; (3) pérdidas de concentración	11
2.3	Representación esquemática de la formación de biopelícula.	13
2.4	Formación de microcolonias de comunidades microbianas en la cámara anódica. A) microcolonias de bacterias fermentadoras; B) interacción de microcolonias de bacterias electrogenas y bacterias fermentadoras; C) formación de diferentes tipos de bacterias electrogenas.	14
2.5	Diagrama de la cadena respiratoria bacteriana para la recuperación de energía en una CCM.	15
2.6	Esquema del mecanismo de transferencia extracelular de electrones: (A) transferencia directa, (B) mediadores de electrones y (C) nanoalambres conductivos.	17
2.7	Esquema de una CCM convencional de doble cámara.	19
2.8	Esquema de una CCM de doble cámara tipo H.	20
2.9	Esquema de una CCM con una sola cámara.	21
2.10	A) CCM con una sola cámara con cátodo expuesto al aire; B) CCM de lecho empacado; y C) CCM con flujo ascendente (Logan et al., 2006).	23
2.11	Esquema de un sistema híbrido: CCM-CEM para incrementar la producción de H ₂ .	24
2.12	Esquema de una CCM de sedimentos.	25
2.13	Materiales de carbón utilizados en CCM: a) papel carbón; b) fibra de carbón; c) esponja de carbón; d) fieltro de carbón; e) placa de grafito; f) grafito granular; g) carbono vítreo reticulado y h) cepillo de carbón.	26
3.1	Sitio de obtención de la MO	31
3.2	Electrodos de trabajo. a) Ánodo; b) Cátodo.	32
3.3	Síntesis del catalizador catódico MnO ₂ . a) Fibra de carbón como material de soporte; b) Proceso de síntesis; c) Tratamiento térmico a 300 °C.	33
3.4	Esquema de configuración experimental utilizada en este trabajo, CCM con una sola cámara, sedimentos contaminados con petróleo como MO, fibra de carbón como cátodo y ánodo (d= 10 cm). A) ánodo no fraccionado CCM-control; B) ánodo fraccionado en 4 secciones.	35

3.5	Instalación de CCMs conectadas a un sistema de adquisición de datos (Arduino Uno, software LabVIEW).	37
3.6	Circuito de conexión de celdas al software LabView.	38
3.7	Pruebas de Voltametría. Celda de tres electrodos; ET: FC/MnO ₂ , CE: FC, ER: SCE. Conexión de la CCM al potencióstato.	40
3.8	Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) Hitachi, SU5000	43
4.1	Curva de crecimiento exponencial de las bacterias sobre el ánodo.	46
4.2.A	Curva de polarización de la CCM 8g CN. Efecto de la concentración del catolito: ♦CCM-Control; ●Inicial (SSS:SCC); ○0.05 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); ▲ 0.2 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); □0.5 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); △0.8 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂).	47
4.2.B	Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CN en función de la concentración del catolito.	48
4.2.C	Curva de densidad de potencia de la CCM 8g CN. Efecto de la concentración del catolito: ♦CCM-Control; ● Inicial (SSS:SCC); ○0.05 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂);▲0.2 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); 0.5 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); △ 0.8 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂).	49
4.3.A	Curvas de polarización. CCM-3g Q. Efecto de la concentración del catolito: ♦ Control; ● Inicial (SSS:SCC); ○SSS (CC-MnO ₂); ▲0.05 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); □ 0.2 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); △0.5 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); ◆0.8 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂).	50
4.3.B	Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g Q en función de la concentración del catolito.	51
4.3.C	Curvas de densidad de potencia. CCM-3g Q (sedimentos contaminados con petróleo + 3 g de queroseno). ♦ Control; ●.Inicial (SSS:SCC); ○SSS (CC-MnO ₂);▲ 0.05 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); □ 0.2 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); △ 0.5 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂); ◆0.8 M Na ₂ SO ₄ (CC-MnO ₂)	52
4.4.A	Curvas de polarización de la CCM 3g CN. Efecto en la variación de pH.♦CCM control (SSS: SC: pH 7.85); ●inicial (SSS: SC: pH 8.25); ○ pH 8.25 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); ▲ pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); □ pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); △ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	55
4.4.B	Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g CN en función de la concentración del catolito.	55
4.4.C	Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g CN. Efecto en la variación de pH. ♦ CCM control (SSS: SC: pH 7.85); ● inicial (SSS: SCC: pH 8.25); ○ pH 8.25 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); ▲pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); □ pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); △ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	56

4.5.A	Curvas de polarización de la CCM 3g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.26); \circ pH 8.26 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); Δ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	57
4.5.B	Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g CC en función de la concentración del catolito.	58
4.5.C	Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.26); \circ pH 8.26 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); Δ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	58
4.6.A	Curvas de polarización de la CCM 8g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \circ inicial (SSS: SC: pH 8.28); Δ pH 8.28 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \bullet pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacklozenge pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	59
4.6.B	Curvas de densidad de potencia de la CCM 8g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \circ inicial (SSS: SC: pH 8.28); Δ pH 8.28 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \bullet pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacklozenge pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	60
4.6.C	Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CC en función de la concentración del catolito.	61
4.7.A	Curvas de polarización de la CCM 3g Q. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.33); \circ pH 8.33 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); Δ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	62
4.7.B	Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CC en función de la concentración del catolito	62
4.7.C	Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g Q. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.33); \circ pH 8.33 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); \square pH 4 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂); Δ pH 2 (0.8 M Na ₂ SO ₄ : CC-MnO ₂).	63
4.8	Curvas de polarización ($\bullet\bullet$); Curvas densidad de potencia (—). Evaluación del efecto de la carga de la MO; \bullet 15 g Queroseno; \square 9 g Queroseno; \blacklozenge 3 g Queroseno.	65
4.9	Curvas de polarización ($--\blacktriangleright$) y Curvas densidad de potencia (\blacktriangleright). Evaluación del efecto de la carga de la MO; \circ 3 g Chitin natural; \bullet 8 g Chitin natural.	67

4.10	Curvas de polarización (←---) y Curvas densidad de potencia (→). Evaluación del efecto de la carga de la MO; ○ 3 g; □ 9 g; ▲ 15 g de gasolina.	68
4.11	Curvas de polarización (---) y densidad de potencia (—) de la CCM-3g CN. Evaluación del efecto del catalizador MnO ₂ . ◇CCM-Control (SC: SSS); ▲SCC (0.8 M Na ₂ SO ₄ : pH 2); ○CC-MnO ₂ (0.8 M Na ₂ SO ₄ : pH 2).	69
4.12	Evaluación electroquímica del catalizador catódico comercial Pt/C. Curvas de polarización por triplicado de la CCM 8g CN. Área del cátodo 0.0025 m ² .	71
4.13	Evaluación electroquímica del catalizador catódico comercial Pt/C. Curvas de densidad de potencia por triplicado de la CCM 8g CN. Área del cátodo 0.0025 m ²	72
4.14	Curvas de polarización (- - ·) y densidad de potencia (—). Evaluación del catalizador Pt/C contra MnO ₂ . CCM 8g CN. ○Pt/C (0.0025 m ²); ◆FC/MnO ₂ (0.00785 m ²); □3 g Q; FC/MnO ₂ ; ánodo (0.00157 m ²).	73
4.15	Producción de energía durante 3 meses de operación de la CCM-15g Q.	77
4.16	Voltamograma de la configuración CCM-8g CN hacia la RRO. Evaluación del catalizador. — FC/SC (pH 8.25); — FC/SC (pH 2: 0.8 M Na ₂ SO ₄); — TC/Pt (25 cm ² ; pH 2; 0.8 M Na ₂ SO ₄); — FC/MnO ₂ (pH 2; 0.8 M Na ₂ SO ₄).	81
4.17	Microscopia de FESEM de fibra de carbón como material de soporte (ánodo y cátodo) en las CCMs. a) FC; b) Un solo hilo de FC.	83
4.18	Microscopia de FESEM del catalizador catódico FC/ MnO ₂ sintetizado en este trabajo. a) Magnificación de 500 μm; b) Magnificación de 500 nm; c) Magnificación de 50 μm; d) Magnificación de 50 μm, distinta zona. Análisis elemental; zonas 1), 2),3).	84
4.19	Microscopia de FESEM de tela de carbón como material catódico comercial: a) TC/Pt; b) Película de Pt. Análisis elemental: 1) Análisis general de la película; 2) Análisis de la subpelícula; 3) Análisis de un hilo de la TC.	85
4.20	Análisis del catalizador MnO ₂ /FC por DRX.	87
4.21	Extracción de DNA.	88
4.22	Electroforesis de la biopelícula	89
4.23	Electroforesis del sedimento	89
4.24	Abundancia relativa de la composición de la comunidad microbiana del sedimento (S) y Biopelícula (E).	90

4.25	Abundancia relativa de filo bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento	92
4.26	Abundancia relativa de filo arqueas para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento	93
4.27	Abundancia relativa de orden bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento	94
4.28	Abundancia relativa del género bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento	95
4.29	Abundancia relativa del género arqueas para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento	96

INTRODUCCIÓN

Actualmente, existe la búsqueda de alternativas de fuentes de energía renovables, siendo prometedora la generación de energía a partir de la biomasa mediante, tecnología de celdas de combustible microbianas (CCMs). Una celda de combustible microbiana o biocelda utiliza bacterias para convertir la energía química almacenada en la materia orgánica e inorgánica (glucosa, sacarosa, acetato, citrato, glicerol, aguas residuales hasta contaminantes tóxicos como materia derivada del petróleo, metales pesados, etc.) directamente a energía eléctrica (Fuentes et al., 2012; Payel et al., 2017; Panpan et al., 2018; Chandrasekhar et al., 2012; Pratiksha et al., 2016; K. Scott, 2016). Una CCM convencional, está constituida por un ensamble electrodo-membrana-electrodo, dividida en dos compartimentos; anódico y catódico. Su principio de funcionamiento se basa en bacterias anaerobias activas electroquímicamente en la cámara anódica y llevan a cabo el proceso de oxidación de la materia orgánica (MO) sobre la superficie del electrodo (ánodo) liberando electrones (e^-), protones (H^+) y CO_2 , principalmente. Los e^- son transportados por un circuito externo que alimenta una carga hacia la

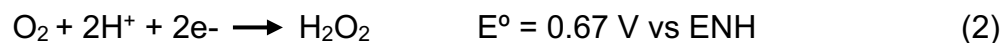
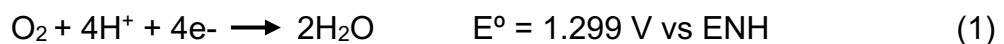
cámara catódica, mientras que los H^+ viajan a través de una membrana intercambiadora de protones, donde estos reaccionan con los e^- y un oxidante (generalmente oxígeno por su abundancia y es gratis) en la superficie del cátodo para formar agua (conocida como reacción de reducción de oxígeno; RRO). Finalmente, los productos finales son energía eléctrica verde, y agua (Gil et al., 2003; Logan et al., 2006; K. J. Chae et al., 2009; Arpita et al., 2015). Las CCMs también son conocidas como un sistema de tratamiento bioelectroquímico (BET) por su simultánea eliminación de contaminantes altamente tóxicos y complejos, pero, principalmente están enfocadas al tratamiento de aguas residuales [Liu et al., 2010; Venkata et al., 2011; Li et al., 2015; Kiely et al., 2011], además de que no se requiere de un combustible de alto costo como hidrogeno puro, metanol y borohidruro de sodio, como lo requieren las celdas de combustible de membrana intercambiadora de protones (PEMFC; Proton Exchange Membrane Fuel Cell), de metanol directo (DMFC; Direct Methanol Fuel Cell) y borohidruro directo (DBFC; Direct Borohydride Fuel Cell), respectivamente (Liew et al., 2015).

Los primeros reportes sobre la utilización de una biocelda fueron hechos por Rohrbach donde utilizó *Clostridium butyricum* como biocatalizador (material biológico) para generar hidrógeno a partir de la fermentación de la glucosa. Posteriormente, Potter en 1911, en la universidad de Durham, UK, demostró que los microorganismos *E. coli* y *Saccharomyces* podrían generar un voltaje y producir un flujo de corriente, utilizando electrodos de platino. Cohen en 1931, en la universidad de Cambridge revivió la idea de Potter y demostró que una biocelda en modo batch era capaz de producir más de 35 V a una corriente de 0.2 mA, pero no fue hasta 1963 que la NASA utilizó los desechos humanos en una celda para producir electricidad durante los vuelos espaciales, de igual forma las bioceldas estaban comercialmente disponibles como suministro de energía para abastecer radios y señales de luz en el mar (lugares remotos). En 1990 Habberman y Pommer reportaron el uso de una CCM a largo plazo

(5 años) utilizando aguas residuales municipales e informaron por primera vez el mecanismo de transferencia indirecta de electrones a través de mediadores (por ejemplo, sulfato/sulfuro) (Slate et al., 2019).

A pesar de los avances que ha habido en el uso y funcionamiento de las CCMs estas presentan una de las limitantes más importantes que minimizan su desempeño, generando energía por debajo de 1 mW cm^{-2} (10 W m^{-2}) (Du et al., 2007): los materiales de electrodo, están hechos con base en platino (Pt) o de su grupo, conocidos como materiales preciosos, los cuales son muy caros y producir bioceldas de combustible a nivel laboratorio-escala las hace incompetentes, ya que una tercera parte constituye el costo total de la celda (Panpan et al., 2018). Por lo tanto, se requieren nuevos materiales económicos, versátiles y amigables con el medio ambiente que puedan sustituir al Pt.

Las bacterias actúan como un catalizador anódico, en el cual, no se requiere del uso de un catalizador de Pt, pero sí que el material de soporte de la biopelícula sea resistente, con buena conductividad, gran área superficial y bajo costo (Zhang et al., 2015). Por otra parte, en el cátodo la RRO es una limitante tres veces mayor a la reacción de oxidación, debido a que es una reacción cinéticamente muy lenta. En un medio acuoso ácido la RRO presenta las siguientes reacciones.



Donde, el máximo flujo de electrones, por un mecanismo de 4e^- (1) se produce utilizando Pt. Mientras que, para la segunda reacción (2) solo se ha llevado a cabo sobre materiales de Au, Hg y C, siendo mejor el carbón por su bajo costo y toxicidad, ya que el oro es un material caro y el mercurio presenta alto grado de toxicidad (Liew et al., 2015; Farahani et al., 2018; Foght et al., 2008).

En las últimas décadas esfuerzos se han generado para el estudio de la síntesis de catalizadores con propiedades electroquímicas similares al Pt. Varios óxidos de manganeso se han depositado sobre una superficie de carbono; carbón activado granular (Li et al., 2010), nanotubos de carbón (Liew et al., 2015; Lu et al., 2013, Alireza et al., 2016), carbón felt (Zhang et al., 2015), papel carbón (Liu et al., 2010), carbón vulcano XC-72R, óxido de grafeno (Farahani et al., 2018, Majidi et al., 2019), etc., los cuales, actúan sinérgicamente con el óxido de manganeso (MnO_x) para mejorar la RRO, ya que por sí solo, las nanoestructuras de MnO_x poseen baja conductividad eléctrica, lo cual alienta a utilizar materiales de carbón que poseen alta conductividad (Zhang et al., 2009; Wen et al., 2012, Majidi et al., 2019).

Zhang et al 2009, sintetizó tres tipos de óxido de manganeso: α , β , y γMnO_2 como catalizadores catódicos para evaluar la RRO en bioceldas, demostraron que β es la fase más estable del dióxido de manganeso. Li et al., 2010, desarrollaron tres catalizadores de MnO_2 con estructura molecular octaédrica de tipo criptomelano dopado con cobalto, cobre y cerio, lograron un mejor desempeño de la biocelda adicionando cobalto con una densidad de potencia de 180 mW m^{-2} y 190 mW m^{-2} con un catalizador de Pt. Zhang et al., 2011, evaluaron una CCM con un catalizador de MnO_2 depositado sobre nanotubos de carbón para mejorar la cinética de la RRO, logrando generar densidades de corriente similares a un catalizador convencional de Pt, con una densidad de potencia de 210 y 229 mW m^2 , respectivamente. En general, el material de MnO_2 es una alternativa para utilizarse como catalizador en CCM obteniendo velocidades similares a las del Pt para llevar a cabo la RRO, gracias a sus propiedades catalíticas, su facilidad de intercambio iónico, absorción molecular, bajo costo y efecto no perjudicial con el medio ambiente (Zhang et al 2011; Liew et al., 2015).

Además de la naturaleza de los electrodos, la producción de energía eléctrica en una CCM interviene varios factores como: a) el diseño de la celda;

b) la disposición de la materia orgánica; c) metabolismo bacteriano y d) conductividad de la solución, e) tipo de membrana o separador, f) distancia entre los electrodos, los cuales son factores muy importantes que contribuyen en el desempeño total de la CCM (Li et al., 2010; Nandy et al., 2016; Tamboli et al., 2019).

Una de las principales ventajas de las celdas es que simultáneamente reduce contaminantes tóxicos como el petróleo, esta materia posee una gran cantidad de moléculas incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos, alifáticos, compuestos de nitrógeno, azufre y oxígeno (NSO), lo cual, hace que el proceso de degradación de los lodos de hidrocarburo sea muy lenta, por su complejidad, baja solubilidad acuosa haciendo caro su tratamiento, manejo y control (Chandrasekhar et al 2012; Nandy et al 2016; Pratiksha et al., 2016). Sin embargo, se han estudiado bioceldas con sedimentos contaminados con petróleo como materia orgánica, demostrando su efectividad en la reducción de estos compuestos (Morris et al., 2009; Chandrasekhar et al 2012; Morris et al., 2012). Por lo tanto, una CCM es una tecnología alternativa para llevar a cabo la eliminación de sustancias complejas como lo es el petróleo y sus derivados y simultáneamente se está generando una corriente eléctrica útil.

El 31 de diciembre de 2011 se contaminó un área de 30 000 m² de suelo natural y aproximadamente 9 km del río Coatzacoalcos a causa de un derrame de un oleoducto en Nueva Teapa, Poza Rica, derramándose más de 240 000 litros de hidrocarburos de petróleo. Tantos accidentes a causa del hombre generan gran daño al ecosistema por lo que se requiere usar tecnologías baratas, que no contaminen al medio ambiente y que puedan remediar los suelos contaminados.

1.2. Hipótesis

Disminuir la distancia entre los electrodos reduce la resistencia interna de una celda de combustible siendo un parámetro fundamental para aumentar

su potencia de salida, sin embargo, se expone las condiciones anaerobias en la cámara anódica. Por lo que, la hipótesis es; una capa de sedimento adecuada de aproximadamente 4 cm de separación entre los electrodos se mantendrán las condiciones anaerobias y utilizando un catalizador catódico de MnO_2 junto con el aumento de la conductividad con Na_2SO_4 y pH ácido reducirán los sobrepotenciales y aumentará la cinética de la RRO (reacción catódica limitante) aumentando así, la potencia de salida de la celda. Se realizarán las pruebas pertinentes para demostrar la hipótesis.

1.3. Objetivo General

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio es construir y evaluar una celda de combustible microbiana, utilizando un catalizador catódico de MnO_2 para mejorar la velocidad de RRO y simultáneamente, evaluar los parámetros de conductividad y pH del catolito con el fin de aumentar la potencia de salida de la CCM utilizando sedimentos contaminados con hidrocarburos.

1.3.1. Objetivos específicos

1. Diseñar y construir una CCM utilizando sedimentos contaminados con petróleo como MO.
2. Diseñar y Construir 10 CCMs variando la MO; chitin natural, comercial, queroseno, gasolina con distintas concentraciones de carga (3, 9, 15 g).
3. Realizar curvas de polarización y densidad de potencia a las CCM.
4. Evaluar el efecto de la conductividad del catolito con distintas concentraciones de sulfato de sodio (Na_2SO_4); 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M.
5. Evaluar el efecto de la variación de pH ; 8, 6, 4 y 2.
6. Sintetizar y evaluar el desempeño de un catalizador catódico de MnO_2 depositado sobre fibra de carbón.
7. Realizar pruebas de voltametría lineal para la evaluación de la RRO con el catalizador de MnO_2 y compararlo con un catalizador comercial con base en Pt (Pt/C).

-
8. Evaluar la producción de energía en un tiempo prolongado.
 9. Analizar la comunidad microbiana del ánodo.
 10. Analizar la morfología y composición química de la Fibra de carbón con y sin catalizador mediante FESEM.
 11. Realizar la caracterización cristalográfica del catalizador catódico MnO_2 mediante DRX.

1.4. Metas

Incrementar la potencia de salida de una celda de combustible microbiana mediante la evaluación de diferentes parámetros: conductividad del catolito, pH, diferente materia orgánica (Queroseno, gasolina, quitina natural y comercial) con distintas cargas de materia orgánica, y desempeño de un catalizador de MnO_2 depositado sobre fibra de carbón que aumente la cinética de reacción de reducción de oxígeno.

1.5. Estructura de la tesis

La estructura de la tesis esta formada por cinco capítulos: en el capítulo 1, se da una introducción sobre el tema de investigación del trabajo a desarrollar, planteamiento del problema, hipótesis, objetivos específicos y alcances de lo que se desea concluir del proyecto; el capítulo 2 muestra referencias literarias de los avances en el desempeño y funcionamiento de operación de las celdas de combustible microbianas, aspectos teóricos sobre el mecanismo de transferencia de electrones dentro de las bacterias hacia el electrodo, así como, el diseño, condiciones de operación, materiales de electrodo y materia orgánica utilizados en una CCM para disminuir las pérdidas de voltaje; en el capítulo 3 se describe la metodología empleada, la configuración y construcción de diferentes celdas de combustible, materiales, condiciones de operación y técnicas de caracterización físico-químicas, electroquímicas y morfológicas de los materiales; en el capítulo 4 se presentan los resultados y discusión de los objetivos y comprobación de hipótesis;

finalmente, en el capítulo 5 se muestran las conclusiones y recomendaciones a futuro.

MARCO TEÓRICO

2.1. Funcionamiento de una CCM

Una CCM convierte la energía química almacenada en un sustrato directamente a energía eléctrica. Una CCM convencional esta formada por dos compartimentos (ver figura 2.1): una cámara anódica y una catódica constituidos por un ánodo y un cátodo, respectivamente y separadas por una membrana intercambiadora de protones (MIP). Su principio de funcionamiento básico es: la cámara anódica contiene una amplia variedad de microorganismos anaerobios que mediante diversas rutas metabólicas producen la oxidación/degradación instantánea de diversos compuestos ricos en materia orgánica (por ejemplo, glucosa, sacarosa, fumarato) hasta contaminantes como metales pesados e incluso especies inorgánicas, tales como sulfatos, manganeso y óxidos de hierro, que pueden ser reducidos para formar S^{2-} , Mn^{2+} y Fe^{2+} , respectivamente. A partir de la oxidación del sustrato se producen electrones, protones y CO_2 , principalmente. Posteriormente, los protones generados en la oxidación viajan a través de una membrana intercambiadora de protones hacia la cámara catódica, mientras que, los

electrones lo hacen mediante un circuito eléctrico externo alimentando una carga, junto con los protones y un oxidante (oxígeno) reaccionan sobre una superficie catalizada con Pt para formar directamente agua (Li et al., 2015; Morris et al., 2012).

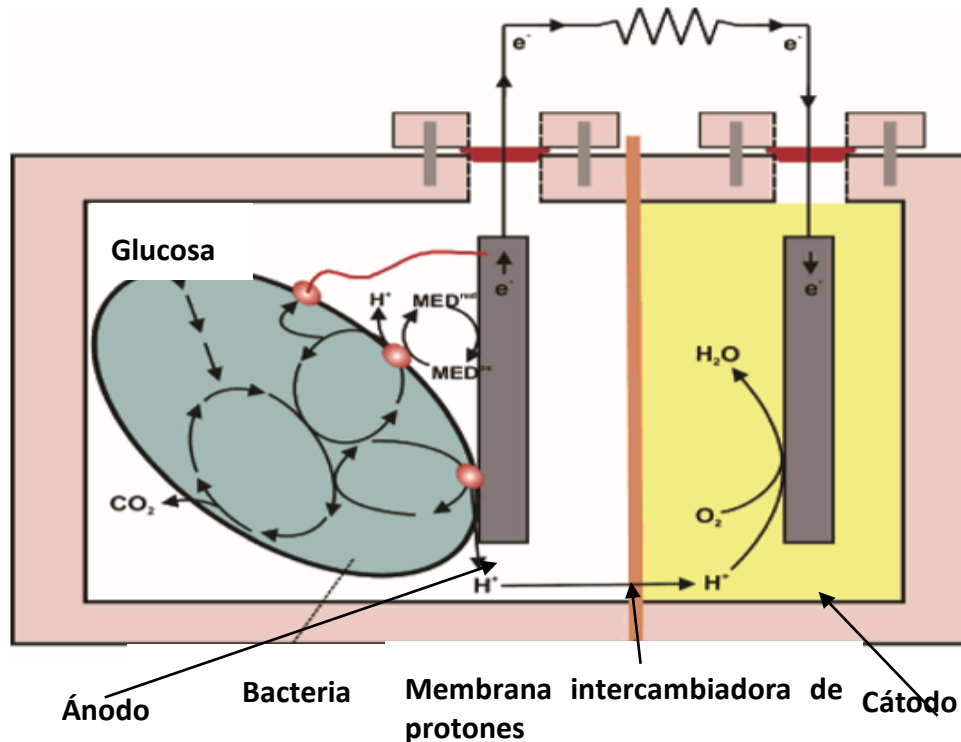
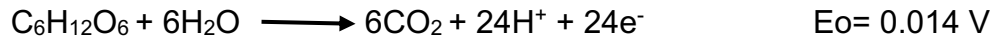


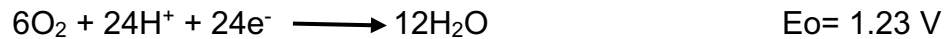
Figura 2.1. Esquema de trabajo de una CCM convencional (Logan et al., 2006).

En el compartimento anódico las bacterias tienen la capacidad de capturar y procesar la energía, mientras van creciendo, estas catalizan reacciones químicas generando y almacenando energía en forma de Adenosina Trifosfato (ATP), mediante su metabolismo oxidan el sustrato generando electrones que son transferidos a enzimas respiratorias de la bacteria por medio de coenzimas de Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD⁺). La coenzima, por tanto, se encuentra en dos formas en las células: NAD⁺ y NADH. NAD⁺, es un agente oxidante, acepta electrones de otras moléculas, NADH en su forma reducida, finalmente los electrones son transferidos al ánodo (Logan et al., 2006, Prakasham et al., 2019).

En una CCM, en el ánodo, asumiendo que el combustible es glucosa para un medio ácido, las bacterias oxidaran la materia orgánica, generando la reacción siguiente (K. Skott et al., 2016):



En el cátodo, el oxidante suministrado, generalmente oxígeno, con la presencia de un catalizador de platino la reacción es (medio ácido):



Finalmente, se crea una corriente según los electrones y protones sean producidos durante la oxidación de la glucosa (24 H y 24 e⁻). El potencial teórico de la celda se calcula con la siguiente ecuación:

$$E_{\text{celda}} = E_c - E_a \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde, E_c y E_a, son el potencial del cátodo y potencial del ánodo, respectivamente.

En una CCM alimentada con glucosa como fuente orgánica, el potencial teórico es 1.21 V, con acetato 1.1 V, un voltaje similar a las celdas de combustible convencional (1.23 V, bajo condiciones estándar e hidrógeno como combustible y oxígeno como oxidante).

2.2. Desempeño de una Celda de combustible

El comportamiento operativo de una celda de combustible se observa en una curva de polarización (i vs V); voltaje en función al flujo de corriente mientras pasa a través de una carga. Para una celda de combustible microbiana ideal (acetato-Oxígeno), el potencial termodinámico estándar es 1.1 V observándose en forma lineal en la curva de polarización en función al aumento de corriente (ver figura 2.2, curva a).

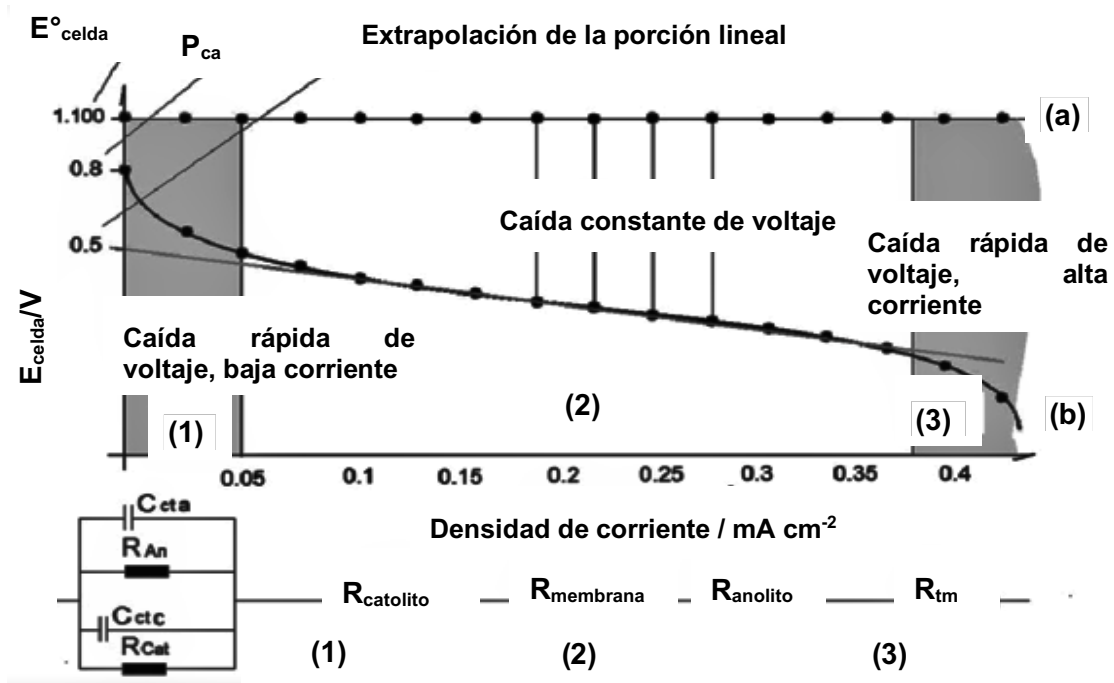


Figura 2.2. Curva de polarización. Pérdidas de voltaje: (1) pérdidas de activación; (2) pérdidas óhmicas; (3) pérdidas de concentración (Figura modificada, Fuentes et al., 2012).

La realidad es que no se puede trabajar bajo esas condiciones ideales, es por ello, que en una curva de polarización durante su operación se observa una caída de voltaje, alejándose del comportamiento ideal de la celda (curva b). Es decir, conforme aumenta la corriente se genera una serie de resistencias internas conocidas como pérdidas de polarización o sobrepotenciales, generando una caída en el potencial de la celda. Esa caída de potencial se explica en tres regiones; pérdidas de activación, pérdidas óhmicas y pérdidas de concentración, tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$$E_{celda} = \Delta E_e - |\eta_{c, act}| - |\eta_{a, act}| - IR - \eta_{tm} \quad (EC. 2)$$

Donde;

ΔE_e = es la suma de los potenciales de equilibrio de las reacciones en el ánodo y cátodo.

η_c , η_a = sobrepotencial de activación catódico y anódico, respectivamente.

η_{tm} = sobrepotencial con respecto al transporte de masa.

iR = sobrepotencial óhmico.

La primera región en la curva de polarización corresponde a las pérdidas de voltaje por activación (región 1, figura 2.2) y son ocasionadas por varios factores; la energía inicial que se requiere para que se lleven a cabo las reacciones oxido-reducción, donde influye la naturaleza heterogénea y superficie de los electrodos (catalizador). Por otra parte, también se suma las pérdidas por el metabolismo bacteriano (oxidación microbiana y transferencia intracelular de electrones), es decir, la energía que necesitan las bacterias para la oxidación del sustrato. El sobrepotencial de activación domina las pérdidas de polarización cuando la densidad de corriente baja, estas pérdidas pueden ser minimizadas utilizando materiales de electrodo con alta conductividad, resistencia y catalizadores en ambos lados del electrodo (Xia et al., 2018; Fuentes et al., 2012)

En la segunda región se caracteriza por una caída de voltaje más lenta y casi lineal (región 2), debido a las pérdidas de voltaje óhmico que corresponden a la resistencia al transporte de iones y flujo de electrones en el electrolito, membrana y electrodos ($R_{catolito}$, $R_{membrana}$, $R_{anolito}$). Estas pérdidas pueden ser reducidas disminuyendo la distancia entre los electrodos (ánodo-cátodo), aumentando la conductividad de electrolito y electrodos.

Finalmente, Cuando la celda opera a bajas densidades de corriente el consumo del reactante (combustible) es mínimo, por lo tanto, las pérdidas de voltaje no son significativas (ver figura 2.2, región 3), mientras que, cuando la

densidad de corriente incrementa, hay mayor consumo del reactante, difundiéndose a una velocidad lenta hacia la superficie del electrodo por los productos generados (proceso dominante), contribuyendo significativamente a las pérdidas del potencial de la celda por el transporte de masa (R_{tm}), esto se conoce como pérdidas por concentración. La disminución en la concentración del reactante depende de la naturaleza del catalizador o biopelícula, naturaleza del sustrato y concentración del sustrato/producto. Para disminuir las pérdidas de voltaje se pueden incrementar las concentraciones del reactante (Fuentes et al., 2012; Nikhil et al., 2019; Logan et al., 2006).

2.3. Formación de una biopelícula electroactiva

La formación de una biopelícula electroactiva se forma sobre la superficie de un electrodo el cual actúa como un sumidero de electrones y acepta electrones donado por las bacterias electroactivas. La unión inicial de las bacterias sobre la superficie del electrodo es facilitada por la habilidad de las bacterias para donar electrones, por medio de un mecanismo de transferencia de electrones directo, tal como lo hacen las bacterias *Geobacter* sp., *Shewanella* sp., o por un mecanismo de transferencia de electrones asistida por mediadores, por ejemplo, por bacterias *Pseudomonas* sp., etc. En la figura 2.3, se muestra la representación esquemática de la formación de la biopelícula sobre la superficie del electrodo.

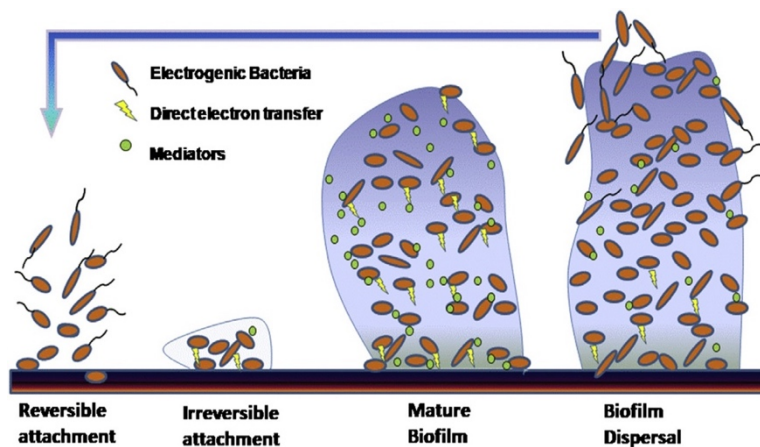


Figura 2.3. Representación esquemática de la formación de biopelícula.

La formación y cantidad de bacterias puede ser enriquecida con suelos de cultivo de arroz, compostas, sedimentos oceánicos, sedimentos de aguas residuales, con alto contenido orgánico, además del electrodo de trabajo que es el aceptor de electrones también contribuye a enriquecer las bacterias electroactivas promoviendo su adherencia, por lo tanto, hay mayor predominio de bacterias electrogenicas en la biopelícula comparadas a las bacterias planctónicas (que no producen electricidad), tal como se observa en la figura 2.4. Por lo tanto, en la biopelícula puede haber bacterias conductoras y no conductoras de electricidad, y estas se diferencian por el transporte de electrones extracelular por medio de filamentos llamados pili, o por medio de citocromos tipo c o mediadores de electrones.

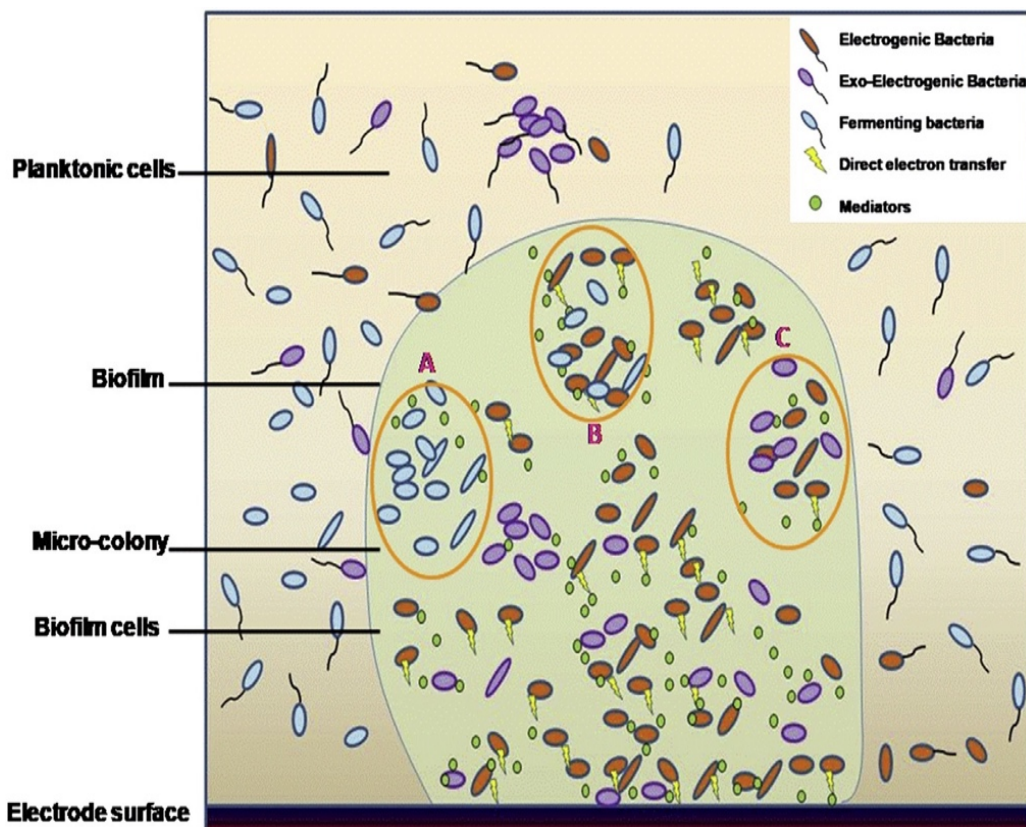


Figura 2.4. Formación de microcolonias de comunidades microbianas en la cámara anódica. A) microcolonias de bacterias fermentadoras; B) interacción de microcolonias de bacterias electrogenicas y bacterias fermentadoras; C) formación de diferentes tipos de bacterias electrogenicas.

2.4. Mecanismo de transferencia de electrones

Los microorganismos capturan energía por la oxidación del sustrato y transfieren los electrones al ánodo, para que se lleve a cabo primero ocurre una transferencia intracelular de electrones y posteriormente una transferencia extracelular de electrones.

2.4.1. Transferencia intracelular de electrones

El transporte de electrones del donador (sustrato) a las proteínas de membrana externa se conoce como transferencia intracelular de electrones (IET, por sus siglas en inglés), la cual se lleva a cabo por la cadena respiratoria de la bacteria (ver figura 2.5), donde la liberación de electrones son transferidos a las proteínas de la membrana externa (PME) mediante portadores intracelulares de electrones, como por ejemplo, NAD^+/NADH . cuya energía entregada por la celda depende de dónde salen los electrones de la cadena de enzimas respiratorias (flecha verde).

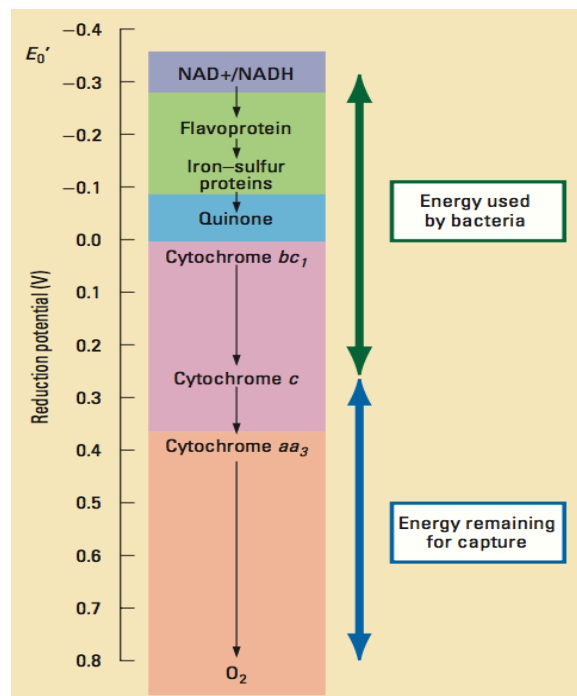


Figura 2.5. Diagrama de la cadena respiratoria bacteriana para la recuperación de energía en una CCM.

2.4.2. Transferencia extracelular de electrones

Posteriormente, el transporte de electrones de las PME a el ánodo es a través del proceso llamado transferencia extracelular de electrones (EET, por sus siglas en inglés) y es la energía útil que puede ser recuperada por la CCM (flecha azul, figura 2.5)(Lee et al., 2019; Logan et al., 2006).

Se han identificado tres posibles métodos de transferencia de electrones de las bacterias a los electrodos (ver figura 2.6):

- A) Mecanismo de transferencia de electrones directa; ocurre por contacto directo por medio de proteínas redox entre la membrana celular externa y el aceptor de electrones (ánodo), conocidos como citocromos tipo c que transportan los electrones fuera de la célula bacteriana hacia ánodo, por ejemplo, *Shewanella*. Los citocromos tipo c son proteínas redox que contienen uno o más grupos heme que median el transporte respiratorio de electrones en muchos organismos (Louro et al., 2019).

- B) El Segundo mecanismo de transferencia es utilizando mediadores: estos dirigen a los electrones desde la bacteria hasta el electrodo, estos pueden ser moléculas orgánicas o inorgánicas, y son autoproducidas por las propias bacterias, por ejemplo, *Pseudomonas* sp., produciendo fenacina) (Kotakonda et al., 2019), *Shewanella oneidensis* MR1 produce mediadores redox solubles como nanoalambres. Otras bacterias que producen mediadores extracelulares son *P. aeruginosa* que produce piocianina, bacteria *S. oneidensis* que produce quinoa. Otros mediadores pueden ser flavinas, cisteína o compuestos extracelulares. Estos mediadores son reducidos durante la oxidación metabólica de la MO y su forma reducida es posteriormente re-oxidada al transportar los electrones

hacia el ánodo o también se pueden utilizar mediadores artificiales (Prakasham et al., 2019; Louro et al., 2019).

C) Vía pili, actúan como nanoalambres: por ejemplo, *geobacter* sp. Estas bacterias tienen la capacidad de transferir los electrones directamente mediante los nanoalambres al electrodo reduciendo muchos sustratos como el Fe (III). Por lo cual, estos microorganismos son conocidos como bacterias electrogenicas, por su capacidad de generar una corriente eléctrica donando los electrones directamente al electrodo. *Geobacter* sp., *shewanella* sp., *desulfuromonas propionicus*, *rhodoferrax* hierroreductoras y *thiobacillus ferrooxidans*, también transfieren electrones directamente de su membrana celular o mediante nanoalambres a la superficie del electrodo (k. Scott et al., 2007; Louro et al., 2019).

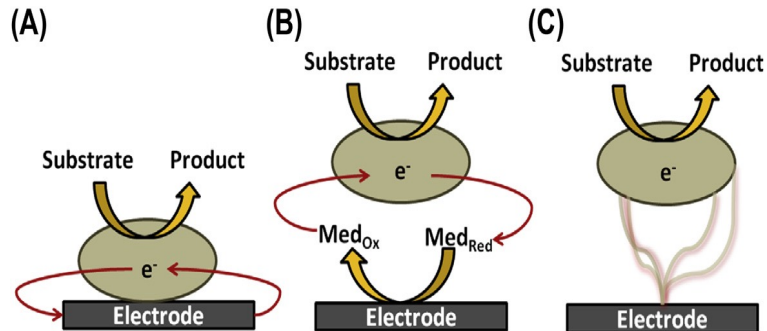


Figura 2.6. Esquema del mecanismo de transferencia extracelular de electrones: (A) transferencia directa, (B) mediadores de electrones y (C) nanoalambres conductivos.

2.5. Reacción de reducción de oxígeno

Una vez que las bacterias liberan los electrones hacia el ánodo estos viajan hacia el cátodo donde junto con los protones y el oxígeno reaccionan para formar agua. El desempeño de una CCM está limitada por la lenta cinética de esta reacción de reducción catódica del oxígeno. El oxígeno es el aceptor de electrones más factible por su alto potencial redox, además que es gratis,

se encuentra libre en la naturaleza. Sin embargo, la baja solubilidad y difusibilidad del oxígeno en el agua limita la producción de electricidad en la biocelda (De Schamphelaire et al., 2008). Se han utilizado otros oxidantes como hexacianoferrato, ferri/ferrocianuro (Samsudeen et al., 2016) como aceptores de electrones para mejorar la RRO. Pero, estos productos son tóxicos, y se requiere de un posterior tratamiento, por tal motivo, no es sostenible.

La RRO en medio ácido se lleva a cabo mediante dos mecanismos: cuando el oxígeno acepta 4 electrones (reacción 1) para formar agua y cuando se reduce con 2 electrones (reacción 2) conduciendo a la formación de peróxido de hidrógeno. El mejor mecanismo es por el camino de 4 electrones, que se lleva a cabo sobre materiales de Pt (reacción 1), por su excelente estabilidad catalítica y química,. Sin embargo, su alto costo y baja abundancia limita su aplicación a nivel escala. Mientras que, el camino de 2 electrones es una reacción incompleta generando intermediarios y radicales libres que dañan la celda, además de que genera baja eficiencia de conversión de energía (Bajrachrya S., et al 2016; Wang et al., 2012..72; Li et al., 2010; Lu et al., 2013; Jung et al., 2019).

Li et al., 2015 evaluaron la RRO, sintetizando un catalizador Binuclear-Cobalto-Ftalocianina (Bi-CoPc) a distintas temperaturas: 300 – 1000 °C con el fin de sustituir al Pt, el catalizador lo evaluaron en una CCM con una sola cámara, obteniendo los mejores resultados a 800 °C con una densidad de potencia de 604 mW m⁻², ligeramente menor comparado a la DP generada con Pt (724 mW m⁻²) y una eficiencia coulombica de 29.6 y 32.5 %, respectivamente. Sin embargo, la inestabilidad a largo plazo de las ftalocianinas de metales de transición no es una alternativa. Por lo que, se esta trabajando en la búsqueda de materiales catódicos que incrementen la cinética de la RRO.

2.6. Diseños de celdas de combustible microbianas

En la última década se ha buscado mejorar el desempeño de las CCMs en términos de producción de energía, modificando el diseño de la celda, el tamaño del reactor, el área de superficie de los electrodos, distancia entre los electrodos y tipo de membrana que puede ser utilizada, debido a que estos factores afectan directamente la producción de electricidad (Samsudeen et al., 2016).

2.6.1. CCM de doble cámara

Las celdas de combustible convencionales y las primeras celdas que se construyeron presentan una configuración electrodo-membrana-electrodo (CCM de doble cámara) como se observa en la figura 2.7, los microorganismos crecen en el ánodo o el anolito. Los electrones son transferidos al ánodo y los protones fluyen a través de la membrana intercambiadora de protones hacia el cátodo, donde reaccionan con los electrones y oxígeno como oxidante para formar agua. Con la membrana se mantienen las condiciones anaerobias del ánodo.

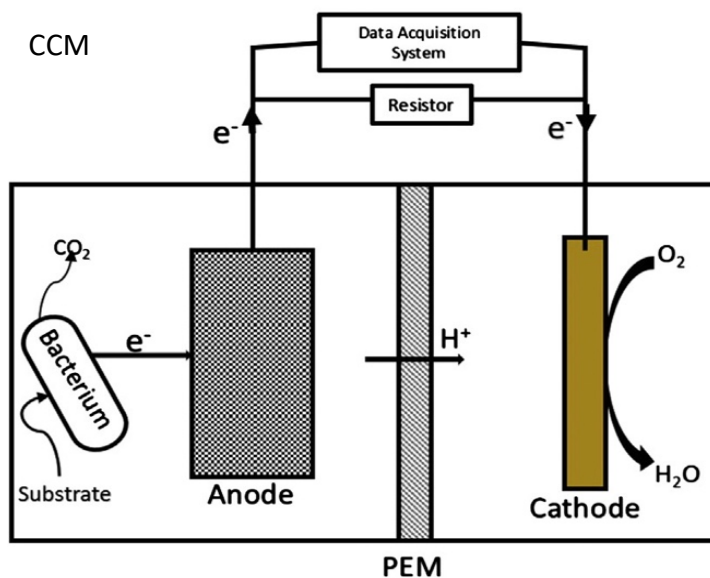


Figura 2.7. Esquema de una CCM convencional de doble cámara.

Liew et al., 2015, utilizaron un diseño de una CCM de doble cámara, utilizando papel carbón como ánodo, MnO_2 depositado sobre nanotubos de carbón como cátodo y lodos anaerobios de aguas residuales municipales como inóculo. Con el fin de aumentar la cinética de reacción de reducción de oxígeno sintetizaron un catalizador de MnO_2 por un método hidrotérmico in situ. En la CCM lograron una densidad de potencia de 520 mW m^{-2} comparada a los nanotubos sin catalizador (275 mW m^{-2}) y un porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno de 86.65%.

Arpita et al., 2015, evaluaron el desempeño en la producción de energía utilizando esta configuración, logrando densidades de potencia de $5028.57 \text{ mW m}^{-2}$ con una densidad de corriente de $3542.86 \text{ mA m}^{-2}$.

2.6.1.1. CCM en forma de H

Otras configuraciones del reactor que se han desarrollado son CCM con doble cámara tipo H, unidas por una MIP entre los extremos de dos tubos, cada uno unido a una botella (ver figura 2.8). Otra forma de unir las botellas es colocar un tubo en forma de U y llenarlo con agar y sal, que también actúa como la MIP es colocar un tubo en forma de U y llenarlo con agar y sal, que también actúa como la MIP. Este tipo de configuración es más utilizada para el estudio de parámetros como; materiales de electrodo, comunidades microbianas y membranas para investigaciones básicas a nivel laboratorio.

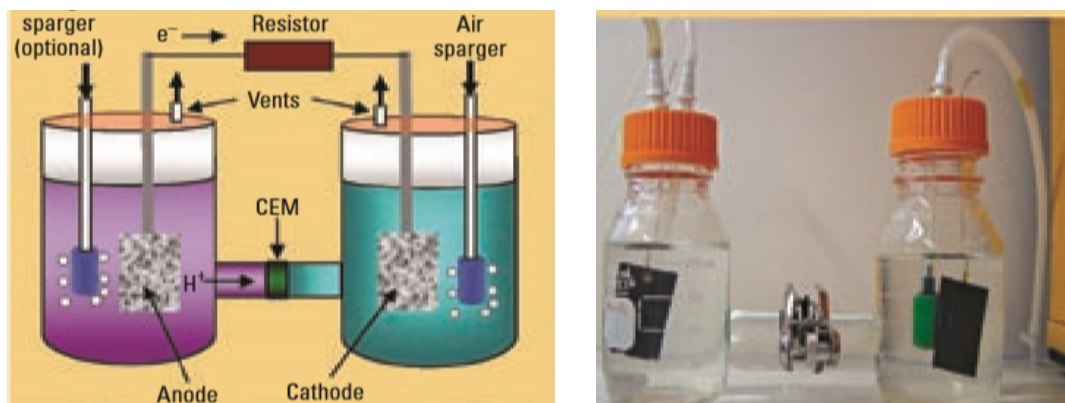


Figura 2.8. Esquema de una CCM de doble cámara tipo H.

2.6.1.2. CCM en forma de cubo

Este tipo de celdas también es conocido como CCM de placas paralelas. Arpita et al., 2015, estudiaron el efecto del uso de diferentes colectores de corriente (Cobre, acero inoxidable y aluminio) y la distancia entre los electrodos sobre el desempeño de una CCM de tipo platos paralelos. Ambos electrodos ánodo y cátodo se depositó una micropelícula de 6 mg m^{-2} (10 % peso) y carbón negro como catalizador. En este tipo de configuración se utiliza una membrana intercambiadora de protones generalmente de Nafión 117.

2.6.2. CCM de una sola cámara

En la CCM no hay cámara anódica ni catódica, no se requiere el uso de diferentes electrolitos para el ánodo ni cátodo, la mayoría de este tipo de diseño utiliza oxígeno como oxidante. En algunas CCM con una sola cámara se utiliza una membrana que esta sujeta por un lado al cátodo, mientras que la otra cara del cátodo esta expuesta al aire libre (ver figura 2.9). el funcionamiento es igual que en la CCM de doble cámara.

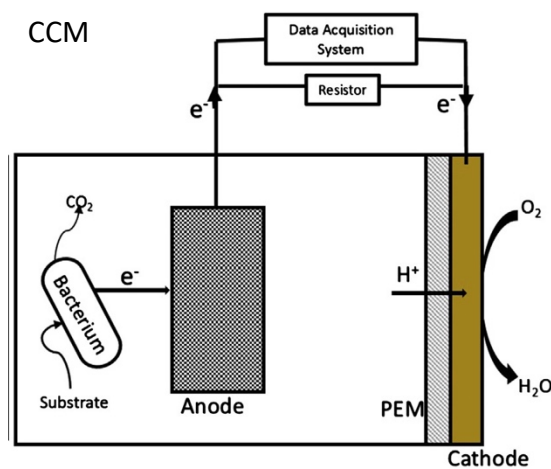


Figura 2.9. Esquema de una CCM con una sola cámara.

En general, las celdas de combustible microbianas se dividen en dos tipos de celdas de combustible; CCM con doble cámara y CCM con una sola

cámara. La diferencia entre estas dos, es la presencia de una membrana intercambiadora de protones o un puente salino que conecte el compartimento anódico con el compartimento catódico, mientras que, la CCM con una sola cámara puede funcionar con o sin membrana, por lo tanto, el ánodo y cátodo están en un solo compartimento (Tamboli et al., 2019).

2.6.2.1. CCM con flujo ascendente

Este tipo de celdas son diseñadas por utilizar sustratos fáciles de degradar tal como las aguas residuales. El uso de ánodos de lecho empacados proporciona grandes áreas de superficie para el crecimiento de la biopelícula (ver figura 2.10 A).

2.6.2.2. CCM con Cátodo-aire

La CCM con cátodo-aire, el cátodo esta expuesto directamente al aire, cuyo oxígeno molecular presente en el aire interactúa con los electrones y protones generados en la celda para formar agua. Por lo tanto, en este diseño no es necesario el uso de un agente oxidante (ver figura 2.10 B).

Kather et al., 2018, utilizaron una CCM con una sola cámara con cátodo expuesto al aire para estudiar la importancia de las vitaminas y minerales para incrementar el crecimiento bacteriano, utilizando ion fosfato (PO_4^{3-}) que es una fuente importante para producir DNA, RNA, ATP y fósforo, además minerales como hierro, cobre, molibdeno que mejoran el crecimiento bacteriano. Con dicho modelo obtuvieron un voltaje de 564 y 791 mV en ausencia y presencia de vitaminas y minerales, con una DP de 108.3 y 24.5 mW m^{-2} , respectivamente.

2.6.2.3. CCM de forma tubular concéntrica

Esta configuración de celda es adecuada para el tratamiento de aguas residuales, debido a su proceso continuo de un solo flujo de corriente y con

tiempos de retención hidráulica para mejorar la eficiencia del tratamiento de aguas residuales.

K. Scott et al., 2007, crearon una CCM sin membrana de forma tubular utilizando estiércol como combustible y materiales de fibra de carbón sin catalizador como ánodo y cátodo. Con este diseño lograron una densidad de potencia de 2.5 mW m^{-2} con una densidad de corriente de 8 mA m^{-2} , la baja energía lo atribuyeron a la composición del sustrato y lodo formado por su composición compleja rica en carbohidratos con nutrientes como Mn, Fe, N, S y P. Pero modificando la celda en forma espiral lograron aumentar la densidad de potencia a 30 mW m^{-2} con una densidad de corriente de 230 mA m^{-2} .



Figura 2.10. A) CCM con flujo ascendente; B) CCM con una sola cámara con cátodo expuesto al aire; y C) CCM de lecho empacado (Logan et al., 2006).

2.6.3. CCM con múltiples cámaras

La CCM con múltiples cámaras tiene muy poco estudio.

2.6.3.1. CCM-CEM

La CCM es una tecnología que se une a otras tecnologías CEM (celda de electrolisis microbiana) para combinar dos o más procesos, esta es una configuración híbrida y ha sido utilizada principalmente para la producción de hidrógeno (ver figura 2.11). En la CEM se aplica un potencial externo generando así, la reducción del ion hidrógeno (H^+) a hidrógeno molecular (H_2)

en la cámara del cátodo. En este caso, el potencial externo es suministrado por la CCM (Tamboli et al., 2019).

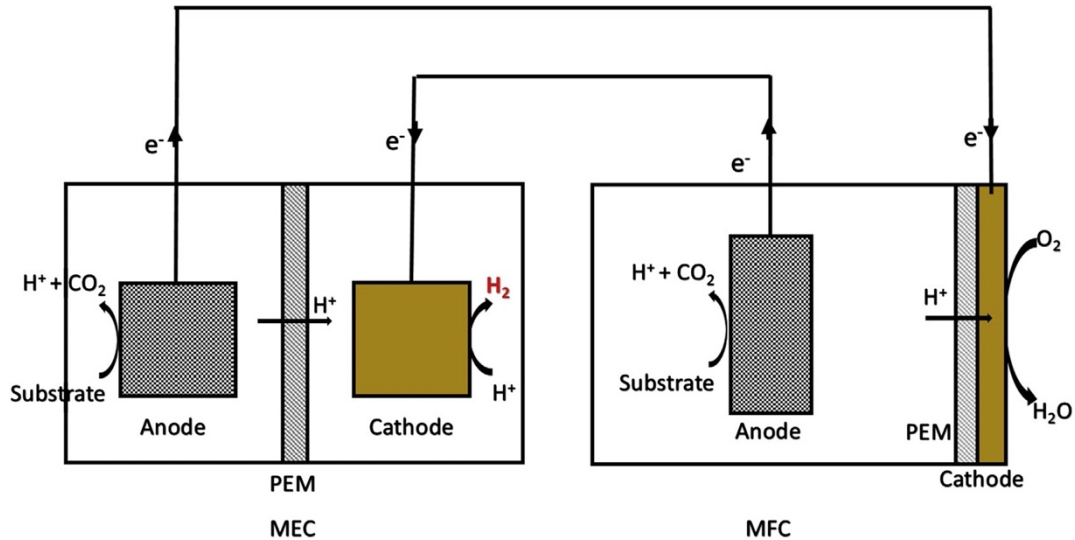


Figura 2.11. Esquema de un sistema híbrido: CCM-CEM para incrementar la producción de H₂.

2.6.4. CCM de sedimentos

La CCM de sedimentos también conocida como CCM tipo béntica, está constituida por sumergir un electrodo (ánodo) en sedimentos marinos ricos en materia orgánica y sulfuros y el otro cátodo encima del sedimento sobre agua (Reimers et al., 2001; Logan et al., 2006). El funcionamiento es igual la CCM convencional, la diferencia es el uso del sedimento de suelos como anolito en lugar de una solución líquida (ver figura 2.12). Algo significativo es que no se requiere de ningún tipo de membrana, pero un separador entre los electrodos si contribuye a reducir la difusión de oxígeno y prevenir un posible corto circuito. He et al., 2007, lograron producir una densidad de potencia de 49 mW m⁻² utilizando una CCM de sedimentos de un río y sacarosa como materia orgánica, colocando en el fondo de una botella de plástico fibra de carbón (100 cm²) como ánodo con una capa de 0.5 cm de sedimentos, mientras que el cátodo rotatorio (86 cm²) de carbón vítreo reticulado (10 ppi) fue colocado en forma horizontal sobre el agua de río a una distancia de 12 cm del ánodo.

Thomas et al., 2013, reportaron valores de 312.5 mW m^{-2} correspondientes a una densidad de corriente de 987.5 mA m^{-2} utilizando una CCM de sedimentos, usando carbón vítreo reticulado como cátodo (sin catalizador) y una capa de gránulos de grafito con un espesor 4 cm como ánodo (distancia entre los electrodos 4 cm) y acetato de sodio como materia orgánica.

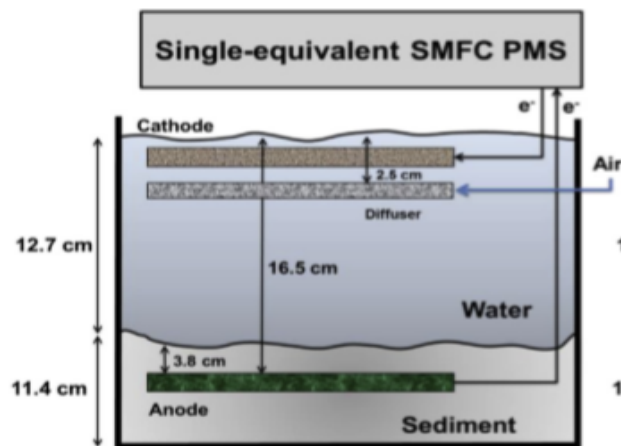


Figura 2.12. Esquema de una CCM de sedimentos.

Recientemente se ha demostrado que las CCMs no presentan un aumento de energía a una mayor escala, sino que su producción es inversamente proporcional al área. T. Ewing et al., 2014, demostraron que una celda de combustible con un ánodo fraccionado es posible aumentar su potencia de salida, y de esta forma poder escalar. En este estudio se trabajó con un ánodo fraccionado en 4 segmentos y otro no fraccionado como celda control.

2.7. Materiales de electrodo

Los materiales de electrodo son muy importantes para mejorar el desempeño de las CCM, disminuyendo las pérdidas por activación, por lo que, su conductividad, área de superficie son un parametro muy importante, junto con sus características de superficie, ya que afectan la interacción con los microorganismos (ánodo), así como la RRO (cátodo) (Dumitru et al., 2016).

Muchas veces en el catolito existe la presencia de sulfuros, por ejemplo, las aguas residuales, que inhiben los procesos metabólicos bacterianos debido a la interacción con proteínas que contienen hierro como los citocromos, provocando que su sistema de transporte de electrones sea bloqueado. Las especies S^{2-} presentan una fuerte e irreversible adsorción contaminando el electrodo, por ello, el ánodo debe ser capaz de oxidar las especies de S^{2-} , de igual forma resistente a la corrosión, debido a que el crecimiento bacteriano sobre la superficie del metal acelera la corrosión del metal, (Slate et al., 2019), por lo que, es importante seleccionar un material que sea resistente a la corrosión, degradación y oxidación, sin que afecte la biocompatibilidad, conductividad, gran área superficial y fuerza mecánica (Shrestha et al., 2019; Jung et al., 2019).

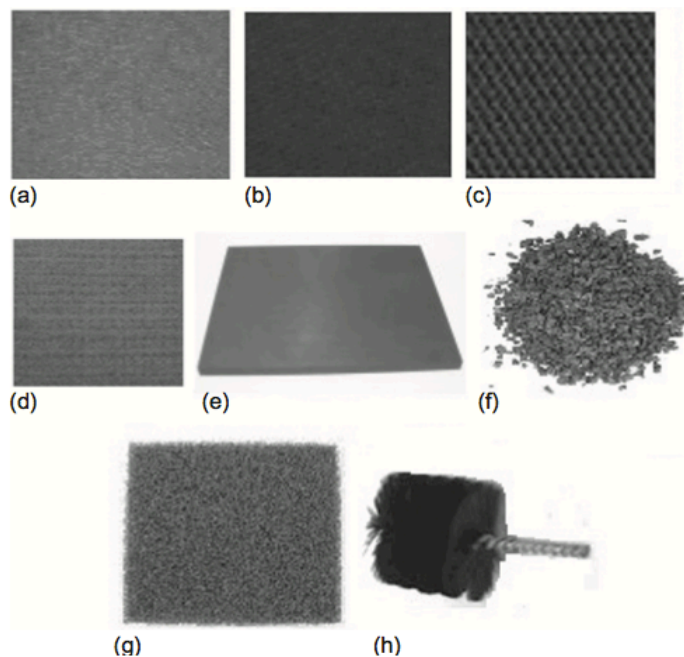


Figura 2.13. Materiales de carbón utilizados en CCM: a) papel carbón; b) fibra de carbón; c) esponja de carbón; d) fieltro de carbón; e) placa de grafito; f) grafito granular; g) carbon vitreo reticulado y h) cepillo de carbón.

Para este desafío varios materiales tradicionales de carbono han sido utilizados para aplicaciones en CCM, tales como: fibra de carbón, carbón Felt, carbón vítreo reticulado (ver figura 2.13), etc.

Los materiales de espuma de carbono, RVC, cepillo de carbón y carbón granular poseen una estructura tridimensional, una baja conductividad, y tamaño de poro pequeño, lo que hace complicado para penetración de las bacterias y el transporte de electrones hacia el electrodo.

La fibra o tela de carbón ha sido el material de carbono más útil debido a su alta conductividad, disponibilidad comercial, bajo costo en comparación al resto de los materiales con base en carbono (Slate et al., 2019).

2.8. Sustratos

El sustrato es el combustible por medio del cual se obtiene la energía de la CCM y que alimenta los microorganismos presentes en la cámara anódica. En la literatura existe una gran variedad de sustratos utilizados en CCM, desde sustratos simples como: glucosa, acetato, sacarosa, almidón, lactato, ácido tereftálico, tintes sintéticos, indol, lactosa, maltosa, xilosa, formiato, propionato, ácido succínico, etanol, etc., hasta MO más compleja presente en diversos tipos de aguas residuales (biorefinería, destilerías, municipales, de industria de leche, del azúcar, papel), siendo de mayor interés los materiales complejos por la obtención de energía a largo plazo y al mismo tiempo la bioremediación antes de su descarga al medio ambiente.

Otra de las ventajas es que no se requiere de una comunidad microbiana pura como es para el caso de sustratos puros (acetato), además, los sustratos complejos son productos de desecho en forma abundante, mientras que, los sustratos puros resultan más costosos por su proceso de obtención (Revelo et al., 2013; Jung et al., 2019).

2.8.1. Hidrocarburos de petróleo

El petróleo es esencialmente una mezcla de hidrocarburos, y componentes de moléculas complejas de carácter predominantemente hidrocarbonado, pero conteniendo pequeñas cantidades de oxígeno, azufre, nitrógeno, vanadio, níquel y cromo. El petróleo está constituido por tres tipos generales: parafinas, naftenos y aromáticos. Las olefinas (fórmula general C_nH_{2n}) se forman durante el proceso de deshidrogenación de parafinas (fórmula general C_nH_{2n+2}) y naftenos. En las parafinas los átomos de carbono se hallan unidos mediante enlaces sencillos y los otros están saturados con átomos de hidrógeno. La parafina más simple es el metano. Por otra parte, los naftenos denominados hidrocarburos cicloparafínicos en donde todos sus átomos de carbono están saturados con hidrógeno. Y finalmente los aromáticos contienen un anillo bencénico el cual no está saturado pero es muy estable comportándose frecuentemente como un compuesto saturado. Algunos compuestos aromáticos simples son benceno y tolueno, e hidrocarburos (HAP) aromáticos policíclicos desde Naftaleno a Pirenos. Se ha demostrado que un número limitado de HAP se biodegrada bajo condiciones anaerobias in situ o utilizando nitrato, hierro, manganeso, sulfato o dióxido de carbono como aceptor terminal de electrones (Foght et al., 2008, Gary et al., 2003).

2.8.1.1. Queroseno

El queroseno es un derivado del petróleo con una concentración de anillos aromáticos entre el 8 y 22 % por volumen, intervalo de ebullición entre 180 – 260 °C.

2.8.1.2. Gasolina

La gasolina es un derivado del petróleo formada por una mezcla de hidrocarburos obtenida durante la refinación del petróleo, que se produce a partir de la formulación y mezclado de varias corrientes obtenidas en diferentes unidades y/o plantas de proceso y el tipo de gasolina final, depende de la

calidad del petróleo crudo que se extrae de los yacimientos. Dependiendo de su octanaje (índice de antidetonación) se forman finalmente dos tipos de gasolina, la gasolina regular (magna) y la gasolina premium. En general, los componentes de una gasolina se pueden clasificar en: parafinas, iso parafinas, aromáticos, nafténicos y olefinas. Las gasolinas comercializadas en las estaciones de servicio están formadas por una mezcla de hidrocarburos integrada por moléculas de entre 4 a 12 átomos de carbono (Rodríguez M. N., 2019).

2.8.2. Chitin Natural y comercial

El chitin es quitina formada por un polisacárido de N-acetil-D glucosamida ($C_8H_{13}NO_5$) y corresponde al segundo material más abundante como subproducto de la industria pesquera, después de la lignocelulosa, además de que es un material muy fácil de degradar por las bacterias marinas. Se ha empleado para la bioremediación in situ del tetracloroetano (Rezaei et al., 2007).

2.9 pH

El *pH* de cada uno de los compartimentos es un parámetro importante en el desempeño de la CCM, en la cámara anódica es primordial conservar un *pH* neutro debido a que son las mejores condiciones para la actividad microbiana. Sin embargo, durante la oxidación del sustrato se produce una acumulación de protones, provocando una disminución en el *pH* capaz de inhibir la actividad microbiana por lo que es común adicionar un buffer de fosfato. En la cámara catódica las condiciones de *pH* pueden variar, por lo que, es necesario el uso de una membrana para evitar el paso de iones no deseados de una cámara a otra, de igual forma se mantienen las condiciones anóxicas en el ánodo y se evita el paso de sustrato entre las cámaras (Samsudeen et al., 2016).

2.10. Aplicaciones de una CCM

Las CCMs producen energía eléctrica a partir de la energía química almacenada en la biomasa con la ayuda de microorganismos. Sin embargo, producen poca energía por debajo de 1 mW cm^{-2} (10 W m^{-2}), por lo tanto, estos dispositivos son útiles para sistemas que requieren poca energía, como:

- a) Se puede almacenar en dispositivos recargables y posteriormente ser utilizada. Se han empleado capacitores para acumular la energía generada en una CCM y ser utilizada en robots llamado Ecobot I para que trabaje de manera pulsada. El robot EcoBot II se autoalimenta con una CCM para realizar movimientos, la detección, la informática y la comunicación (Du et al., 2007).
- b) Sistemas de telemetría y sensores inalámbricos químicos, de temperatura integrados a un sistema de control de energía adecuado, pequeños sistemas de comunicación, boyas meteorológicas (Du et al., 2007; Lu et al., 2013).
- c) Producción de hidrógeno, aplicando un potencial externo sobre el cátodo e incrementar su potencial, para que los protones y electrones producidos en el ánodo se combinen en el cátodo para formar hidrógeno.
- d) Tratamiento de aguas residuales: las aguas residuales poseen una gran cantidad de materia orgánica, reduciendo a la mitad la energía necesaria en otros procesos de tratamiento convencional que demandan más energía como aireación en los lodos activados.
- e) Sistemas de bioremediación para el control de contaminantes,
- f) Desalinización para producción de agua dulce (Lu et al., 2013)

METODOLOGÍA

3.1. Obtención de la materia orgánica

Se utilizaron sedimentos contaminados con petróleo como materia orgánica y fuente natural de bacterias. Los sedimentos (20 L, pH 6,7) se obtuvieron de la laguna de Coatzacoalcos, Veracruz, México, localizada a 594 km al sureste de la Ciudad de México. Los sedimentos se mantuvieron bajo refrigeración hasta su previo uso.



Figura 3.1. Sitio de obtención de la MO

3.1.1. Composición de la materia orgánica

La composición de los sedimentos contaminados con petróleo obtenidos del río de Coatzacoalcos se muestra en la siguiente tabla:

Muestra	TPH (ppm)	U (ppm)	Pb (ppm)	Ti (ppm)	Hg (ppm)	Cr (ppm)	Mn (ppm)
Sedimentos contaminados con petróleo	500.21	0.8	9.3	0.27	120	40.8	300

Tabla 1. Composición de los sedimentos contaminados con petróleo. Análisis realizado en el Instituto de Biotecnología-UNAM.

3.2. Limpieza y arreglo de los electrodos de trabajo

Se utilizó fibra de carbón (Carbon Fabric, Fibre Glast Development Corp) como ánodo y cátodo ($d=10$ cm), el ánodo se fraccionó en 4 secciones (ver figura 3.2). Para la limpieza de los electrodos se sumergieron en 200 ml de acetona para eliminar impurezas de fábrica y polvo. Posteriormente, se lavaron con abundante agua destilada y finalmente se secaron a temperatura ambiente, para su posterior uso. Se utilizó acero inoxidable como conexión externa (terminal de electrones) y se aisló con termofit.

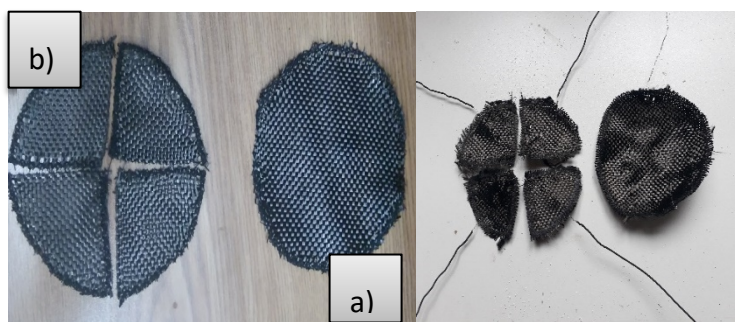


Figura 3.2. Electrodo de trabajo. a) Ánodo; b) Cátodo.

3.3. Síntesis del catalizador catódico MnO₂

Para aumentar la cinética de la reacción de reducción de oxígeno (RRO) se sintetizó un catalizador de MnO₂ por medio de una reacción redox directa, basándonos en trabajos anteriores (S. B. Ma et al., 2007). Se utilizó un electrodo de fibra de carbón (comprada en Carbon Fabric 2583 C) como material de soporte (diámetro 0.1 m). Antes de llevar a cabo la reacción, el material de electrodo para eliminar las impurezas, se sumergió en 50 ml de acetona ((CH₃)₂CO, Alit) durante 30 minutos, posteriormente se lavó con abundante agua destilada. La síntesis del catalizador catódico de MnO₂ se realizó sumergiendo el electrodo en una solución 200 ml de permanganato de potasio (KMnO₄, J. T. Baker TM 99.5 %) 0.1 M con la adición de 2 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄, Meyer TM 95.0-98.0 %) para mantener un pH 2 (el pH fue medido con un pH-metro 11 OAKTON, EUTECH INSTRUMENTS, número serial 215187), ver figura 3.3. La reacción se mantuvo a 70 °C durante 16 horas sin agitación magnética, durante ese tiempo espontáneamente se depositaron las nanopartículas de MnO₂ en la fase birnessita. Posteriormente, se retiró el electrodo de la solución, se dejó en reposo 30 min a temperatura ambiente y finalmente, se le dio tratamiento térmico a 300 °C durante dos horas en una mufla.

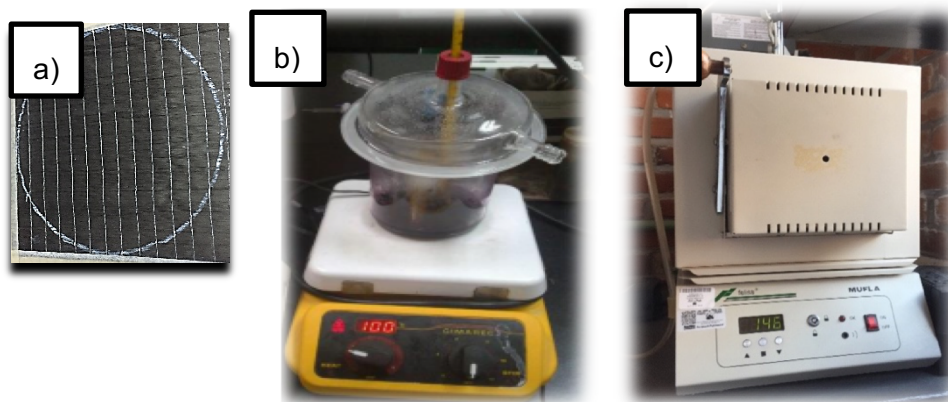


Figura 3.3 Síntesis del catalizador catódico MnO₂. a) Fibra de carbón como material de soporte; b) Proceso de síntesis; c) Tratamiento térmico a 300 °C.

3.4. Preparación de sulfato de sodio

El catolito que se empleó en las celdas fue sulfato de sodio (Na_2SO_4). Se preparó 1 L de Na_2SO_4 0.8 M, con la finalidad de realizar las pruebas a 4 distintas concentraciones de Na_2SO_4 (0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M), posteriormente se adicionó el Na_2SO_4 (3) a las celdas de acuerdo a la siguiente tabla, donde también se muestra la cantidad de g en cada concentración para un volumen de trabajo de 236 ml.

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	
Vol. que se retira del catolito	g perdidos de Na_2SO_4 al retirar el vol. (1)	ml 0.8 M Na_2SO_4 agregado	g agregados de Na_2SO_4 en el vol. (3)	g totales de Na_2SO_4 en 236 ml (5)-(2)+(4)	g L^{-2} Na_2SO_4	M de Na_2SO_4
15	0	15	1.7	1.7	7.32	0.051
50	0.355	50	5.68	1.7- 0.355+5.6 8=7.02	29.7	0.209
110	3.265	110	12.5	7.02- 3.265+12. 5=16.3	68.9	0.498
236	16.3	236	26.8	26.8	113.6	0.800

Tabla 2. Concentración molar de Na_2SO_4 adicionado al catolito.

3.5. Construcción de las CCMs

En este estudio se construyeron 11 CCMs de sedimentos, los materiales fueron: fibra de carbono como ánodo y cátodo ($d=0.1$ m), área de superficie proyectada de 7.856×10^{-3} m^2 , el diseño de la celda fue en forma cilíndrica ($d=0.105$ m y $h=0.160$ m) con PVC (policloruro de vinilo); se agregó una base de 4 cm de sedimento, posteriormente, se colocó el ánodo no fraccionado, después se adicionó otra capa de sedimento de 4 cm (anolito, 6.93×10^{-4} m^3), y finalmente se adicionó 2.36×10^{-4} m^3 de agua del grifo (catolito) y se sumergió el cátodo. Con el fin de promover la estabilidad en la

recuperación de energía y minimizar los problemas de bioturbación múltiples ánodos (4 segmentos formando un círculo) fueron utilizados en las CCMs a excepción de la celda control que fue una sola pieza circular (Karra et al., 2013; Liu et al., 2015). Cada segmento del ánodo fue conectado individualmente con alambre de acero inoxidable a una carga (resistencia eléctrica) y el cátodo para cerrar el circuito eléctrico, esta primera configuración fue denominada CCM-control (figura 3.4 a). Posteriormente, se construyeron 10 celdas fraccionando el ánodo en 4 secciones (ver figura 3.4 b) para ser operadas simultáneamente, realizando varias modificaciones, como se describe a continuación:

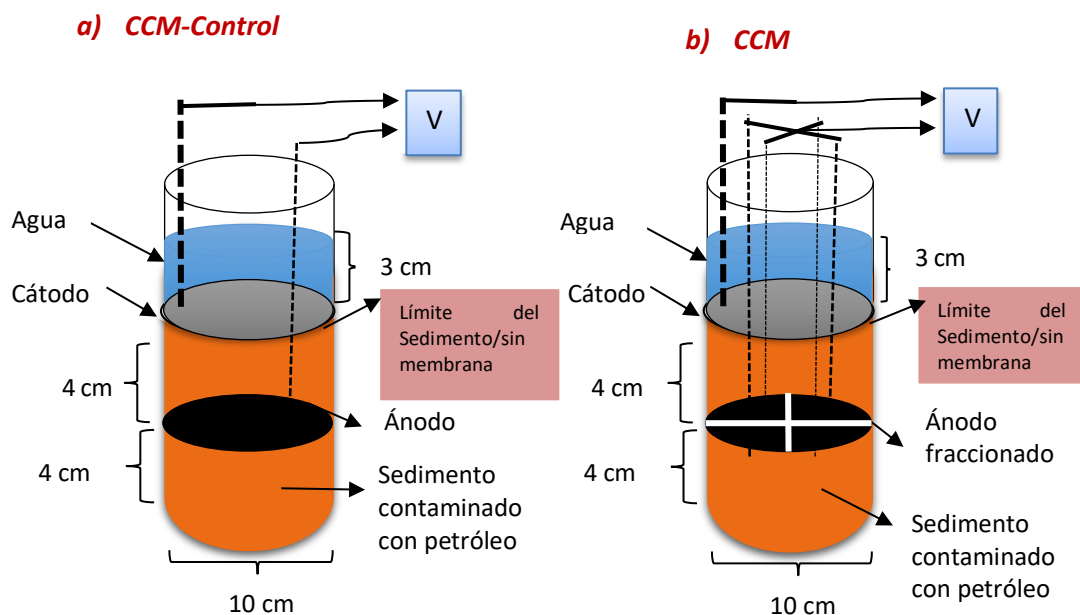


Figura 3.4. Esquema de configuración experimental utilizada en este trabajo, CCM con una sola cámara, sedimentos contaminados con petróleo como MO, fibra de carbón como cátodo y ánodo (d= 10 cm). A) ánodo no fraccionado CCM-control; B) ánodo fraccionado en 4 secciones.

En todas las celdas se utilizó lodos contaminados con petróleo como anolito, posteriormente, para evaluar el desempeño en el aumento de la potencia de la celda se utilizó dos tipos de derivados del petróleo como MO; queroseno y gasolina, a tres distintas concentraciones; 3, 9 y 15 g, clasificando

a las celdas como: CCM-3gQ, 9gQ, 15gQ, 3gG, 9gG y 15gG, respectivamente. La MO se adicionó en el momento de la construcción de las celdas.

Por otra parte, se utilizó dos tipos de MO más fáciles de degradar; chitin natural y comercial (Sigma). El chitin natural se obtuvo de residuos de cáscara de camarón fresco, se retiró la cáscara, se secaron al sol y se trituraron hasta formar un polvo de quitina. Las concentraciones que se adicionaron fueron 3 y 8 g de chitin natural y comercial, las celdas fueron denominadas como; CCM-3g CN, 8g CN, 3g CC y 8g CC, respectivamente, esto con el fin de evaluar la facilidad de las bacterias en la eliminación de esta materia y el efecto en la producción de energía con respecto a cuándo se utiliza una materia más compleja (queroseno y gasolina). En la celda control se utilizó solo sedimento contaminado con petróleo. La evaporación del catolito fue compensado con la adición de agua del grifo. Todas las celdas se construyeron si membrana intercambiadora de protones.

En todas las CCMs se evaluó como es afectada la generación de energía en función a la concentración del catolito; sin y 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M de sulfato de sodio, la variación del *pH*; 2, 4, 6 y 8 (*pH* inicial) modificado con ácido sulfúrico y simultáneamente uso de un catalizador catódico de MnO_2 , así como la cantidad y tipo de MO.

3.5.1. Instalación y conexión de las CCMs

Se montaron 11 CCMs en total, todas fueron conectas a un sistema de adquisición de datos (Arduino uno, LabVIEW), ver figura 3.5. Las celdas se mantuvieron a potencial a circuito abierto (V_{ca}) con una resistencia externa de 47 k Ω . los datos de voltaje fueron registrados diariamente hasta alcanzar un V_{ca} máximo estable (tiempo de formación de la biopelícula y aclimatación de las bacterias sobre la superficie del ánodo).

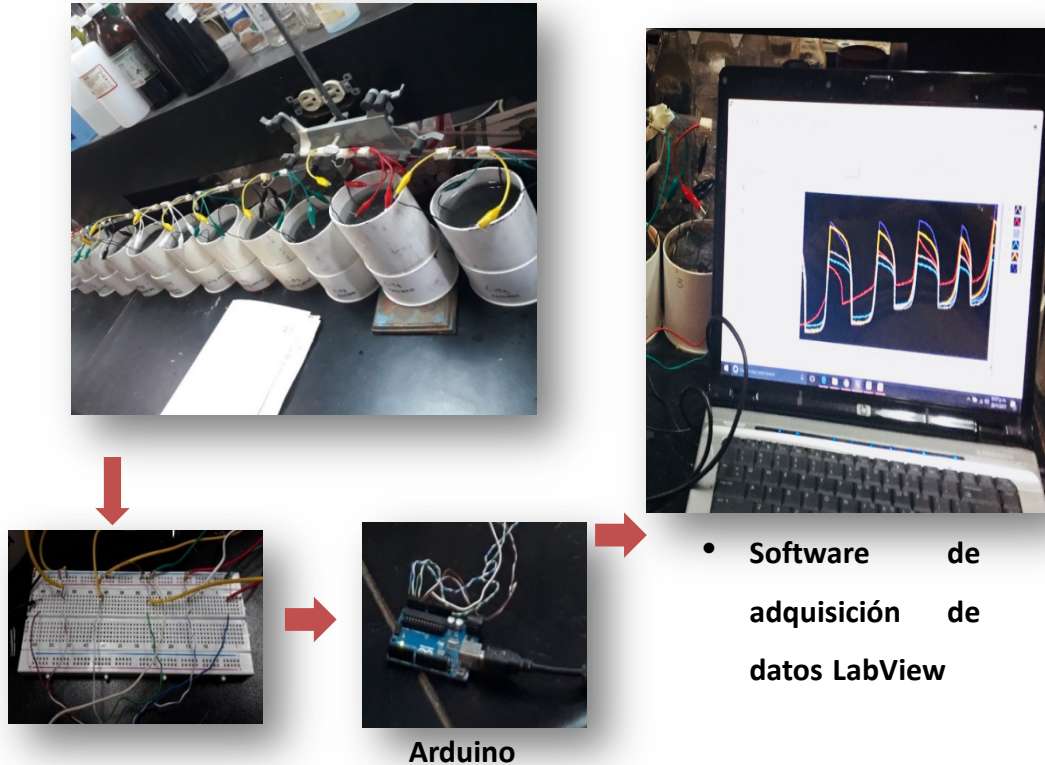


Figura 3.5. Instalación de CCMs conectadas a un sistema de adquisición de datos (Arduino Uno, software LabVIEW).

3.5.2. Diagrama de bloques de conexión de celdas

Una vez que las celdas de combustible se construyeron, se interconectaron para formar el diagrama de bloques (figura 3.6) de un programa en el que se generó la medición de una señal (voltaje de salida) en tiempo real de un arreglo de 6 CCMs representado con los números 0-5, cada uno conectado a un voltímetro A, B, C, D, E, F, respectivamente, registrando los datos cada 20 s en una gráfica en una computadora.

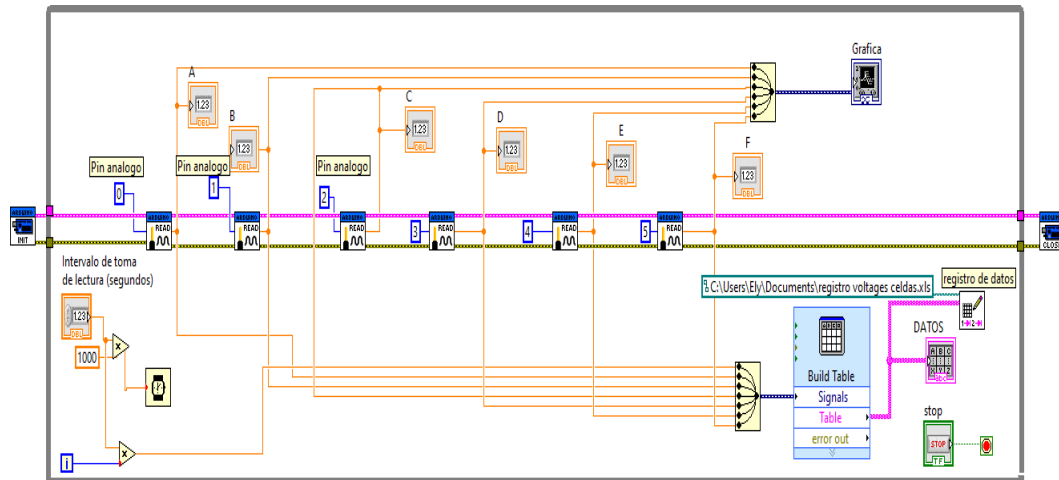


Figura 3.6. Circuito de conexión de celdas al software LabView.

3.6. Cálculos

3.6.1. Voltaje

Los datos del voltaje se obtuvieron variando una resistencia externa (47 a 0.180 kΩ) unida a las terminales del cátodo y ánodo.

3.6.2. Densidad de corriente

La densidad de corriente (J) se calculó con la ley de Ohm;

$$V = IR$$

$$DC = \frac{I}{A}$$

Donde, V, es el voltaje, I, es flujo de corriente, R, es la resistencia externa y A, área del cátodo (m²).

3.6.2. Densidad de potencia

El producto del voltaje de la celda y la densidad de corriente (DC) dividida entre el área de trabajo, da como resultado la densidad de potencia, DP, (capacidad de un sistema para suministrar energía en relación al tamaño y costo de la celda; W m⁻² o mW m⁻²).

$$DP = \frac{IV}{A}$$

La densidad de corriente y densidad de potencia fueron calculadas con respecto al área proyectada del cátodo (78.54 cm²).

3.6.3. Curvas de polarización

Las curvas de polarización se obtuvieron graficando la densidad de corriente con respecto al voltaje registrado variando la resistencia externa (38 a 0.180 kΩ). Curvas J vs V.

3.6.4. Curvas de densidad de potencia

Las curvas de densidad de potencia se obtuvieron graficando la curva J vs DP a partir de la curva de polarización experimental. La DP incrementa con respecto al aumento de la densidad de corriente hasta alcanzar un máximo a una cierta densidad de corriente, este punto máximo se conoce como densidad de potencia pico (DPP) de la celda.

3.7. Voltametría de barrido lineal

En este estudio para evaluar la RRO se realizó una Voltametría de barrido lineal utilizando un sistema de tres electrodos; se utilizaron varios electrodos de trabajo (ET); FC, MnO₂/FC y el catalizador comercial de Pt/C, el contra electrodo (CE) fue el ánodo segmentado en 4 partes (FC, d= 0.1 m) depositado 4 cm por debajo del sedimento, y el electrodo de referencia (ER) fue un electrodo de Calomel Saturado, SCE (Metrhom) (ver figura 3.7). La voltametría de barrido lineal se realizó en una ventana de potencial de 0.5-0.5 V, a una velocidad de barrido de 5 mVs⁻¹. Se utilizó una solución 0.8 M de Na₂SO₄ como catolito y se ajustó a pH 2 con ácido sulfúrico. El voltamograma se obtuvo de la configuración de la CCM 8g CN. El potencióstato que se utilizó fue un potencióstato/galvanostato marca Epsilon, modelo E2, Bioanalytical Systems Inc. 2701 Kent Ave.

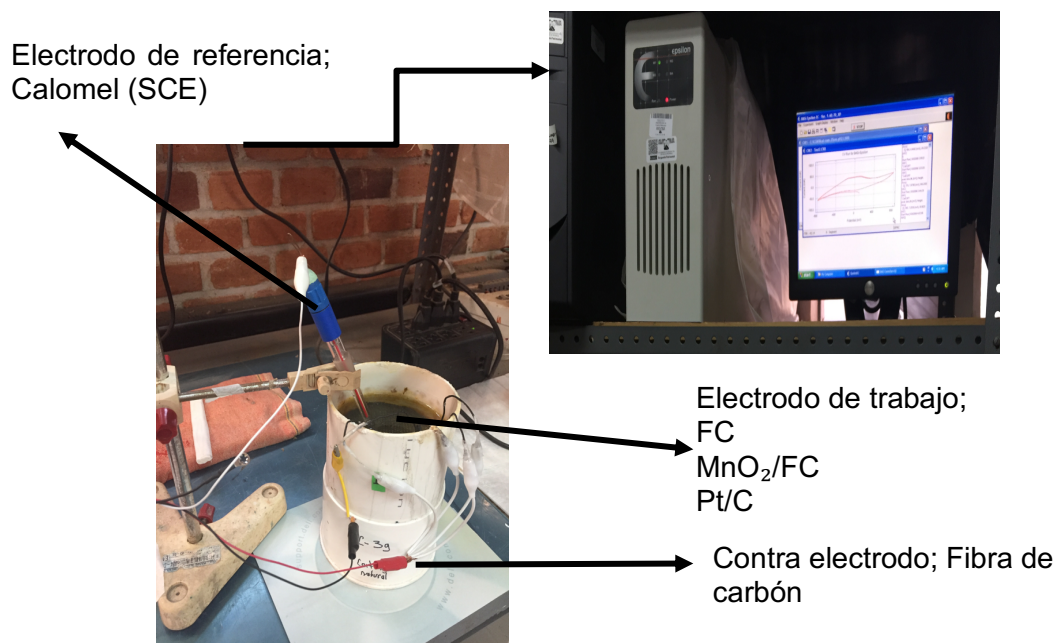


Figura 3.7. Pruebas de Voltametría. Celda de tres electrodos; ET: MnO₂/FC, CE: FC, ER: SCE. Conexión de la CCM al potenciostato.

3.8. Análisis de la comunidad microbiana

Una vez que se realizaron todas las caracterizaciones electroquímicas a las CCMs, se realizó la extracción de DNA de los sedimentos contaminados con petróleo y posterior purificación para la obtención de un fragmento del gen 16S rRNA para la taxonomía microbiana.

3.8.1. Extracción del DNA total

Se extrajo 0.52 gramos de sedimento de las bioceldas (CCM 3g Queroseno, 8g Chitin natural y 8g chitin comercial) y sedimento de la superficie del electrodo (ánodo) para su extracción del DNA, utilizando el kit PowerSoil® (MO BIO Laboratories, Inc.). Para cuantificar la cantidad de DNA extraído del sedimento se utilizó el espectrofotómetro Nanodrop 2000c (Thermo Scientific).

Se preparó un gel para la electroforesis y poder observar los fragmentos de DNA y los productos de PCR. Para preparar el gel se adicionó 35 ml de

agarosa (1g agarosa y 100 ml TBE 1X), posteriormente 2 ml de bromuro de etidio como colorante, y GeneRuler™ (Thermo Scientific) como marcador de peso molecular, se agitó y vació sobre una caja. Una vez que se preparó el gel se adicionó Buffer TBE 1X para llevar a cabo la electroforesis (120 V/40 min). Las imágenes del gel se realizaron con el fotodocumentador GelDoc™ EZ Image (Bio Rad).

3.8.2. Amplificación y secuenciación de gen 16S rRNA para bacterias en la superficie del electrodo

Para amplificar el gen 16S rRNA se realizó por PCR (Polimerase Chain Reaction) utilizando los oligonucleótidos 16S_Amplicon_F y _R, con la ayuda de un termociclador T100™ Thermal Cycler. El ADN extraído se sometió a una amplificación basada en el gen 16S rRNA utilizando la plataforma de secuenciación MiSeq Illumina (Illumina Inc., CA, EE. UU) dirigida en la región V3-V4 del gen 16S rRNA. En la tabla 3 se muestran los reactivos utilizados para la reacción. Se analizaron 3 muestras; CCM 8g CC, CCM 8g CN y CCM 3g Q (la muestra fue obtenida del raspado en la superficie del electrodo) con código de muestra E1 (dilución 1:10), E2, E3, respectivamente. Los reactivos se adicionaron en el orden que se muestra en la tabla.

Código	DNA	Master Mix	Oligo F	Oligo R	Agua	V _{total} (µl)
E1	3	8	0.5	0.5	8	20
E2	1	8	0.5	0.5	10	20
E3	1	8	0.5	0.5	10	20
Negativo	-----	8	0.5	0.5	11	20

Tabla 3. Reactivos utilizados para PCR de bacterias en la biopelícula.

En la tabla 4 se muestran las condiciones de operación del termociclador. Después de la purificación de las muestras se secuenciaron en la Unidad de Secuenciación Masiva del Instituto de Biotecnología de la UNAM.

Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
98	3 min	1
98	20 s	5
60	30 s	
72	30 s	
98	20 s	25
65	30 s	
72	30 s	
72	5 min	
4	∞	

Tabla 4. Condiciones de operación del termociclador para PCR de bacterias.

3.8.3 Amplificación de gen 16S rRNA para bacterias en el sedimento

En la tabla 5 se muestran las condiciones para el análisis de amplificación del gen 16S rRNA de las bacterias en el sedimento de las CCMs; 8 g CC, 8g CN y 3 g Q, con código de muestra: S1, S2, S3, respectivamente. El volumen total fue 25 µl.

Código	Agua	Buffer	MgCl ₂	dNTP's	Oligo F	Oligo R	Polimerasa	DN A
S1	17.0 5	2.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.2	3
S2	17.0 5	2.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.2	3
S3	17.0 5	2.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.2	3
N	20.0 5	2.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.2	-----

Tabla 5. Reactivos utilizados para PCR para bacterias en sedimentos.

Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
94	3 min	30
94	30 s	
60	20 s	
72	20 s	
72	5 min	
4	∞	

Tabla 6. Condiciones de operación del termociclador para PCR de bacterias en sedimentos.

3.9. Análisis de Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La caracterización físico-química de los electrodos FC, MnO₂/FC y Pt/C se realizó mediante microscopia electrónica de barrido y análisis de energía dispersiva de rayos X (análisis químico elemental). Las muestras (0.5 x 0.5 cm) fueron colocadas en un porta muestras como se ve en la figura 3.7 después se colocaron en el equipo (Scanning Electron Microscope SU5000, HITACHI).

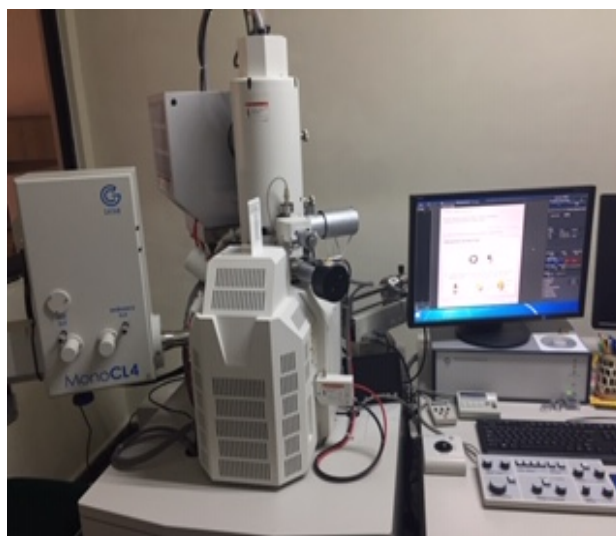


Figura 3.8. Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) Hitachi, SU5000.

3.10 Análisis de difracción de rayos X (DRX)

Se realizó el análisis de DRX del material de MnO_2 depositado sobre la fibra de carbono, el análisis se realizó a tres distintas intensidades para obtener una mayor y profunda información del material sintetizado en este estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tiempo de aclimatación de las bacterias

La CCM de sedimentos con una sola cámara, en forma de cilindro, una vez instalada y cargada con lodos de sedimento contaminado con petróleo (de la laguna de Coatzacoalcos) y aditivos; queroseno, gasolina, chitin natural y comercial como anolito, respectivamente y agua como catolito, como se describió en la sección 3.5, se dejaron por varios días a V_{ca} para permitir el crecimiento bacteriano anódico, con una resistencia máxima de 47 k Ω . El voltaje máximo estable alcanzado en las CCMs fue entre 0.65-0.73 V, lo que posiblemente indica que el ánodo había sido colonizado por una comunidad bacteriana estable. En la figura 4.1, se muestra el tiempo de colonización bacteriana, alcanzado aproximadamente en 60 días en las distintas configuraciones de las celdas (solo se muestran las celdas que generaron mejor desempeño electroquímico). Independientemente de la materia orgánica el crecimiento bacteriano se desarrollo en el mismo lapso de tiempo. Sin embargo, para la CCM con 9 g de gasolina durante los primeros diez días el voltaje generado fue menor en comparación a las otras celdas, posiblemente la adaptación de las bacterias en ese medio es más lenta. Mientras que, la

CCM-control sin aditivo derivado de hidrocarburos de petróleo alcanzó su máximo voltaje a los 35 días.

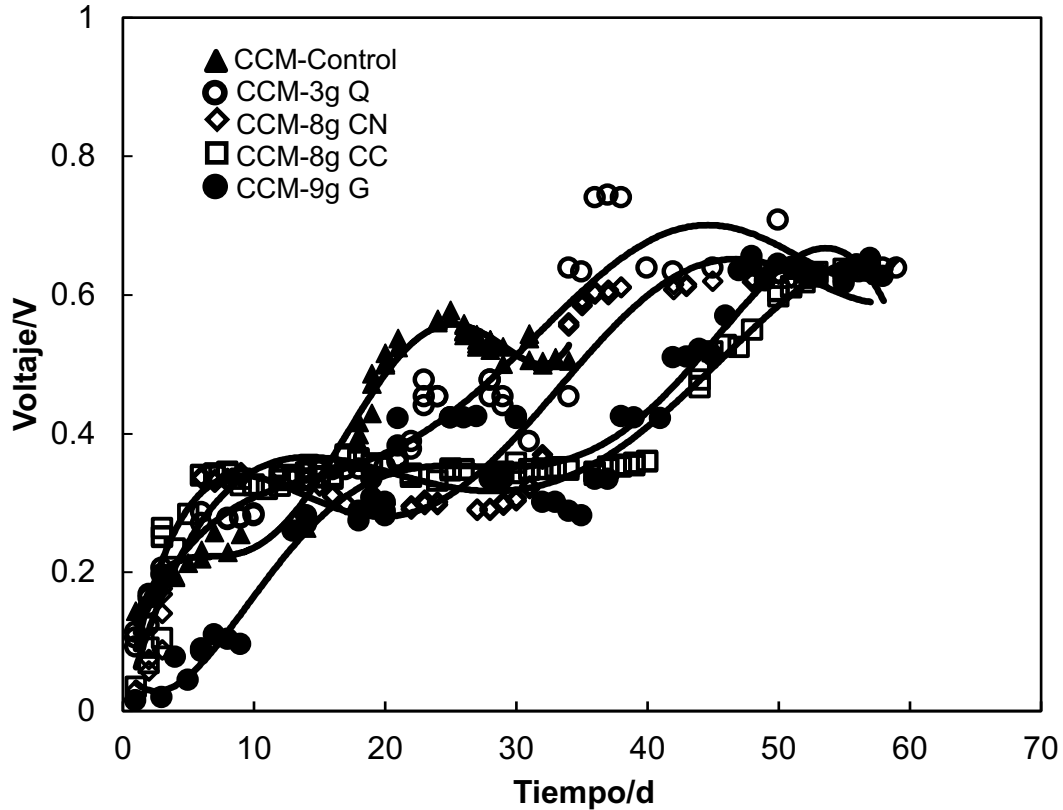


Figura 4.1. Curva de crecimiento exponencial de las bacterias sobre el ánodo.

4.2. Caracterización electroquímica

Una vez que se generó un voltaje estable en las celdas se inició la caracterización electroquímica para graficar las curvas de polarización y densidad de potencia. Se evaluó el efecto de la concentración del catolito (0.05, 0.2, 0.5, 0.8 M de Na_2SO_4), *pH* del catolito (8, 6, 4, 2), diferente materia orgánica (queroseno, gasolina, chitin natural y comercial), carga (3, 9, 15 g) y catalizador catódico (MnO_2) en comparación a un catalizador comercial Pt/C.

4.2.1. Evaluación de la concentración del catolito

En la figura 4.2.A, se muestran las curvas de polarización obtenidas de la configuración CCM 8g CN (sedimentos contaminados con petróleo + 8 g de

chitin natural), operando bajo condiciones reales a temperatura ambiente, y sus respectivas densidades de potencia (figura 4.2.B) evaluando el efecto de 4 distintas concentraciones del catolito; 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M de Na_2SO_4 . Todas las celdas se evaluaron con catalizador catódico MnO_2 . En la celda control no se utilizó catalizador ni sulfato de sodio. En la gráfica se observó que el aumento de energía de salida es directamente proporcional al aumento de la concentración del catolito.

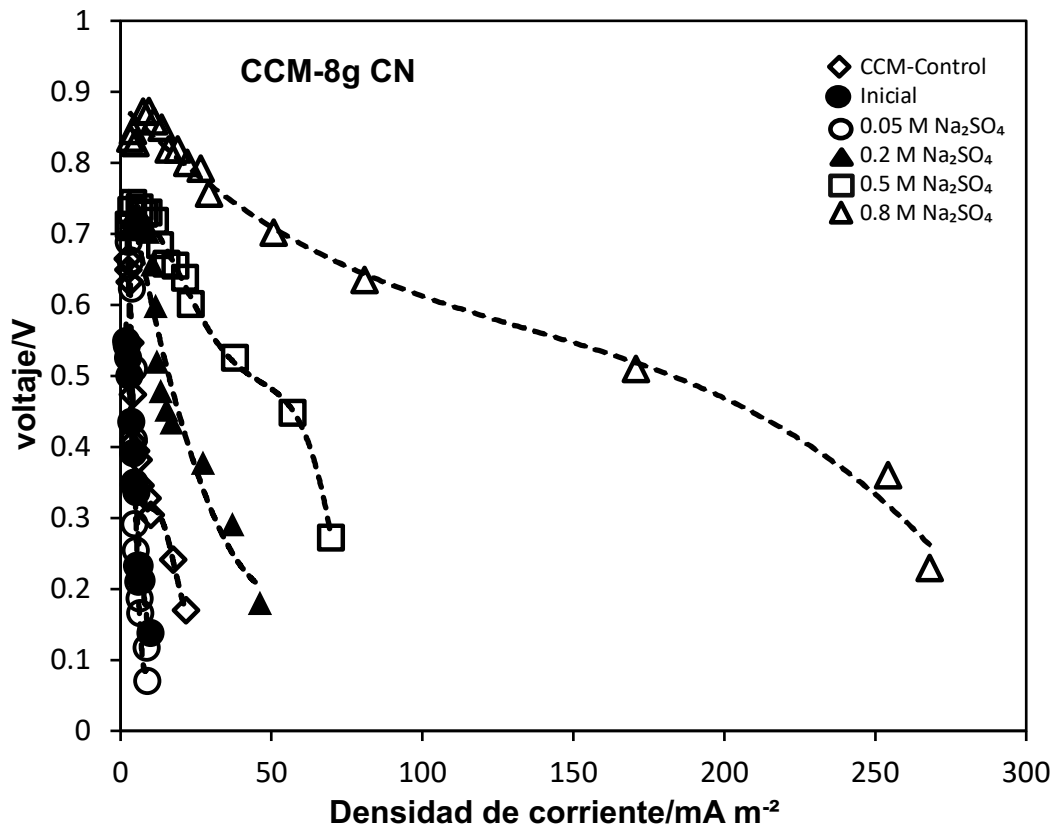


Figura 4.2. A. Curva de polarización de la CCM 8g CN. Efecto de la concentración del catolito. \diamond CCM-Control; \bullet Inicial (SSS:SCC); \circ 0.05 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \blacktriangle 0.2 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \square 0.5 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \triangle 0.8 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2).

En la primera región (pérdidas de potencial de activación) de las curvas de polarización hay pérdida de voltaje por las reacciones de inicio oxidoreducción; energía que la bacteria necesita para oxidar la materia orgánica y

la transferencia de electrones de la terminal de la célula (proteína/enzima) a la superficie del electrodo (Arpita et al., 2015).

La segunda región es muy importante, ya que es aquí donde principalmente se trabaja la celda. Aquí se llevan a cabo las mayores pérdidas óhmicas (pérdidas eléctricas, iónicas y de contacto). Estas disminuyen aumentando la conductividad iónica, por lo que se observa que es casi lineal a una mayor concentración de Na_2SO_4 0.8 M (curva Δ), mientras que, a menores concentraciones de 0.05 M la caída de voltaje es más prominente (curva \diamond ; \bullet ; \circ , para la celda control, sin Na_2SO_4 y 0.05 M de Na_2SO_4 , respectivamente). Las siglas SSS significa sin sulfato de sodio, CC, catalizador catódico y SCC, sin catalizador catódico.

La resistencia interna se ve favorecida con el aumento de la conductividad (ver figura 4.2.B) disminuyendo con valores de 7971.4, 942.21, 668.13, 215.72 y 1436 Ω para una concentración del catolito de 0.05, 0.2, 0.5, 0.8 M de Na_2SO_4 y CCM-control, respectivamente.

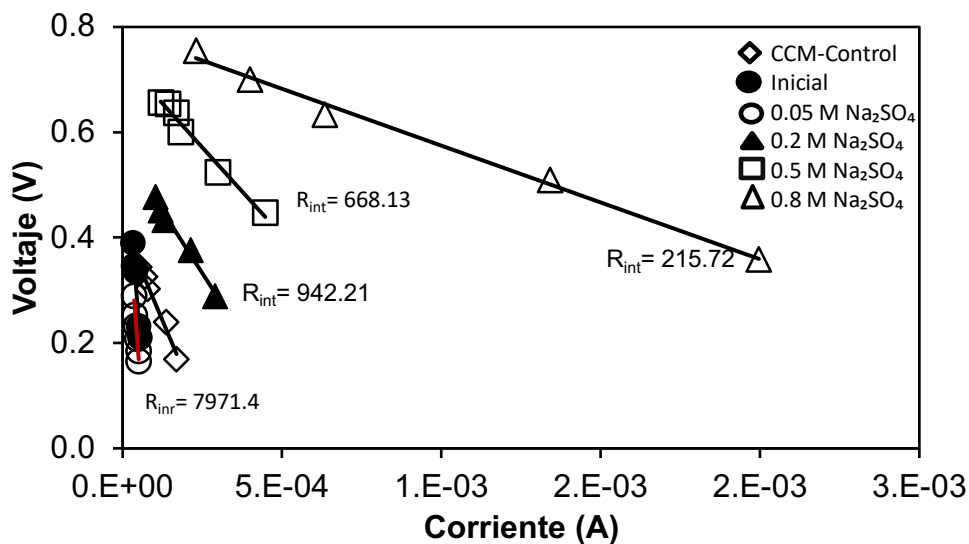


Figura 4.2.B. Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CN en función de la concentración del catolito.

En la figura 4.2.C, se muestran las máximas densidades de potencia producidas en la biocelda, correspondientes a las curvas de polarización.

Claramente, se observa que conforme aumenta la concentración del catolito, la densidad de potencia aumenta, a mayores concentraciones 0.8 M de Na_2SO_4 (Δ), mayor es la energía extraída de las celdas con 91.35 mW m^{-2} y una densidad de corriente de 254.20 mA m^{-2} , mientras que , para una menor concentración; sin Na_2SO_4 (CCM-Control) y 0.05 M de Na_2SO_4 , la DP es 4.18 y 2.24 mW m^{-2} , respectivamente (\diamond ; \circ).

Fuentes et al., 2011, estudiaron una CCM tipo de platos paralelos utilizando lodos anaeróbicos de una industria azucarera como MO (anolito) acondicionada con acetato 0.003 M y solución buffer, como catolito utilizaron agua del grifo y una concentración de 0.8 M de Na_2SO_4 a pH 2 y O_2 como oxidante, lograron generar una DP de 74.5 mW m^{-2} y una J de 187 mA m^{-2} .

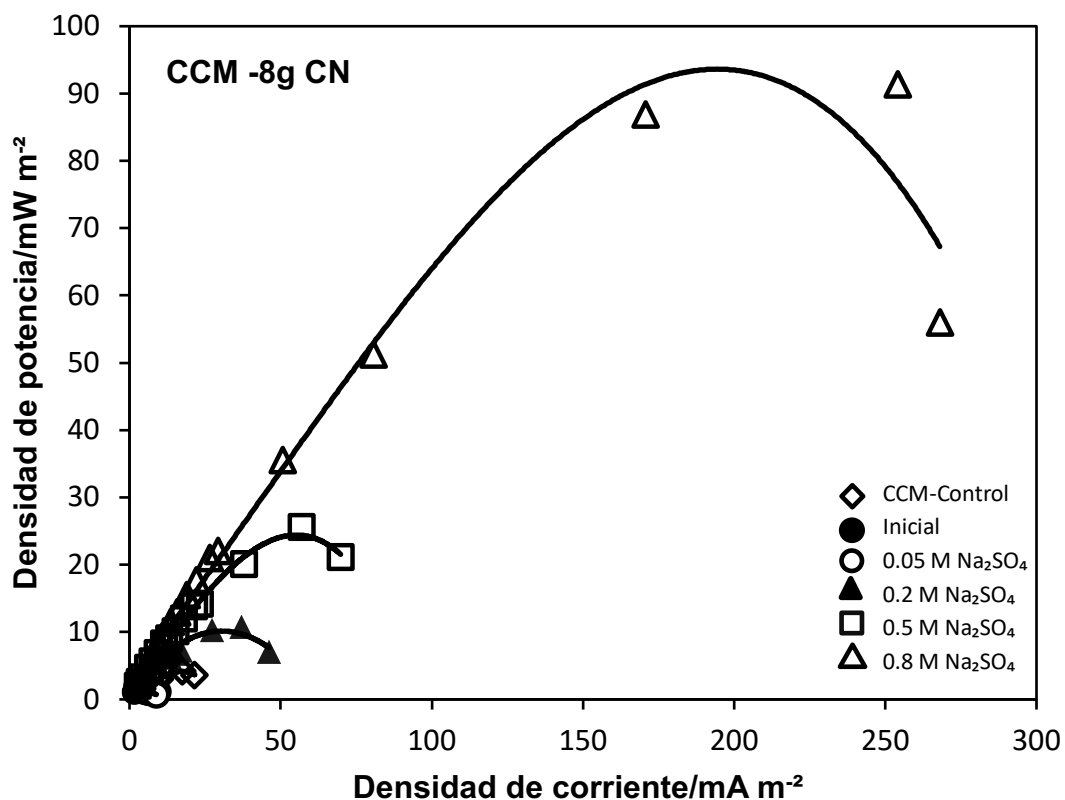


Figura 4.2.C. Curva de densidad de potencia de la CCM 8g CN. Efecto de la concentración del catolito: \diamond CCM-Control; \bullet Inicial (SSS:SCC); \circ 0.05 M Na_2SO_4 (CC-MnO₂); \blacktriangle 0.2 M Na_2SO_4 (CC-MnO₂); \square 0.5 M Na_2SO_4 (CC-MnO₂); \triangle 0.8 M Na_2SO_4 (CC-MnO₂).

En la figura 4.3.A, se muestra la celda alimentada con 3g de queroseno como MO. Igual que la CCM 8g CN, se presenta el mismo comportamiento, hay menores pérdidas de voltaje con el aumento de la conductividad del catolito independientemente de la MO utilizada. Además, el uso del catalizador MnO_2 , produce un efecto sinérgico mejorando el desempeño total de la celda. Así mismo, la resistencia interna del sistema disminuye, por lo que la caída de voltaje observada es menor (curva \blacklozenge).

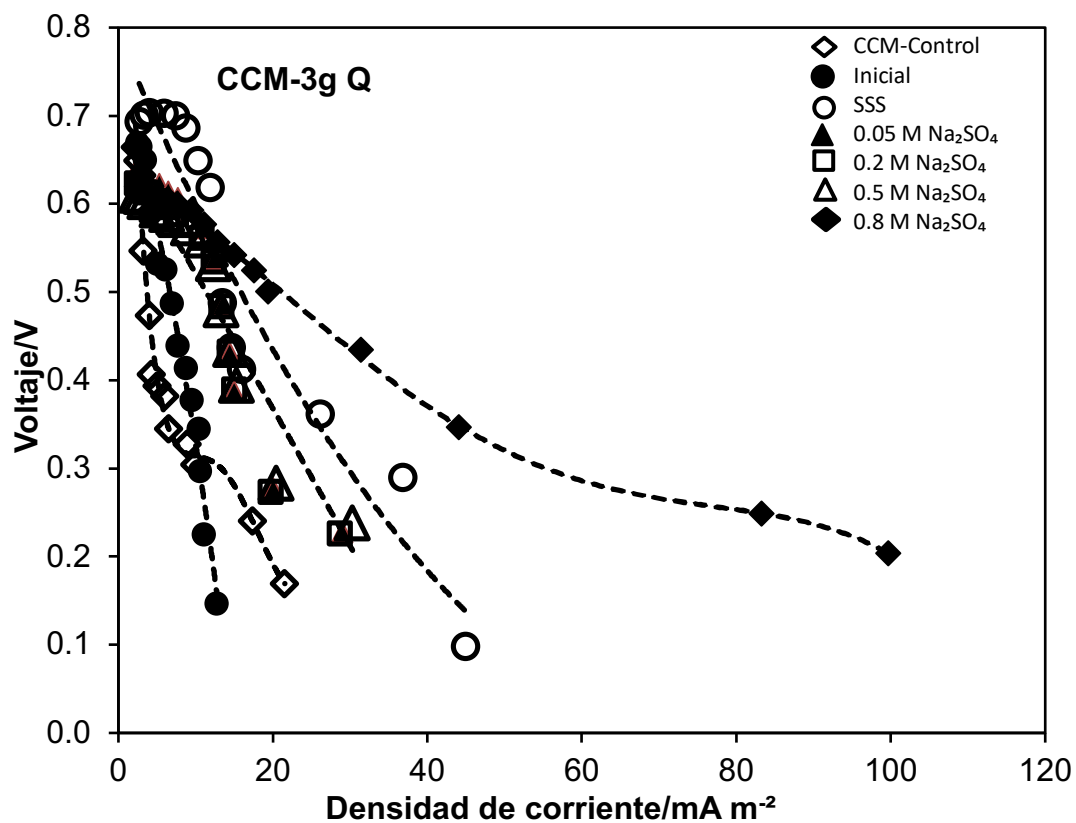


Figura 4.3.A. Curvas de polarización. CCM-3g Q. Efecto de la concentración del catolito: \diamond Control; \bullet Inicial (SSS:SCC); \circ SSS (CC- MnO_2); \blacktriangle 0.05 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \square 0.2 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \triangle 0.5 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2); \blacklozenge 0.8 M Na_2SO_4 (CC- MnO_2).

La resistencia interna de la celda disminuyó (ver figura 4.3.B) con forme incrementa la concentración de Na_2SO_4 con un valor de 4121, 3977, 3708 y 449 Ω para una concentración 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M (\blacktriangle ; \square ; \triangle ; \blacklozenge),

respectivamente, mientras que, sin sulfato de sodio (inicial ●) la resistencia fue de 5229Ω

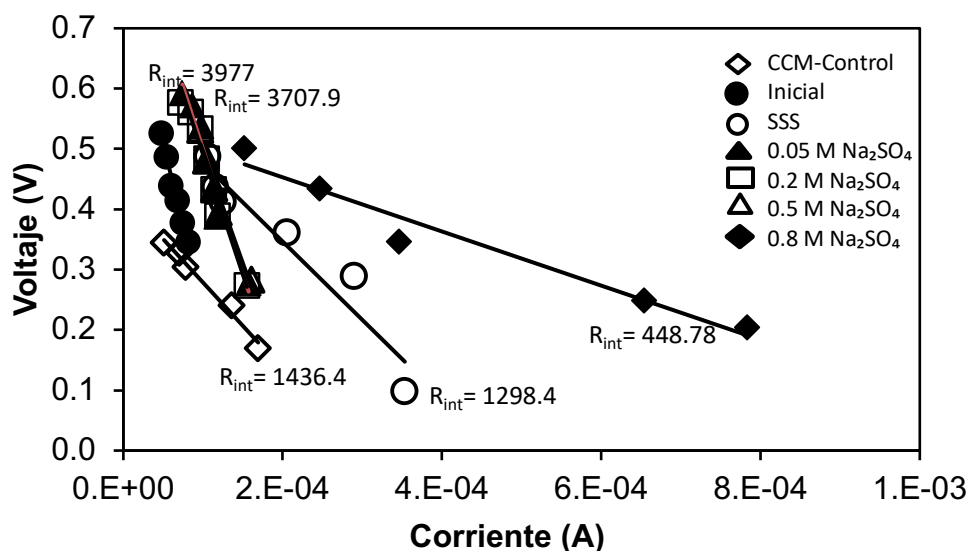


Figura 4.3.B. Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g Q en función de la concentración del catolito. SSS (sin sulfato de sodio), Inicial (SSS y sin catalizador)

En la figura 4.3.C, se muestran las respectivas densidades de potencia de la CCM-3g Q. los valores de la DP obtenidos fueron: 3.60, 6.69, 6.60, 6.55, y 20.79 mW m^{-2} para una concentración del catolito: sin catalizador y sin sulfato (SC y SSS), 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M Na₂SO₄, respectivamente. Comparado con la celda control (4.18 mW m^{-2}) es 4 veces mayor a una concentración de 0.8 M. En esta celda la DP generada es menor comparada a la CCM 8g CN, esto es posiblemente por la materia orgánica inicial y la adición de queroseno, que es más compleja y difícil de degradar por las bacterias.

En todas las CCMs independientemente de la materia orgánica que se utiliza (queroseno, chitin natural, comercial o gasolina) presentan la misma tendencia, hay un aumento en la densidad de potencia de salida como función en el aumento de la concentración de sulfato de sodio en la solución. Demostrando que las pérdidas ohmicas son importantes para disminuir la caída de voltaje y que efectivamente se reducen aumentando la conductividad tanto del anolito como del catolito.

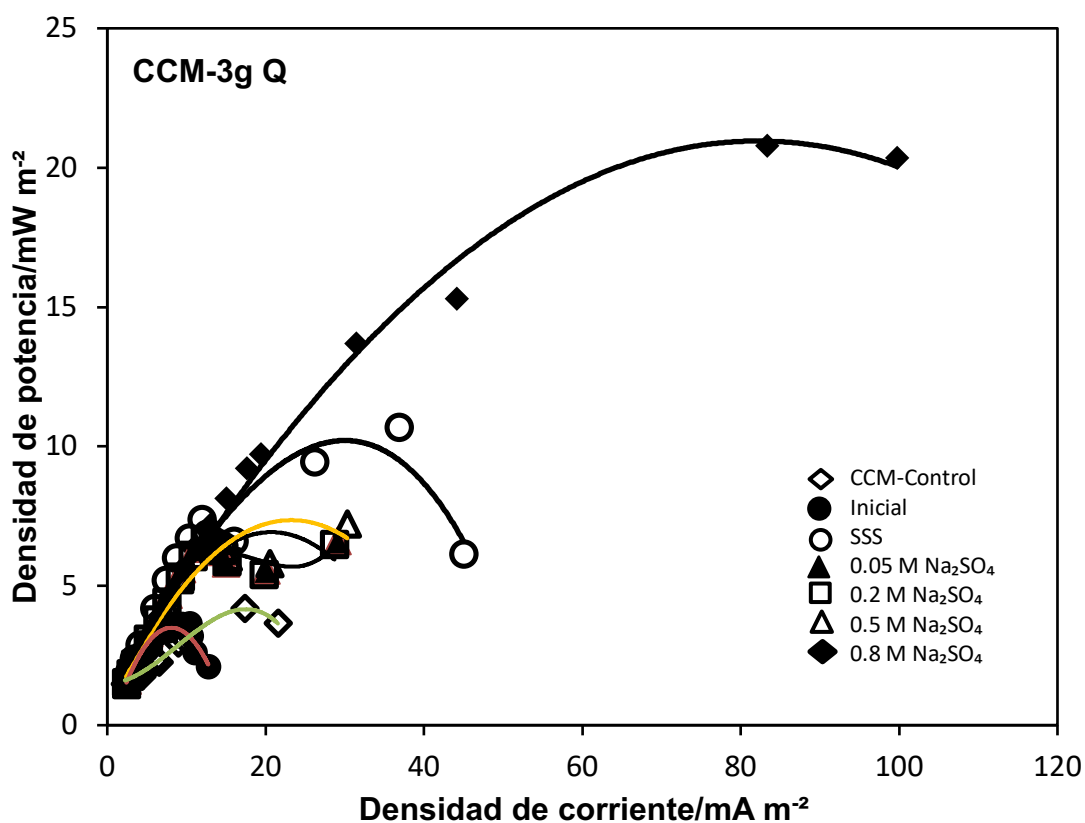


Figura 4.3.C. Curvas de densidad de potencia. CCM-3g Q (sedimentos contaminados con petróleo + 3 g de queroseno). ◇Control; ● Inicial (SSS:SCC); ○ SSS (CC-MnO₂); ▲ 0.05 M Na₂SO₄ (CC-MnO₂); ◻ 0.2 M Na₂SO₄ (CC-MnO₂); △ 0.5 M Na₂SO₄ (CC-MnO₂); ◆ 0.8 M Na₂SO₄ (CC-MnO₂).

El efecto de la salinidad es un factor importante en el desempeño de la CCM, debido a que la alta salinidad genera un efecto inhibitorio sobre las bacterias. El desequilibrio de la concentración de sal dentro de la membrana celular bacteriana y la solución externa genera una presión osmótica, como consecuencia sufren deshidratación generando la muerte celular. Las CCM que utilizan hidrocarburos de petróleo generalmente es obtenido de ambientes salinos (Grattieri et al., 2018). En este estudio se vario la concentración del catolito hasta una concentración máxima de 0.8 M de Na₂SO₄ (26.82 g L⁻¹) con el fin de aumentar la conductividad y disminuir la resistencia interna y sobrepotencial del cátodo, pero debido a que no se utiliza membrana intercambiadora de cationes se esperaba que la sal se difundiera hacia la

cámara anódica generando posteriormente un efecto perjudicial para las bacterias, pero la separación de 4 cm de lodo entre los electrodos posiblemente funciona como una membrana lo que hace más lento la difusión de sales hacia el ánodo. En este estudio, el mejor desempeño de la celda se obtuvo a una concentración máxima de 0.8 M, lo que indica que las bacterias toleran esta concentración de salinidad en el cátodo.

Fuentes et al., 2012, estudiaron la influencia en el aumento de la conductividad del catolito, encontraron que a concentraciones 1M de Na_2SO_4 se genera un incremento en la conductividad iónica, lo que ayuda al transporte de H^+ y difusión de oxígeno sobre la superficie del electrodo catódico para mejorar la velocidad de reacción de reducción de oxígeno. Pero a concentraciones mayores de 1 M se genera un efecto inhibitorio sobre las bacterias, ocasionando un bajo desempeño de la CCM.

Arulazhagan et al., 2011, lograron degradar hidrocarburos de petróleo aislando una cepa bacteriana identificada como *Ochrobactrum* sp. degradando antraceno, fenantreno, naftaleno, fluoreno y pireno arriba del 84 % a una concentración de 30 g L^{-1} de NaCl.

Adelaja et al., 2015, estudiaron la biodegradación de fenantreno y benceno utilizando dos diferentes mediadores redox (rivoflavina y antraquinona) en una CCM tipo H, variando la concentración salina de 0.5-2.5 % (w/v) de NaCl, obtuvieron los mejores resultados a condiciones de 1 % con una DP de 1.06 mW m^{-2} y una eficiencia de degradación de 91.6 %, pero a condiciones salinas de 2.5 % el desempeño de la celda disminuyó. Por lo tanto, la salinidad posiblemente es uno de los parámetros más importantes ambientalmente, ya que afecta significativamente las condiciones de operación de la celda.

4.2.2. Evaluación del efecto del *pH* en el catolito

La cantidad de protones que se producen en el ánodo tienen que difundir una distancia de 4 cm de sedimento hacia el cátodo para llevarse a cabo la RRO, lo que aumenta la resistencia interna, además de que la velocidad de protones es lenta en el anolito por su baja conductividad, por lo tanto, hay poca cantidad de protones en el cátodo para que puedan reaccionar con el oxígeno (Sleutels et al., 2011, Torres et al., 2008). Por lo que, es necesario incrementar la cantidad de iones H^+ en el catolito mediante el uso de un ácido. En este estudio se utilizó H_2SO_4 para modificar el *pH* de la celda (6, 4, 2). Todas las celdas presentaron un *pH* inicial arriba de 8.

Una vez que se encontro las mejores condiciones de operación en la concentración del catolito (0.8 M de Na_2SO_4), todas las celdas se caracterizaron bajo esta condición. En la figura 4.4.A se muestran las curvas de polarización evaluando el efecto del *pH* de la CCM alimentada con **3g CN** (sedimentos contaminados con petróleo más 3g de quitina natural), 0.8 M de Na_2SO_4 (catolito) y catalizador catódico de MnO_2 depositado sobre fibra de carbón.

En la gráfica 4.4.A se observa que aumentando las condiciones ácidas, hay un incremento en el voltaje a circuito abierto de 0.65, 0.80, 1.03, y 1.09, para un *pH* 8.25 (inicial), 6, 4 y 2, respectivamente, incrementando el *Vca* de 0.65 (*pH* 8.25) a 1.09 V (*pH* 2). El *Vca* incremento, tal como se ha reportado anteriormente (Zhao et al., 2005). Disminuyendo el *pH*, las pérdidas de voltaje son menores, obteniendo los mejores resultados a *pH* muy ácidos (*pH* 2; datos marcados con Δ), por la alta cantidad de H^+ presentes en el medio que favorecen la RRO. Mientras que, a *pH* alcalino de 8.25, la caída de voltaje fue mayor (datos marcados con \circ).

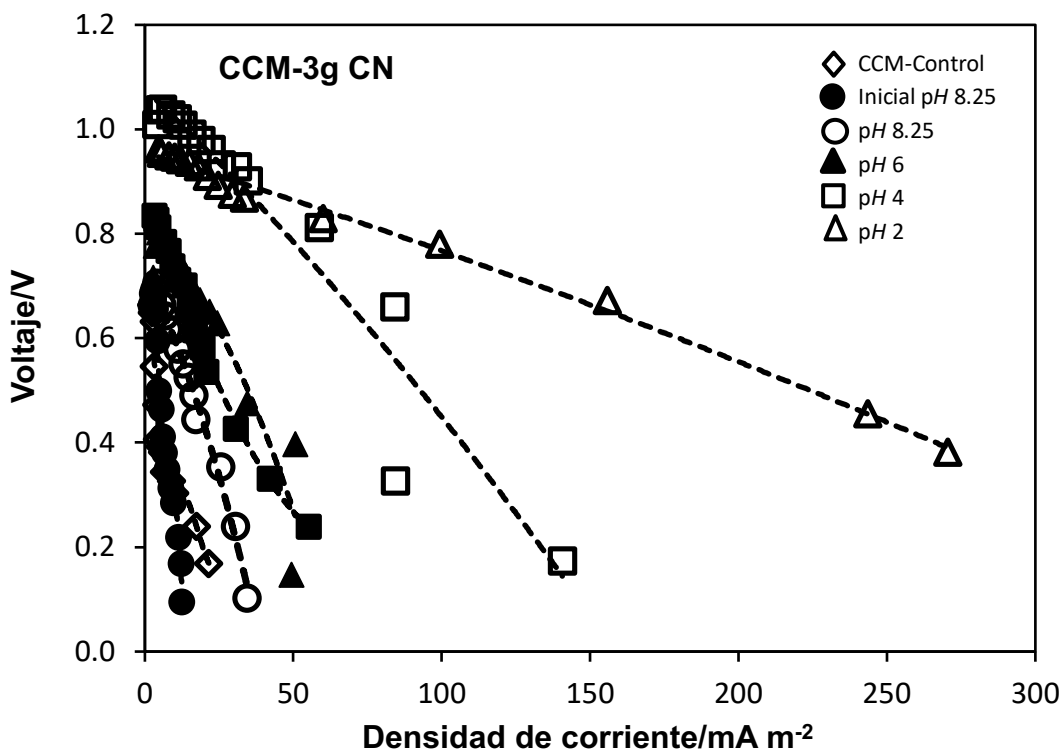


Figura 4.4.A. Curvas de polarización de la CCM 3g CN. Efecto en la variación de pH.
 ◊ CCM control (SSS: SC: pH 7.85); ● inicial (SSS: SC: pH 8.25); ○ pH 8.25 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); ▲ pH 6 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); □ pH 4 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); △ pH 2 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂).

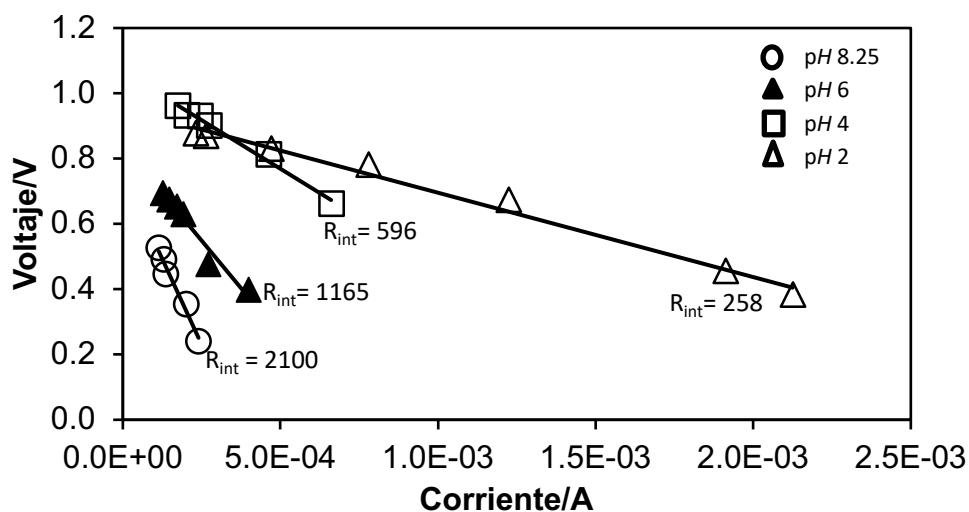


Figura 4.4.B. Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g CN en función de la concentración del catolito.

La resistencia interna de la celda se ve afectada favorablemente operando en condiciones ácidas. La RI obtenida fue: 2100, 1165, 595 y 258 Ω para un pH 8.25 (inicial), 6, 4 y 2, respectivamente (ver figura 4.4. B), disminuyendo hasta 8 veces en comparación al pH inicial.

En la figura 4.4.C, se presentan las DP de la biocelda 3g CN. Se observó que conforme disminuye gradualmente el pH , la DP incrementa. La energía total obtenida fue: 9.12, 20.15, 55.70 y 108.79 para un pH 8.25, 6, 4 y 2, siendo mejor el desempeño a pH 2 (curva Δ), con una DP de 108.79 $mW m^{-2}$ y una J de 243.52 $mA m^{-2}$, 26 veces más comparada con la celda control a pH alcalino con una DP de 4.18 $mW m^{-2}$ y una densidad de corriente de 17.39 $mA m^{-2}$.

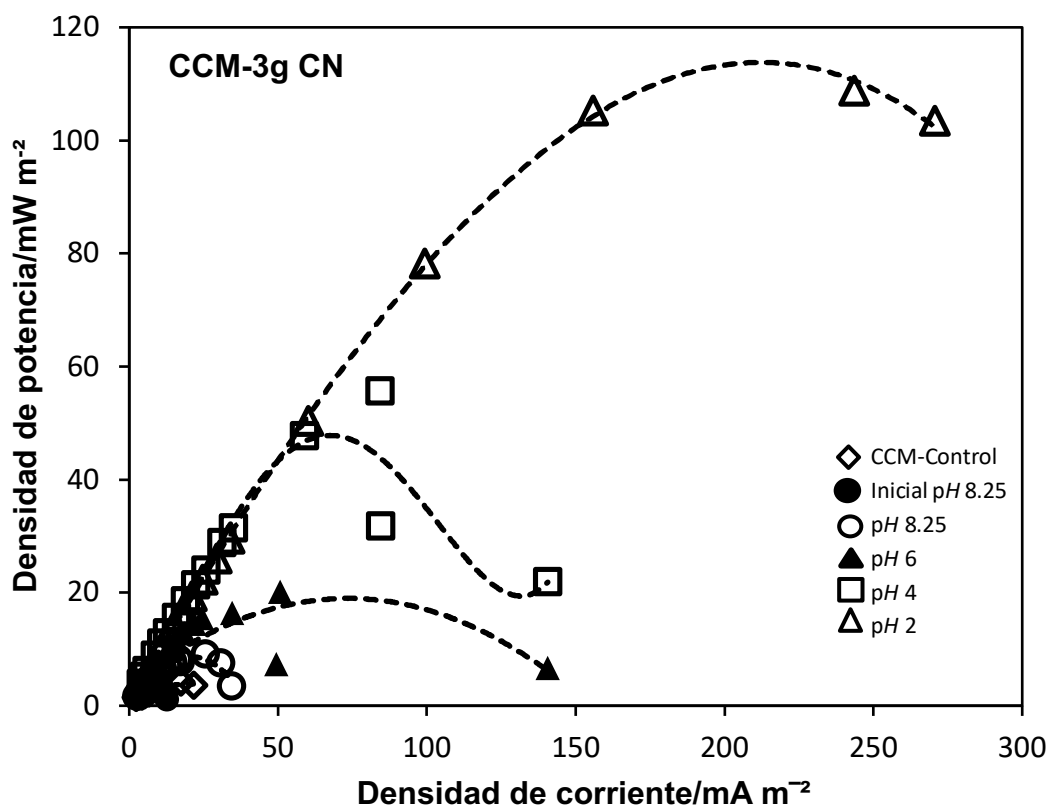


Figura 4.4.C. Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g CN. Efecto en la variación de pH . \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SCC: pH 8.25); \circ pH 8.25 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂); \square pH 4 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂); \triangle pH 2 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂).

En la figura 4.5.A, se muestran las curvas de polarización de la **CCM 3g CC** (sedimentos contaminados con petróleo más 3 g de quitina comercial). El voltaje a circuito abierto varía con el *pH* del catolito; 0.66, 0.7, 0.84 y 0.96 V a *pH* 8.25 (inicial), 6, 4, 2, respectivamente. Por lo que, conforme se extrae corriente de la celda, la caída de voltaje es menor cuando disminuye el *pH* obteniendo un mejor desempeño de la celda a *pH* 2 (curva Δ).

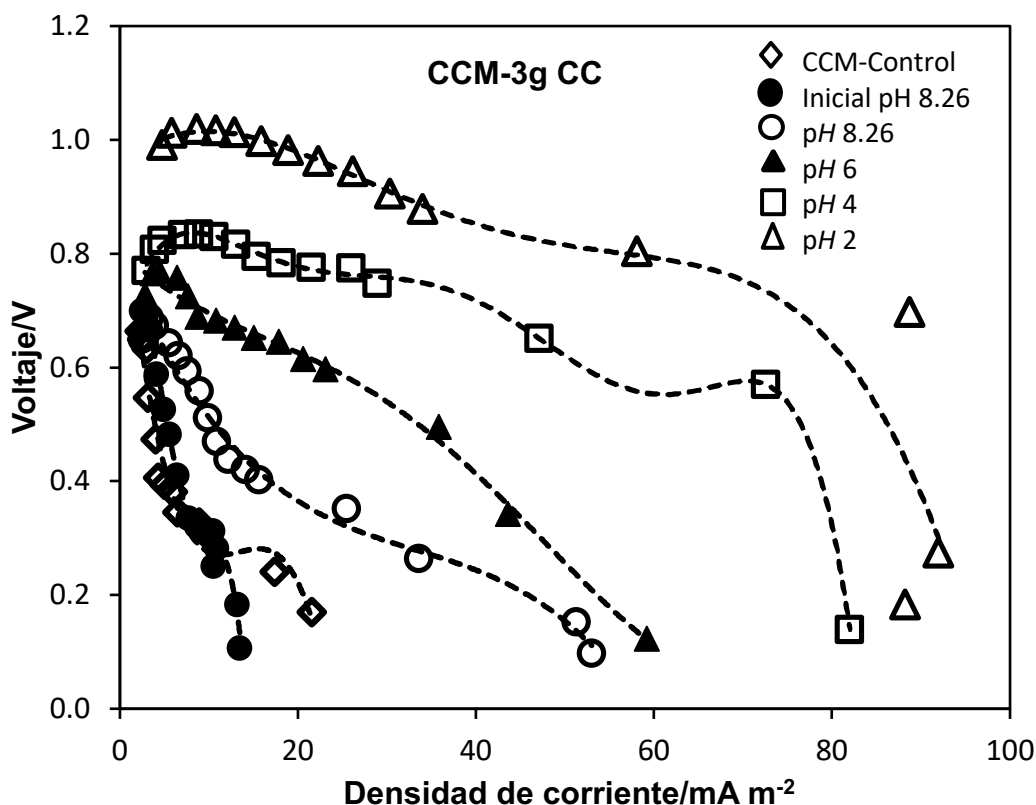


Figura 4.5.A. Curvas de polarización de la CCM 3g CC. Efecto en la variación de *pH*.

◊ CCM control (SSS: SC: *pH* 7.85); ● inicial (SSS: SC: *pH* 8.26); ○ *pH* 8.26 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); ▲ *pH* 6 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); □ *pH* 4 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); Δ *pH* 2 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂).

En la figura 4.5.B, se observa la resistencia interna, aún con la adición de diferente materia orgánica (quitina comercial) la RI presentó la misma tendencia que las celdas anteriores disminuyendo a *pH* ácido: 923, 927, 528 y 471 para un *pH* 8.26, 6, 4 y 2, respectivamente. Por lo que, las densidades de

potencia fueron aumentando con la disminución del pH; 8.26, 6, 4, 2 con 9.03, 17.84, 41.38 y 61.99 mW m^{-2} , y una densidad de corriente de 25.47, 35.83, 72.53, 88.74 mA m^{-2} , respectivamente. Se incrementó la DP hasta 15 veces más en comparación a la CCM-Control (4.18 mW m^{-2}) (ver figura 4.5.C).

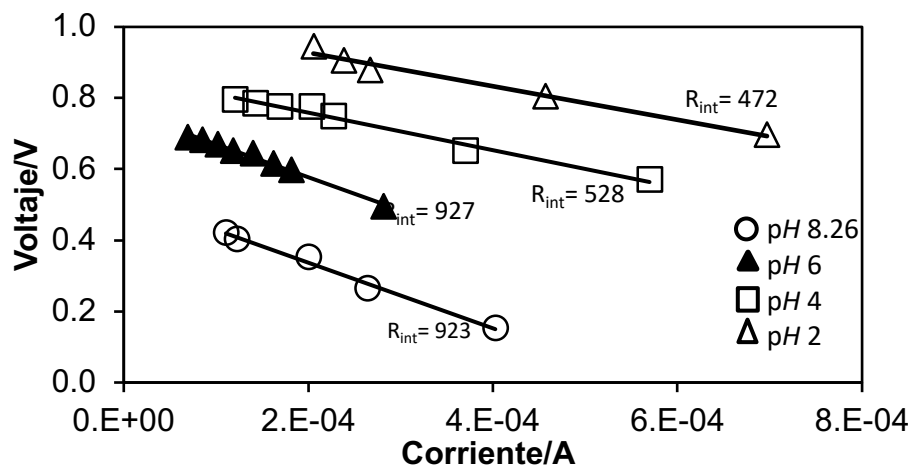


Figura 4.5.B. Gráfica de resistencia interna de la CCM-3g CC en función de la concentración del catolito.

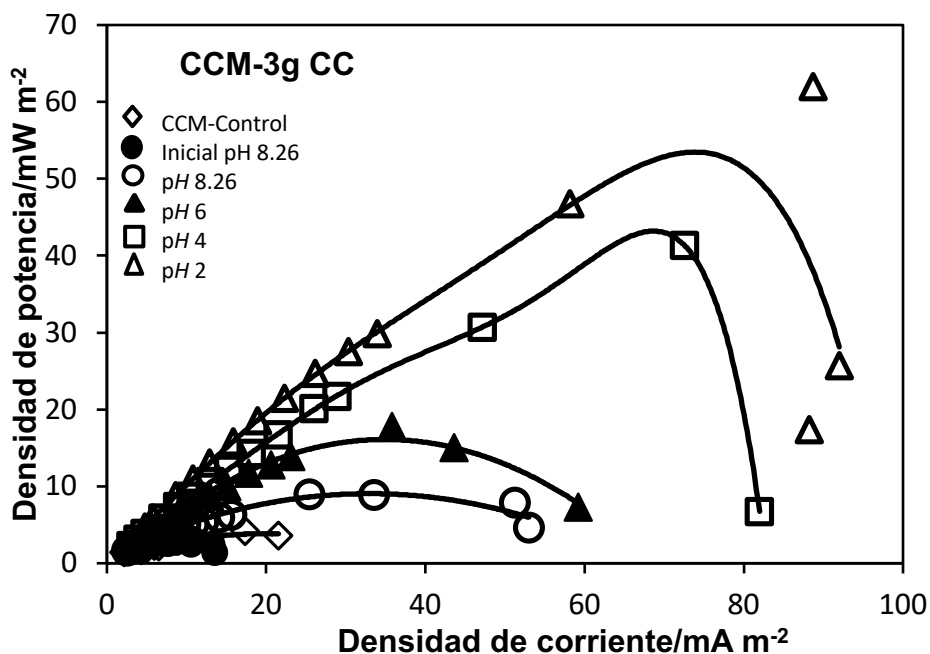


Figura 4.5.C. Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.26); \circ pH 8.26 (0.8

M Na_2SO_4 : CC- MnO_2); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na_2SO_4 : CC- MnO_2); \square pH 4 (0.8 M Na_2SO_4 : CC- MnO_2); \triangle pH 2 (0.8 M Na_2SO_4 : CC- MnO_2).

El Vca de la configuración de la CCM 3g de CN incremento 0.44 veces de pH 8 a 2, mientras que en la configuración aumento 0.22 V, por lo que, además del pH del catolito, la calidad de la materia orgánica también es importante, ya que la CCM se bioestimula más cuando se utiliza CN que CC.

En la figura 4.6.A y C se muestran las curvas de polarización y densidades de potencia generadas de la configuración **CCM 8g CC** (SCP más 8 g de chitin comercial). Independientemente de la materia orgánica, el comportamiento en el desempeño electroquímico de las celdas conforme disminuía el pH fue mejor, observándose menor caída de voltaje a pH 2 (figura 4.6.A, curva \square), esto indica que las bacterias son capaces de tolerar y crecer en condiciones ácidas.

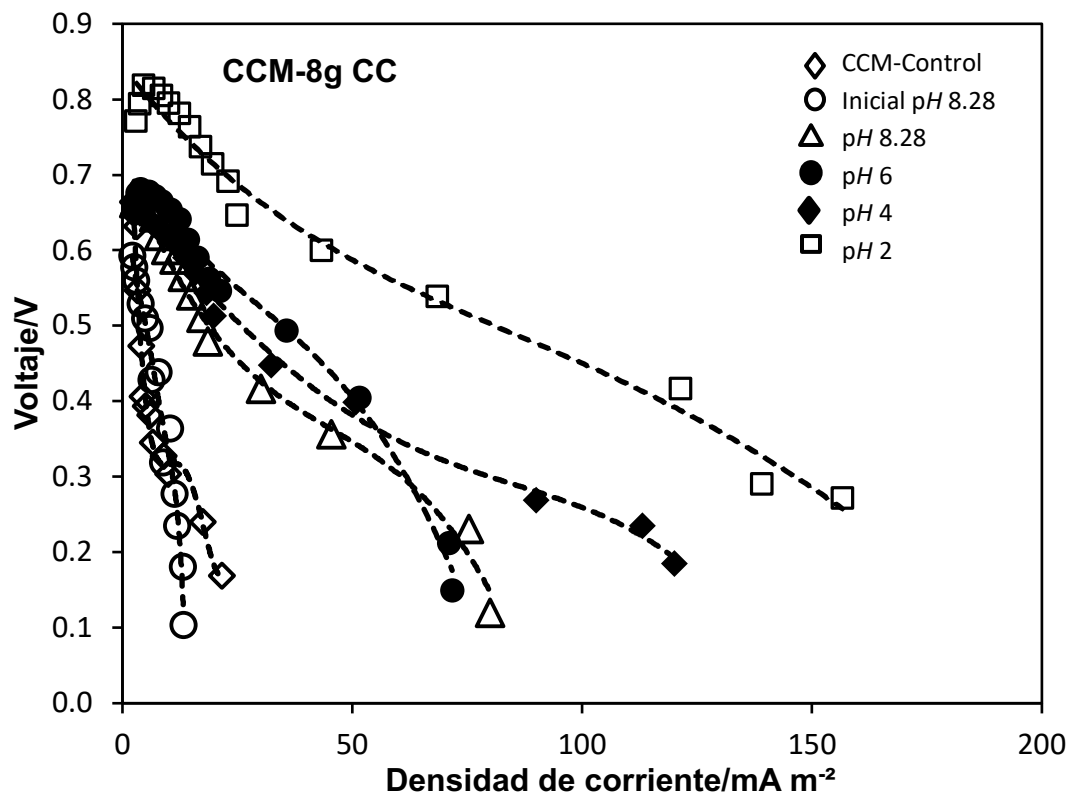


Figura 4.6.A. Curvas de polarización de la CCM 8g CC. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \circ inicial (SSS: SC: pH 8.28); \triangle pH 8.28 (0.8 M

Na₂SO₄: CC-MnO₂); ● pH 6 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); ◆ pH 4 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂);
 □ pH 2 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂).

La DP observada fue de 17.40, 20.23, 26.69 y 50.57 mW m⁻² para un pH 8.28 (inicial), 6, 4 y 2, respectivamente (Figura 4.6.B). La DP incrementó hasta 12 veces en comparación con la celda control (4.18 mW m⁻²) y 11 veces más en comparación al pH inicial (8.28, sin catalizador y agua del grifo) que solo generó 4.65 mW m⁻². De igual forma, la resistencia interna se vio afectada favorablemente a pH más ácido (2) con 329 Ω (ver figura 4.6.C, datos experimentales marcados con □).

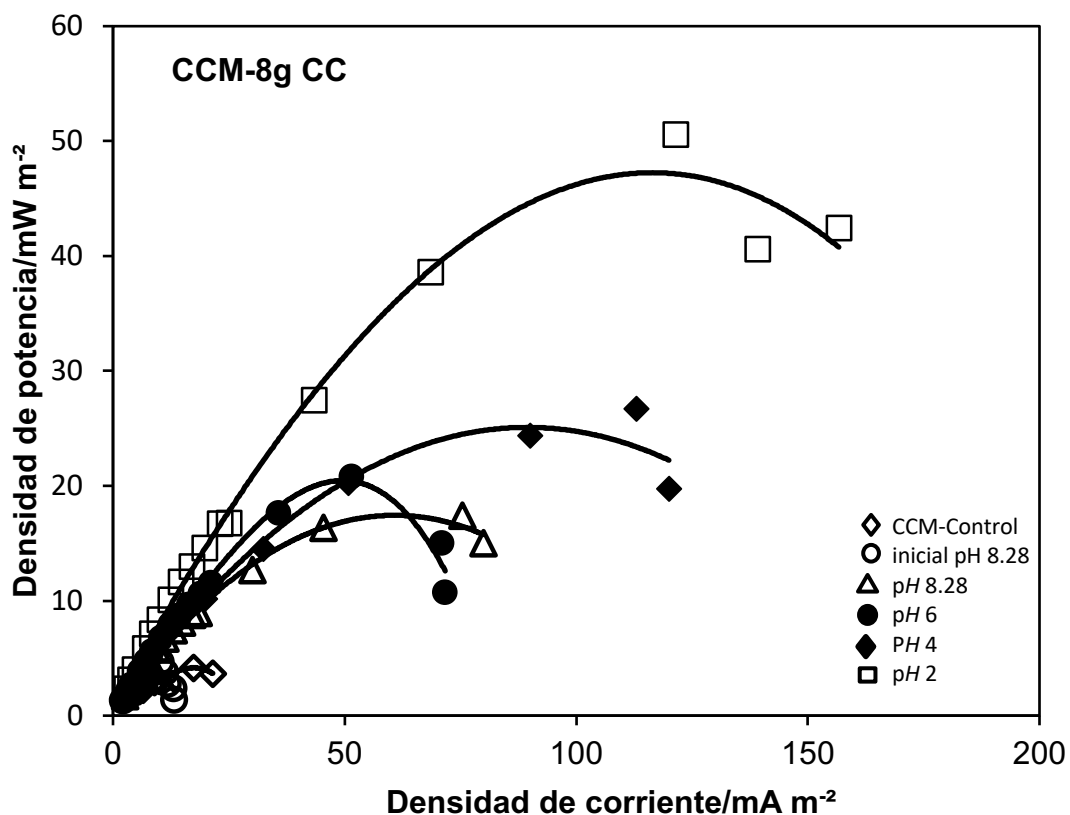


Figura 4.6.B. Curvas de densidad de potencia de la CCM 8g CC. Efecto en la variación de pH. ◆ CCM control (SSS: SC: pH 7.85); ○ inicial (SSS: SC: pH 8.28); Δ pH 8.28 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); ● pH 6 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); ◆ pH 4 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); □ pH 2 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂).

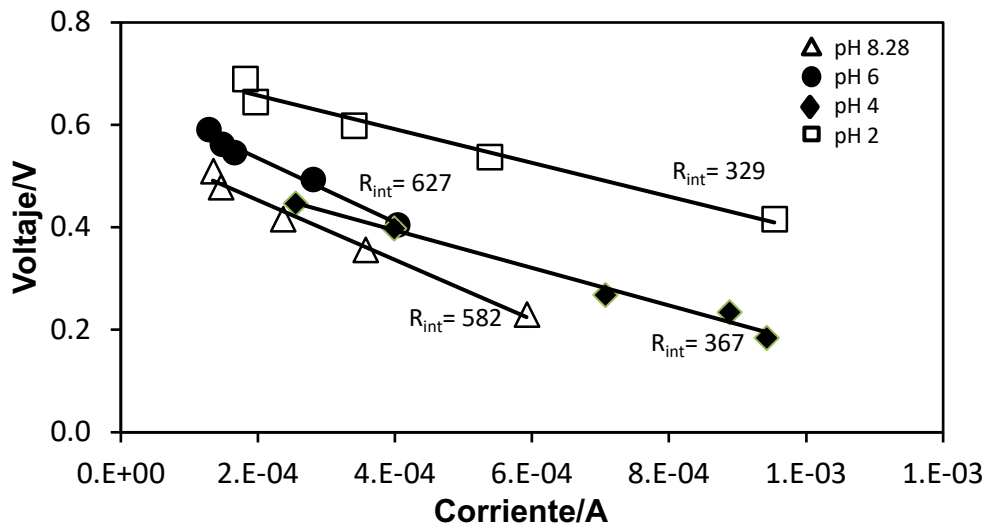


Figura 4.6.C. Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CC en función de la concentración del catolito.

A continuación, se muestran las curvas de polarización correspondientes a la **CCM-3g Q** (SCP más 3 g de queroseno), se evaluó la salida de la DP en función de la variación de *pH*. El área del ánodo se duplico colocando 2 círculos de diámetro 0.1 m dividido en 4 segmentos cada uno (área total 0.0157 m²). Los cálculos se realizaron con respecto al área geométrica del cátodo (0.00785 m²). En cada variación de *pH* el potencial a circuito abierto varió de 0.620, 0.696, 0.837 y 1.03 V para un *pH* 8.33 (inicial), 6, 4, y 2, respectivamente. Con un mayor *Vca* (1.03 V) favorecido por las condiciones ácidas en el catolito, cada vez que el flujo de corriente aumenta la caída de voltaje el menor (curva Δ). Mientras que, a un mayor *pH* (8.33) la caída de voltaje es brusca (curva \bullet).

La alta concentración de protones redujo las pérdidas de voltaje favoreciendo la RRO y al mismo tiempo disminuyó la resistencia interna de 449, 385, 335 y 140 Ω , respectivamente para un *pH* 8.33, 6, 4 y 2, respectivamente (ver figura 4.7.B.).

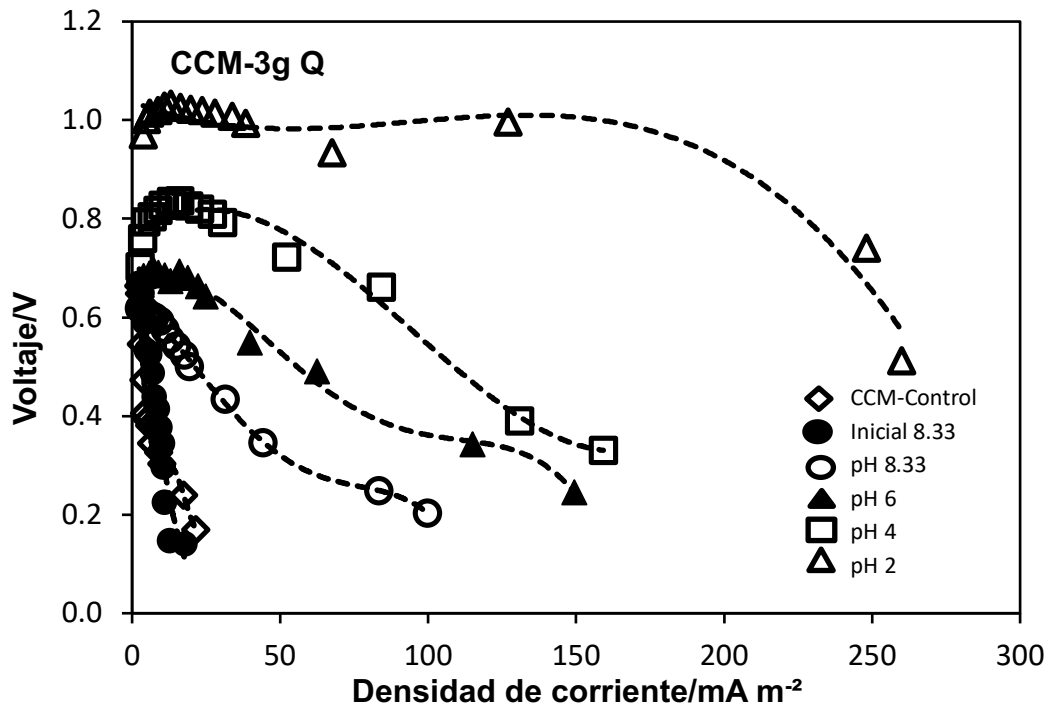


Figura 4.7.A. Curvas de polarización de la CCM 3g Q. Efecto en la variación de pH .
 ◇CCM control (SSS: SC: pH 7.85); ● inicial (SSS: SC: pH 8.33); ○ pH 8.33 (0.8 M Na_2SO_4 :
 CC-MnO₂); ▲ pH 6 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂); □ pH 4 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂); △ pH 2
 (0.8 M Na_2SO_4 : CC-MnO₂).

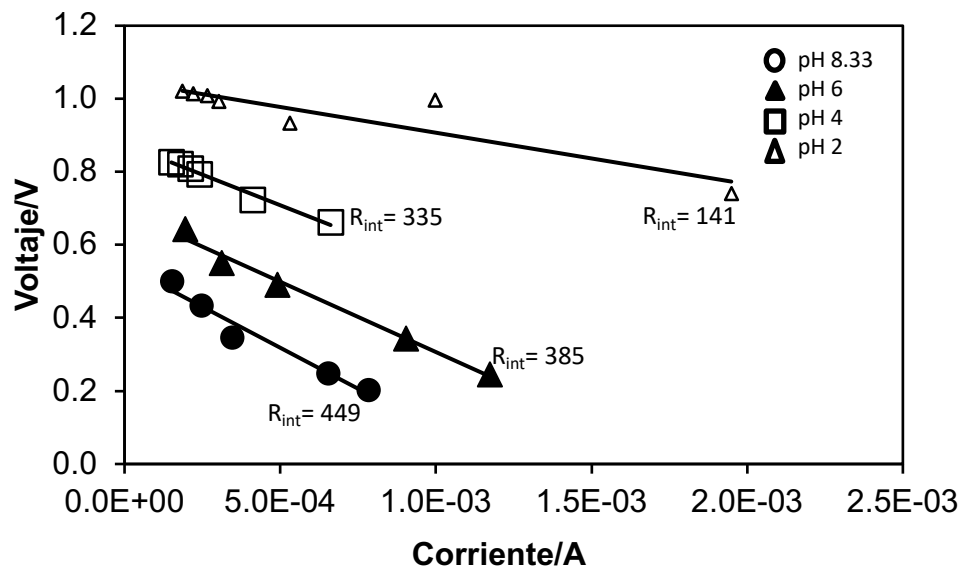


Figura 4.7.B. Gráfica de resistencia interna de la CCM-8g CC en función del pH del
 catolito.

En la figura 4.7.C, se muestran las DP correspondientes a la CCM-3g de queroseno. A pH 2 la DP incrementó cerca de 9 veces con 183.78 mW m⁻² (curva Δ) en comparación a pH alcalino (pH 8.33, curva \circ) con una DP de 20.79 mW m⁻². Por otra parte, la DP aumentó hasta 44 veces más en comparación a la celda control (4.18 mW m⁻²). La DP en este estudio es similar o incluso mejor que la reportada en la literatura, además de que simultáneamente se estaba llevando a cabo la remoción de la materia orgánica (hidrocarburos totales de petróleo), que es compleja de degradar. De igual forma, en esta configuración (CCM 3g Q) se presentó mejor desempeño electroquímico con las menores pérdidas de voltaje y mayor DP de salida en comparación al resto de las configuraciones.

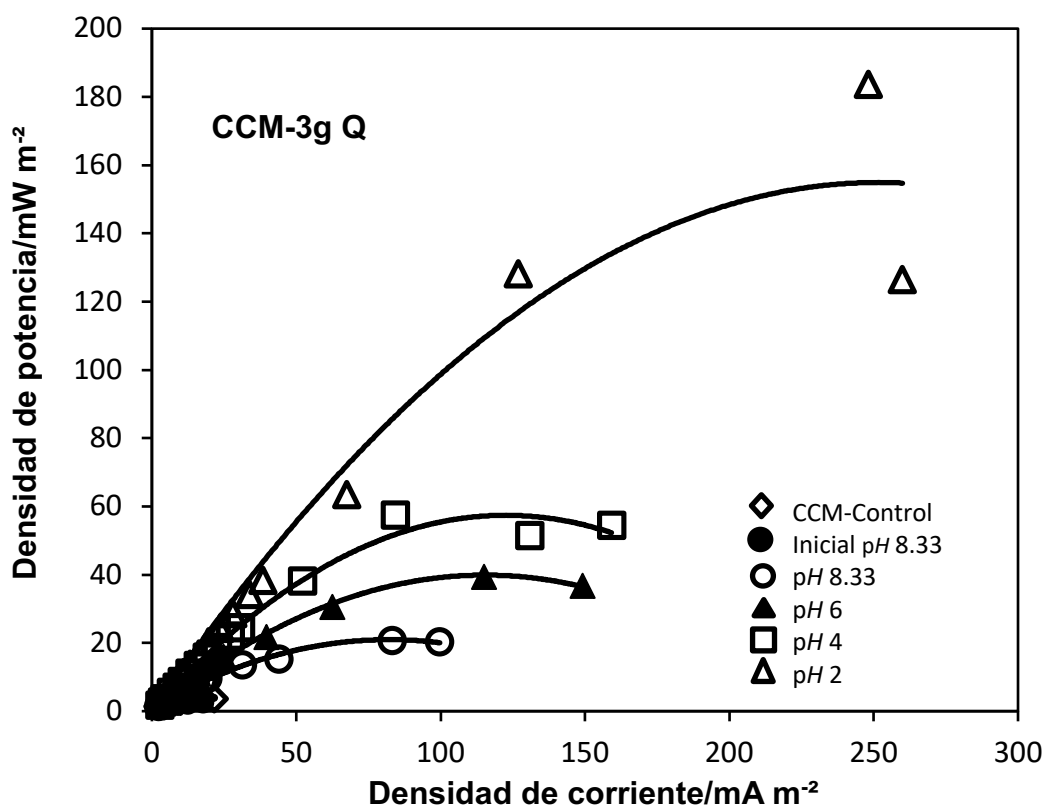


Figura 4.7.C. Curvas de densidad de potencia de la CCM 3g Q. Efecto en la variación de pH. \diamond CCM control (SSS: SC: pH 7.85); \bullet inicial (SSS: SC: pH 8.33); \circ pH 8.33 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); \blacktriangle pH 6 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); \square pH 4 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂); Δ pH 2 (0.8 M Na₂SO₄: CC-MnO₂).

Esta configuración generó una DP similar a la obtenida en la CCM 8g CN (177.61 mW m⁻²), esto es quizás por duplicar el área del ánodo, existe un mayor número de bacterias electrogénicas sobre el ánodo que generan un mayor flujo de electrones degradando a mayor velocidad la MO (SCP + Queroseno) más difícil de degradar en comparación a la quitina. En la literatura se ha encontrado que el queroseno se ha utilizado como materia orgánica para la biodegradación por su alta concentración de hidrocarburos saturados y aromáticos (Diaz B. L., et al 2012), siendo las fracciones mayormente degradadas por las bacterias, aunado al diseño de la celda y el aumento del área del ánodo se generó las mayores densidades de potencia utilizando este sustrato como aditivo.

Venkata Mohan y colaboradores., et al 2011, estudiaron la generación de energía con la simultanea remoción de hidrocarburos totales de petróleo en una CCM con lodos reales contaminados de petróleo como MO, obtuvieron una DP de 53.11 mW m⁻².

Las altas concentraciones de protones en el catolito favorecen la RRO, pero puede producir una acidificación en la biopelícula del ánodo por la ausencia de una membrana intercambiadora de iones o separador, añadiendo que las reacciones de oxidación generan protones como producto, lo cual, puede producir una inhibición de las bacterias (Sleutels et al., 2010). Sin embargo, en este estudio, las bacterias presentes en el sedimento contaminado con petróleo demostraron ser resistentes en condiciones muy ácidas (pH 2) en el catolito, esto es posible, quizás por la distancia que hay entre los electrodos (ánodo y cátodo) de una capa de 4 cm de sedimento, que posiblemente impide o hace más lenta la difusión de protones a la cámara anódica, además de que también se favorecen las condiciones anaerobias de las bacterias, por lo que, se observan menores pérdidas de voltaje durante la operación de la celda.

4.2.3. Evaluación de diferentes cargas de MO

En la figura 4.8, se muestran los resultados de las configuraciones; CCM 3g, 9g y 15 g Q, se evaluó el efecto en la variación de la cantidad de la materia orgánica, las curvas de polarización se evaluaron bajo las mejores condiciones de operación; pH 2, mayor concentración del catolito (0.8 M) y catalizador catódico de MnO_2 . Las menores pérdidas de voltaje se obtuvo a menores concentraciones de materia orgánica (3 g de queroseno) generando una densidad de potencia de 183.78 mW m^{-2} con una densidad de corriente de 248.14 mA m^{-2} . Mientras que, para las otras dos diferentes cargas (9 y 15 g) la DP fue menor con forme incrementaba la concentración de la MO con un valor de 66.24 y 34.89 mW m^{-2} , asociada a una densidad de corriente de 69.22 y 50.13 mA m^{-2} , respectivamente.

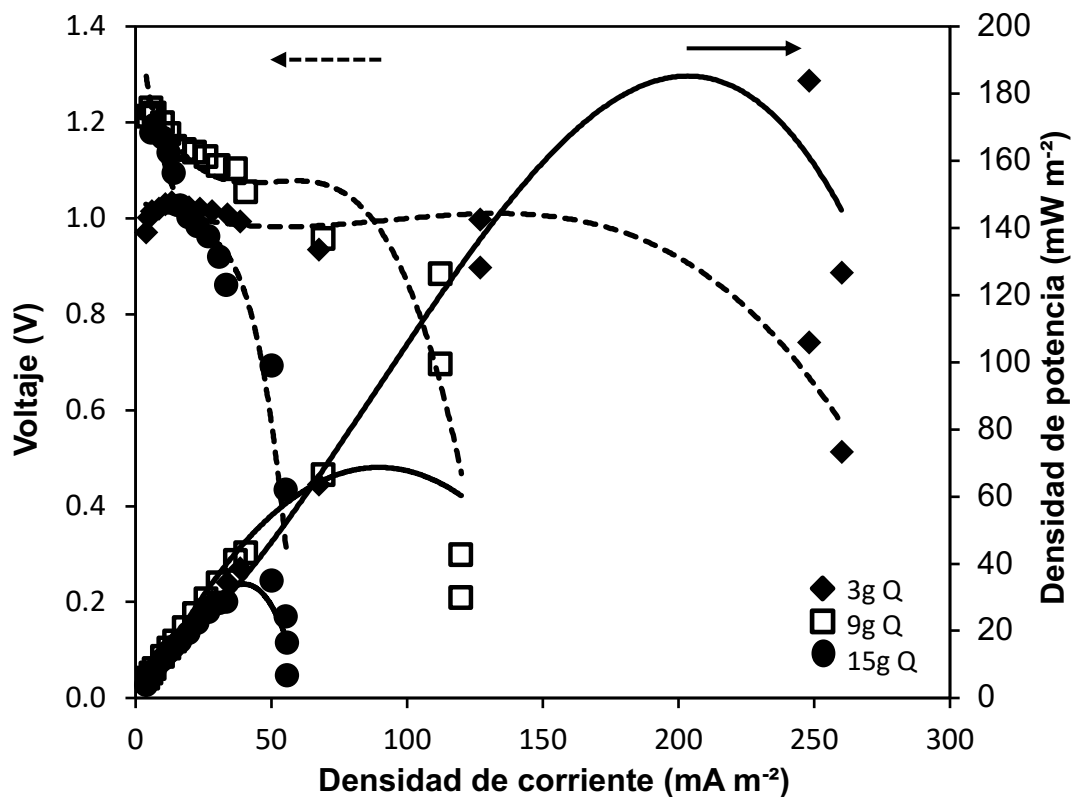


Figura 4.8. Curvas de polarización (. . .); Curvas densidad de potencia (—). Evaluación del efecto de la carga de la MO; ● 15 g Queroseno; □ 9 g Queroseno; ◆ 3 g Queroseno.

La RI también incremento con la concentración de la MO de 140, 359 y 1281 Ω para una carga de 3, 9 y 15 g de queroseno, respectivamente.

Estudios también han demostrado que a menores cargas de MO, mayor es la energía entregada por la celda. Chandrasekhar y colaboradores estudiaron el efecto de diferentes cargas de MO (lodos contaminados con petróleo) 3, 9, 15 y 30 g, obteniendo mayor actividad electrogénica con menores cargas de MO (3 g) generando una DP de 53.11 mW m^{-2} y un voltaje de 343 mV.

Morris et al., 2009, estudiaron la degradación de diésel en una CCM de doble cámara, para mantener la condiciones anaeróbicas del anolito, utilizando aguas subterráneas contaminadas de una refinería como inoculo y 12,5 g de acero inoxidable como ánodo y un material comercial como cátodo (0.35 mg Pt/cm²). Lograron degradar un 82 % las concentraciones de diésel (176 a 31 mg/L) con una producción de energía de 32 mW m^{-2} .

En la figura 4.9, se muestra el efecto en el desempeño de una CCM utilizando lodos contaminados con petróleo adicionando una MO más fácil de degradar; chitin natural. El chitin como se mencionó anteriormente, es un material fácil de degradar por las bacterias, por lo que se espera que favorezcan el crecimiento de las bacterias (bioestimulación) a mayores concentraciones de carga. Utilizando dos distintas cargas; 3 y 8 g de materia orgánica, se observa que a mayor concentración (8 g) se obtiene mejores densidades de potencia; 177.61 mW m^{-2} con una densidad de corriente de 354.29 mA m^{-2} (curva $\rightarrow \bullet$), mientras que, a una menor concentración (3 g) la DP fue de 108.79 mW m^{-2} (curva $\rightarrow \circ$), correspondientes a una reistencia interna de 170 y 258 Ω , respectivamente. Adicionando una MO (quitina natural) de fácil oxidación a una materia más compleja de degradar como lo son los hidrocarburos de petróleo facilita el crecimiento bacteriano y por lo tanto contribuyen a una mejor degradación y una mayor producción de energía.

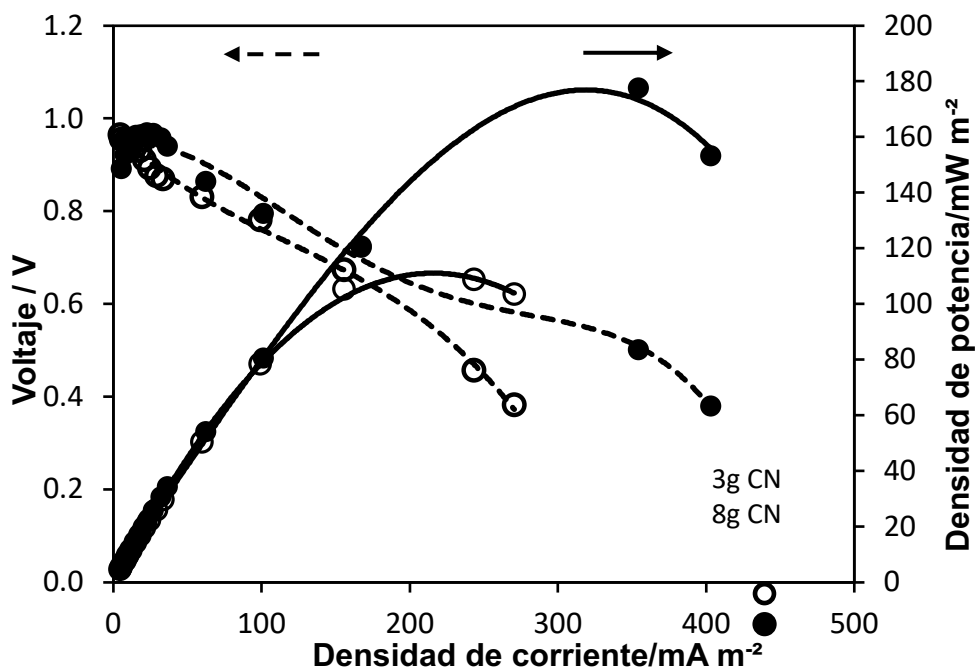


Figura 4.9. Curvas de polarización (←---) y Curvas densidad de potencia (→). Evaluación del efecto de la carga de la MO; ○ 3 g Chitin natural; ● 8 g Chitin natural.

En la figura 4.10, se muestra el desempeño electroquímico de las configuraciones 3, 9 y 15 g de gasolina. Se generó una DP de 19.78, 12.53 y 9.07 correspondientes a una DC de 37.82, 30.11 y 15.84 mA m⁻² para las cargas de 9, 3 y 15 g de gasolina. Por otra parte, la RI se mantuvo casi igual en las tres distintas cargas 1278, 1252 y 1039 Ω, respectivamente. Probablemente, la gasolina genera productos que inibhen el crecimiento bacteriano y por lo tanto el desempeño de la celda es mucho menor en comparación a las otras configuraciones de las celda.

Los cuatro distintos sustratos (queroseno, chitin natural, chitin comercial y gasolina) que se utilizaron para mejorar el desempeño de la CCMS mejoran la producción de energía, sin embargo, la adición de un sustrato solido (chitin) genera una mayor bioestimulación en comparación a un sustrato soluble, debido a que hay pérdidas de sustratos solubles por la difusión en la superficie del ánodo circundante, haciendolo una desventaja (Finkelstein et al., 2006; Rezaei et al., 2007; De Schampelaire et al., 2008, Song et al., 2014.

Finalmente, la DP se ve favorecida con una mayor concentración de MO sólida, en este caso 8 g de chitin natural.

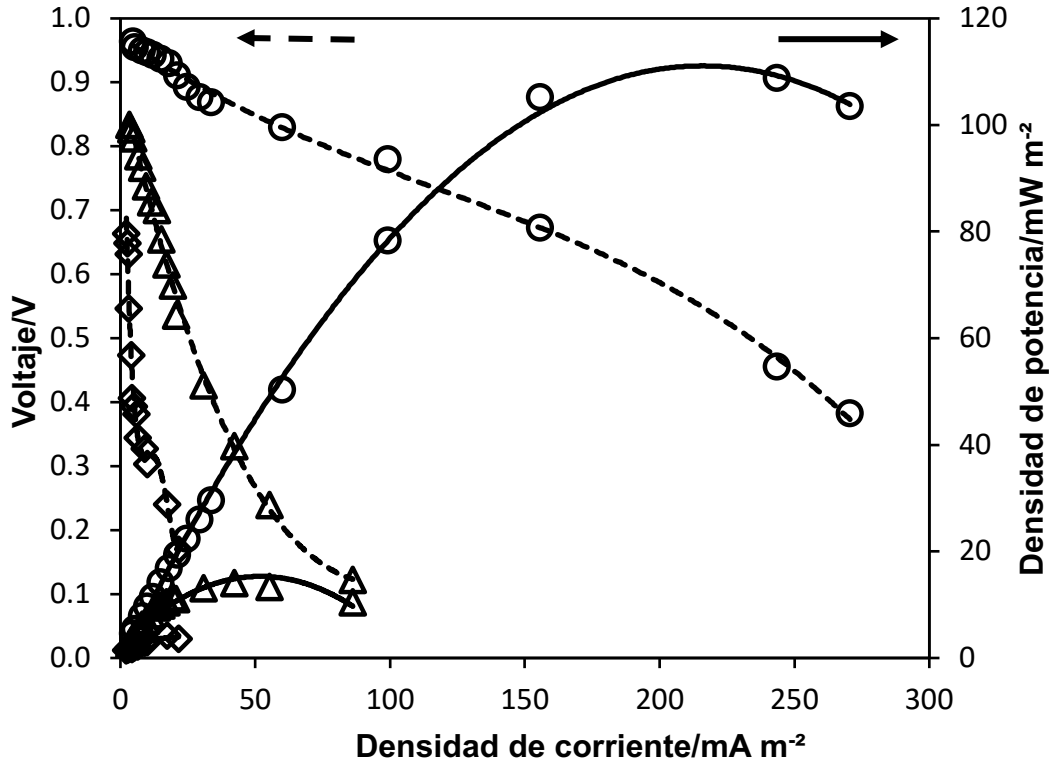


Figura 4.10. Curvas de polarización (←---) y Curvas densidad de potencia (→). Evaluación del efecto de la carga de la MO; ○ 3 g; □ 9 g; ▲ 15 g de gasolina.

4.2.4. Evaluación del efecto del catalizador catódico MnO₂

En la figura 4.11, se muestra el desempeño de la CCM 3g de CN con y sin catalizador catódico de MnO₂ sintetizado en este estudio. Las pruebas se realizaron en las mejores condiciones de operación estudiadas en la celda; pH 2, 0.8 M de Na₂SO₄ y oxígeno del aire como oxidante (catolito). En la figura se observa que la pérdida de voltaje es mucho menor utilizando el catalizador catódico (curva -----○), mientras que, sin catalizador catódico (SCC) la caída es más brusca (curva -----△). La DP incrementa aproximadamente hasta 8 veces utilizando el catalizador con 108.79 mW m⁻², en comparación a sin el uso del catalizador con 14.06 mW m⁻² y una J igual a 243.52 y 42.16 mA m⁻²,

respectivamente (— ○; — △), por lo que, el uso del catalizador juega un papel importante en el desempeño de la biocelda.

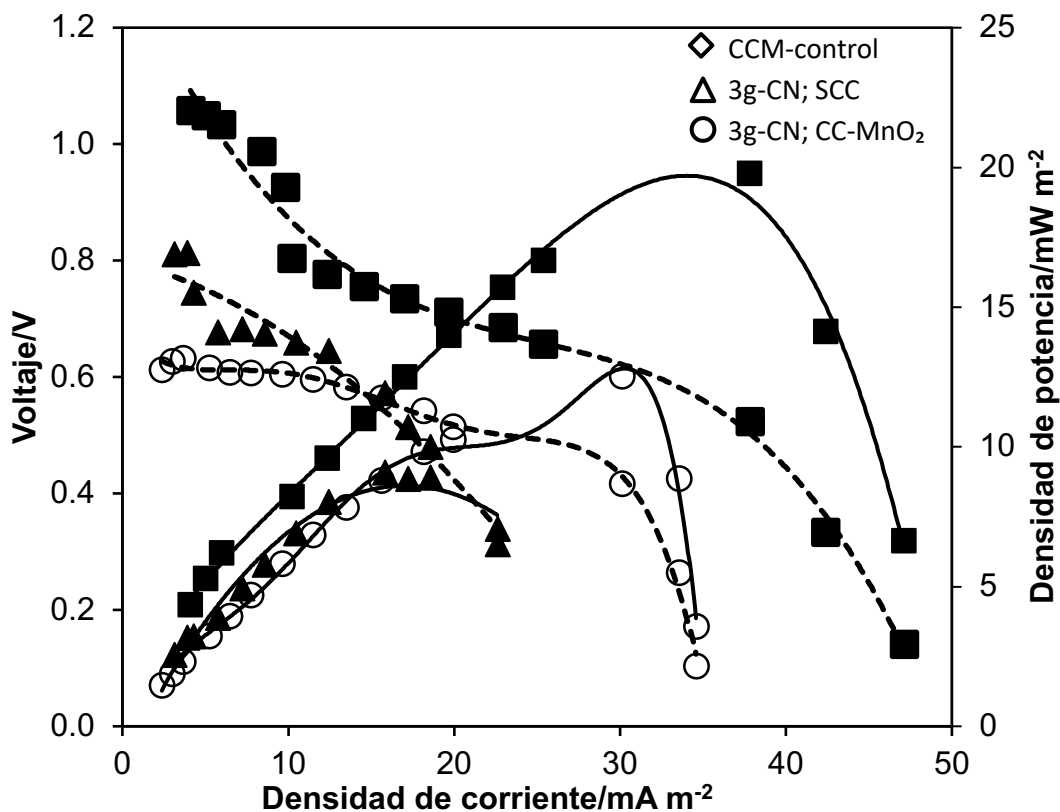


Figura 4.11. Curvas de polarización (- - -) y densidad de potencia (—). Evaluación del efecto del catalizador MnO_2 . ◇ CCM-Control (SC: SSS); △ CCM-3g CN: SCC (0.8 M Na_2SO_4 : pH 2); ○ CC- MnO_2 (0.8 M Na_2SO_4 : pH 2).

Liu et al., 2010, generaron una DP de 772.8 mW m^{-3} , utilizando materiales de fibra de carbón activado como ánodo y MnO_x sobre papel carbón como cátodo en una CCM con una sola cámara y aguas residuales sintéticas cargadas con acetato como combustible. Mientras que utilizando un material de Pt la DP fue menor con 236.7 mW m^{-3} .

Lu et al., 2013, sintetizaron un compuesto de nanotubos de carbón-polipirrol-Manganeso (Mn-PPY-CNT) para evaluar la RRO en una CCM con una sola cámara, con lodos activados como inoculo y acetato de sodio como sustrato, con el material Mn-PPY-CNT presentaron una conductividad de

138.45 S m⁻¹, comparado con los CNT sin modificar (45.01 S m⁻¹), logrando disminuir las pérdidas de activación, mejorando el desempeño de la celda con una producción de energía de 213 mW m⁻² (carga de 2 mg cm⁻²) comparable a la del catalizador de Pt/C (343 mW m⁻²).

Majidi et al., 2019, obtuvieron una densidad de potencia de 180 mW m⁻² con un catalizador de α-MnO₂ con estructura tetragonal, sintetizado por método hidrotérmico. Utilizaron aguas residuales como inóculo y un diseño de una CCM con una sola cámara.

Li et al., 2010, estudiaron el desempeño de una CCM con una única cámara (volumen de trabajo 0.6 L), evaluaron un catalizador de óxido de manganeso dopado con tres distintos metales; Co, Cu y Ce, comparándolo con un catalizador de Pt. Utilizando agua residuales de una planta tratadora como inóculo, generaron una DP de 180, 165 y 35 mW m⁻², respectivamente, una DP casi similar a la obtenida utilizando Pt (198 mWm⁻²).

Los resultados son similares a las DP generadas en este trabajo de investigación. Las CCM con mejor desempeño en las mejores condiciones de operación (pH 2, 0.8 M Na₂SO₄ y catalizador catódico de MnO₂) fueron la CCM-8g CN con una DP de 179.21 mW m⁻² y la CCM-3g de queroseno con una DP de 183.78 mW m⁻². Además, la energía extraída por el sistema es un indicativo de que se está llevando a cabo la oxidación (degradación) de la materia orgánica. Los lodos contaminados con petróleo también se utilizaron como inóculo natural de las bacterias, es decir, sin necesidad de generar colonias puras, lo que, aumentaría el costo total de la celda.

En este estudio se demuestra que el catalizador de MnO₂ depositado sobre fibra de carbón mejora notablemente el desempeño electroquímico de la celda, siendo una alternativa prometedora por su versatilidad, fácil síntesis, bajo costo y no tóxico con el medio ambiente. Además, presenta un desempeño similar o incluso mejor a lo encontrado en la literatura.

4.2.5. Evaluación del efecto del catalizador catódico comercial Pt/C

La CCM-8g chitin natural, en la cual se obtuvo el mejor desempeño electroquímico se sustituyó el catalizador de MnO_2 por un catalizador catódico comercial (CCC) de Pt depositado sobre tela de carbono (Pt/C) con un área geométrica de 0.0025 m^2 . El catalizador catódico se evaluó a $\text{pH } 2$, 0.8 M de Na_2SO_4 y O_2 del aire. Las curvas de polarización se realizaron por triplicado. Los cálculos se realizaron con respecto al área del cátodo.

En la figura 4.12 se observa un triplicado de las curvas de polarización (A) y sus respectivas densidades de potencia (B). La primera curva de polarización (curva ●) presenta menores pérdidas de voltaje, posiblemente más adelante en la segunda y tercera caracterización electroquímica ocurre una contaminación en la superficie del electrodo que hace que el voltaje disminuya cuando se repiten nuevamente la curva de polarización.

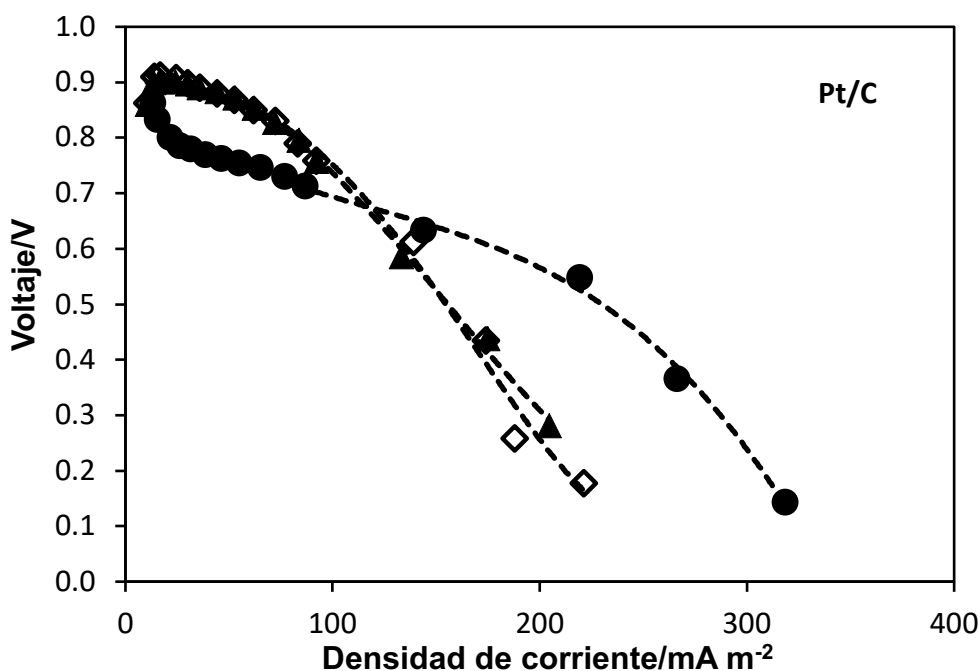
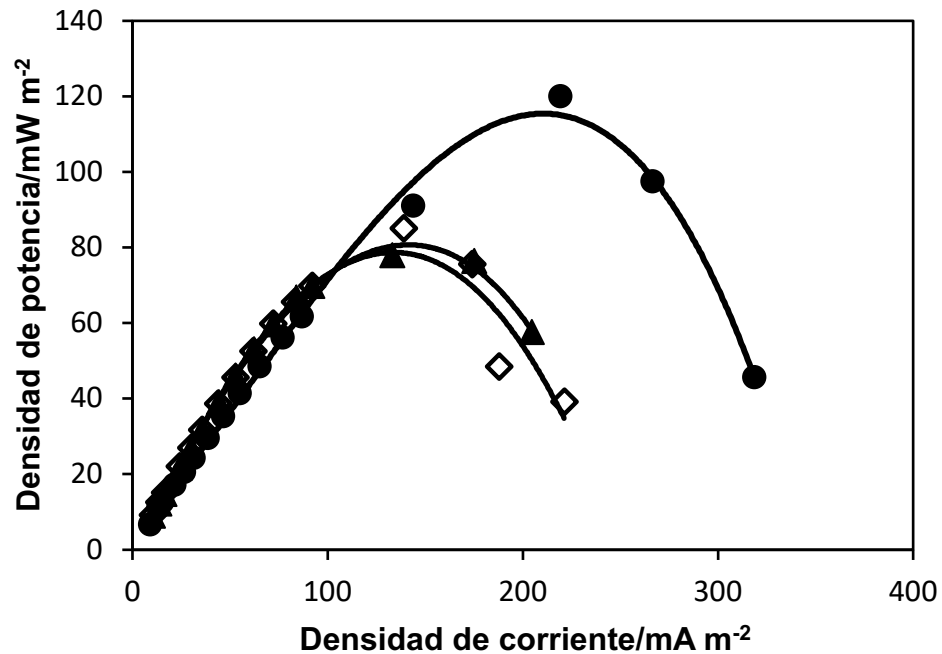


Figura 4.12. Evaluación electroquímica del catalizador catódico comercial Pt/C. Curvas de polarización por triplicado de la CCM 8g CN. Área del cátodo 0.0025 m^2 .

En la literatura se muestra que el Pt puede fácilmente contaminarse por varias sustancias químicas como por ejemplo: HS^{-1} , Cl^{-1} , CO (Zhang et al., 2011). Por lo tanto, su desempeño disminuye y la densidad de energía generada va disminuyendo de 120, 85 y 78 mW m^{-2} (figura 4.13) observándose un promedio de 90.70 mW m^{-2} y una densidad de corriente de



189.30 mA m^{-2} .

Figura 4.13. Evaluación electroquímica del catalizador catódico comercial Pt/C. Curvas de densidad de potencia por triplicado de la CCM 8g CN. Área del cátodo 0.0025 m^2

A continuación se muestra una comparación de las curvas de polarización y sus respectivas curvas de densidad de potencia de los dos distintos materiales catódicos empleados como catalizadores en este estudio; MnO_2 sintetizado en este estudio y Pt comercial. Las pruebas se realizaron en la configuración CCM 8g CN con 0.8 M de Na_2SO_4 y $\text{pH } 2$ (catolito). Las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados se promediaron.

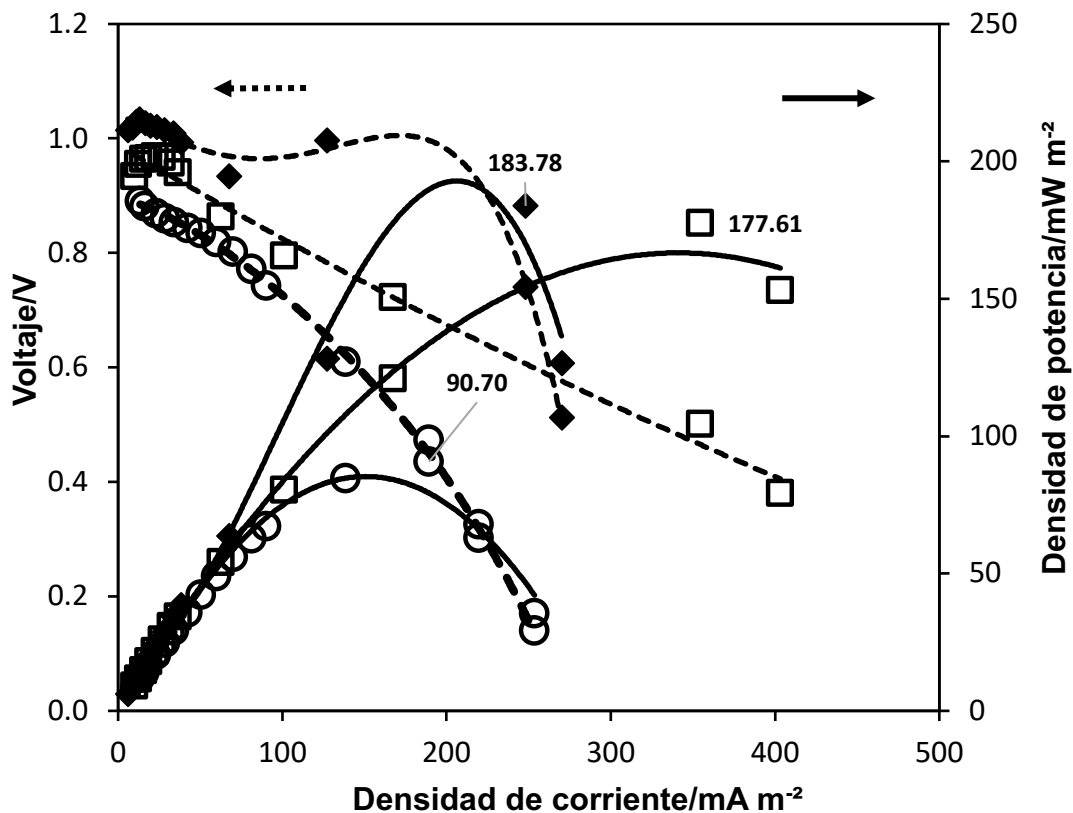


Figura 4.14. Curvas de polarización (- -) y densidad de potencia (—). Evaluación del catalizador Pt/C contra MnO₂. CCM 8g CN. ○ Pt/C (0.0025 m²); ◆ FC/MnO₂ (0.00785 m²); □ 3 g Q; FC/MnO₂; ánodo (0.00157 m²).

Utilizando un área del catalizador comercial de 0.0025 m² (curva — ○) se observó una energía de 90.70 mW m⁻² y una J de 189.30 mA m⁻², mientras que, con el catalizador de MnO₂ sintetizado en este estudio se observó un mayor desempeño electroquímico incrementando el área del cátodo dos veces más, logrando así, una DP de 177.61 mW m⁻² y una DC de 354.29 mA m⁻² (representado con los datos — □). Por otra parte, empleando la configuración CCM 3g de queroseno también presenta un adecuado comportamiento produciendo una DP de 183.78 mW m⁻² y una J de 248.14 mA m⁻² utilizando el catalizador catódico de MnO₂. El queroseno es una materia más compleja de degradar en comparación a la quitina, sin embargo, duplicando el área del ánodo (0.00157 m²) en comparación al área utilizada en la configuración CCM

8g CN (0.00785 m²) se lograron resultados similares. Se observa que el catalizador sintetizado en este estudio presenta mejor desempeño electroquímico en comparación al uso de un catalizador con base en Pt, por lo que, es una alternativa para aumentar la cinética de la RRO y simultáneamente incrementar la potencia entregada por la biocelda.

A continuación se muestra una tabla donde se resume los mejores resultados obtenidos bajo las óptimas condiciones de operación encontradas en este trabajo; *pH* 2, 0.8 M de Na₂SO₄, catalizador catódico MnO₂ y distinta materia orgánica con diferente carga. Todos los calculos se realizaron con respecto al área geometrica del cátodo (0.00785 m²). La mayor energía generada en la celda fue en la configuración 3 g Q con una DP de 183.78 mW m⁻², esta energía se logro también duplicando el área del ánodo (0.00157 m², color amarillo). Por otro lado, la configuración CCM-3g CN presento energía similar a la celda alimentada con queroseno, con una DP de 177.61 (área del ánodo de 0.00785 m², color azul), lo cual se atribuye a la facilidad de degradar este sustrato en comparación a un derivado del petróleo que por sus características es una materia compleja de degradar.

CCM	Catolito	<i>pH</i> catolito	Voltaje (V)	RI (Ω)	RE (Ω)	Densidad de corriente (mA m ⁻²)	Densidad de potencia (mW m ⁻²)
Control	Agua	7.85	0.240	1436	1760	17.39	4.18
3 g Q	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.740	141	380	248.14	183.78
9 g Q	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.883	359	1000	112.45	99.31
15 g Q	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.693	1281	1760	50.13	34.89
3 g CN	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.456	258	550	243.52	108.79
3g CN	Na ₂ SO ₄ 0.8 M Sin catalizador	2	0.331	1418	1	42.16	14.06
8 g CN	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.501	170	180	355.93	177.61
3 g CC	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.697	472	1000	88.74	61.99
8 g CC	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.416	329	380	121.42	50.57

3 g G	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.416	1252	1760	30.11	12.53
9 g G	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.523	1278	1760	37.82	19.78
15 g G	Na ₂ SO ₄ 0.8 M	2	0.572	1310	4600	15.84	9.07
8 g CN	Na ₂ SO ₄ 0.8 M Catalizador Pt/C	2	0.473	1086	1000	189.70	90.70

Tabla 7. Tabla comparativa con las mejores condiciones de estudio; pH 2, 0.8 M de Na₂SO₄. En todas las pruebas se utilizó el catalizador MnO₂.

El catalizador de MnO₂ sintetizado en este trabajo es parte fundamental para aumentar el desempeño de la biocelda, tal como se muestra en la tabla, aun en las mejores condiciones de operación sin el uso del catalizador, la energía producida por la celda es baja 14.06 mW m⁻² (CCM-3g CN, color verde) en comparación a cuando se utiliza el catalizador de MnO₂ (108.79 mW m⁻²), incluso el desempeño electroquímico es mejor en comparación al uso de un catalizador comercial TC/Pt (color lila).

El arreglo de múltiples ánodos también contribuye a que se genere un aumento en el flujo de electrones y haya una mayor estabilidad en la celda. Karra et al., 2013, estudiaron la estabilidad y robustez en una CCM tipo béntica con una configuración de múltiples ánodos (3) conectados a un único cátodo alimentando un sensor. Investigaron, que si un ánodo se dañaba toda la configuración se perdía, pero, si adicionaban varios ánodos, uno se dañaba, pero los demás seguían funcionando logrando así estabilizar la CCM. En el mejor de los casos con un arreglo de 9 cátodos conectados a 27 ánodos (cada cátodo conectado a 3 ánodos) donde todos los ánodos funcionaban obtuvieron una DP de 190 mW m⁻² y una J de 125 mA m⁻², mientras que para el arreglo de un cátodo unido a tres ánodos solo alcanzaron una DP de 20 mW m⁻², claro que, si un ánodo dejaba de funcionar la celda seguía produciendo energía.

Se podría esperar que incrementando el área de los electrodos se incrementaría la densidad de energía, sin embargo, Ewing et al., 2014, realizaron un estudio en el cual demostraron que la CCM no se puede escalar

incrementando el área de los electrodos, pero si lo lograron partiendo en pequeños segmentos el electrodo (ánodo y cátodo), formando pequeñas CCM individuales y con la ayuda de un sistema de control de energía hasta generar una DP de 2.33 mW con 4 ánodos y 4 cátodos con un área de 0.09 m² (área total 0.36 m² y volumen de trabajo de 240 L), mientras que, con una sola celda con un ánodo de 0.36 m², solo generaron 0.64 mW.

En general, si se utiliza un solo electrodo como ánodo, las bacterias no generan una biopelícula homogénea sobre toda la superficie del electrodo, participando pocas bacterias en la oxidación del sustrato, pero si se colocan pequeños ánodos cada biopelícula formada participa en la producción de energía.

4.2.6. Producción de energía

En la figura 4.15, se muestra la producción de energía y el voltaje obtenido durante 3 meses de operación de la CCM-15g Q, la cual estuvo conectada a una resistencia externa de 0.55 k Ω . Las mediciones fueron realizadas durante 5 días, los datos se registraban en una computadora cada 20 segundos, posteriormente a esos 5 días se dejaba 2 días a circuito abierto (resistencia externa 47 k Ω) para que la celda alcanzara el voltaje de equilibrio (0.670-0.730 V). Cuando se modificó el *pH* del catolito a 2 hubo un incremento en el potencial a circuito abierto ($R_{ext}=47$ k Ω) alcanzando un voltaje de 1.03 V, cuando se cambió la resistencia a 0.55 k Ω el voltaje se mantuvo durante una semana alrededor de 0.465 V, sin embargo después de una semana el *pH* aumentó a más de 7, por lo que el voltaje observado disminuyó nuevamente conservándose en un intervalo de 0.085 a 122 V durante los 3 meses de operación (*pH* sin modificar). Debido a la preservación del voltaje casi estable durante los 3 meses de operación de la celda se espera que la materia orgánica todavía no se degradaba por completo. En otros prototipos se ha encontrado que presentan una caída de voltaje por el agotamiento del sustrato, por lo cual, se requiere del nuevo suministro del sustrato para alcanzar

nuevamente el potencial (Samsudeen et al., 2016, Kather et al., 2018), sin embargo, con los lodos contaminados con hidrocarburos no se requirió un nuevo abastecimiento de combustible, por lo que, se genera energía en un amplio lapso de tiempo. Pero, también es importante mantener las condiciones de *pH* ácido para favorecer la RRO y obtener mayor energía.

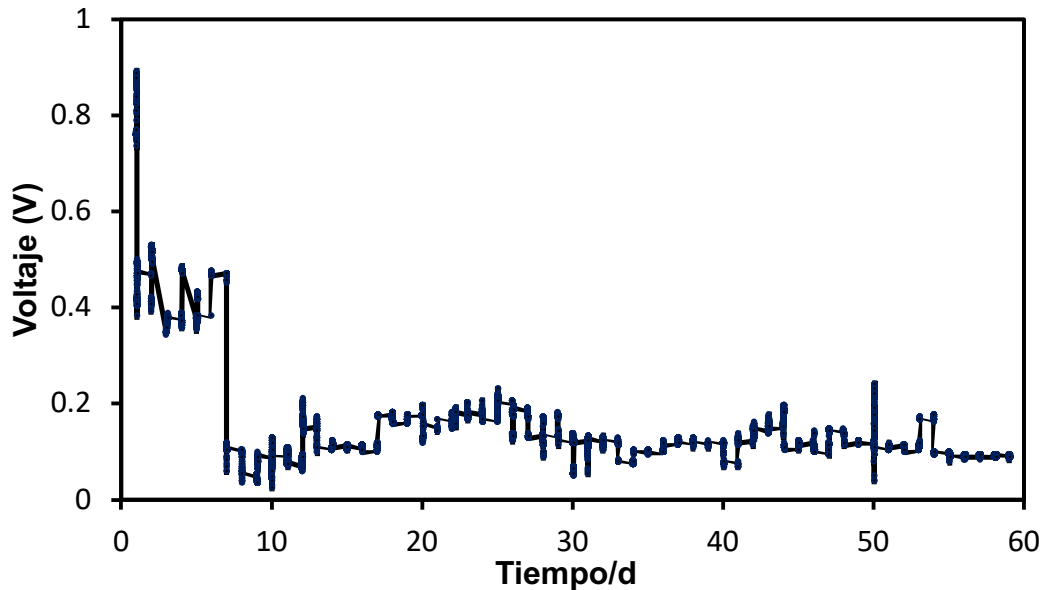


Figura 4.15. Producción de energía durante 3 meses de operación de la CCM-15g Q.

A continuación se resumen algunos de los trabajos que se han realizado hasta la actualidad para mejorar el desempeño de las CCM, modificando el diseño de la biocelda, el tipo de sustrato, los materiales de electrodo, la conductividad del anolito y catolito, distintos oxidantes, temperatura y catalizador empleados. En este estudio de trabajo durante la operación de la celda se analizó la conductividad y *pH* del catolito, catalizador catódico de MnO_2 y el efecto del sustrato y carga respecto a la producción de energía. Todos los parámetros actuaron de forma sinérgica siendo de mayor importancia el *pH* y catalizador catódico.

En la CCM-8g CN se obtuvo el mayor desempeño con una DP de 177 .61 $mW m^{-2}$, valor similar fue en la configuración CCM-3g Q con una DP de

183.78 mW m⁻², con una concentración de Na₂SO₄ 0.8 M, pH 2 y catalizador catódico MnO₂. Mayor energía generada en comparación a la encontrada en la literatura. Además, se ha eliminado el uso de una membrana intarcambiadora de cationes (MIC) o protones (MIP), reduciendo el costo de la celda y obteniendo mayor producción de energía con una configuración de celda simple y materiales económicos.

Diseño	Cátodo	Ánodo	MO	Volumen de trabajo (ml)	P/J (mWm ⁻² /mAm ⁻²)	% remoción/ % DQO	Ref.
UNA CAMARA, NAFION 117	Placa de grafito (59.5 cm ²)	Placa de grafito (59.5 cm ²)	Lodos de petróleo	500	53.11/343		Venkata Mohan et al., 2011
CCM-PLACAS PARALELAS, NAFION 117	carbón vítreo reticulado (25 cm ² , 60 ppin)	carbón vítreo reticulado (25 cm ² , 10 ppin)	Lodos de una industria azucarera/acetato + PBS	33-33	73/187		Fuentes et al., 2012
DOBLE CAMARA, MIC	Cepillo de carbón/ Ferricianuro de potasio + PBS	Placa de grafito (d=3 cm)	Efluente de una CCM + suspensión de magnetita		734		Panpan et al., 2018
DOBLE CAMARA, NAFION 117	Cepillo de carbón-airada (100 ml min) + PBS	Cepillo de carbón	Lodos activados de una planta de tratamiento de agua + PBS	100-100	105.2 Wm ⁻³ /240.8 Am ⁻³		Zhan et al., 2017
FORMA DE BOTELLA	Papel de carbón (10 cm ²) + 0.35 mg cm ⁻²	Fibra de carbón (45 cm)	Sedimentos de una Bahía	250-250	74		Farzaneh et al., 2007
DOBLE CAMARA (BOTELLAS DE VIDRIO), MIC	Carbón felt (20 cm ²) + 0.50 cm ² /g + O ₂ BP	Carbón felt (40 cm ²) (Rivoflavina y Antraquinona como mediador redox)	Lodos de un tratamiento de aguas residuales + 4 HA (fenentrenol, Benceno) + 1 % w/v NaCl.	200-200	1.15 (40 °C) -26.17	97.10-89.1	Adelaja et al., 2015

CCM DE SEDIMENTOS-CILINDRO (D=10, H=50 CM)	Cepillo de fibra de carbón (d=10, h=5 cm)	Cepillo de fibra de carbón (d=10, h=10 cm)		87.85		Xu et al., 2017
CCM DE SEDIMENTOS-CILINDRICA (D=10, H=15 CM)	Fibra de carbón/Mn O ₂ (d=10 cm)	Fibra de carbón (d=10 cm)	Sedimentos contaminados con petróleo (laguna de Coatzacoalcos + 8 g chitin natural)	628-236	179.21/355.93	Este estudio
CCM DE SEDIMENTOS-CILINDRICA (D=10, H=15 CM)	Fibra de carbón/Mn O ₂ (d=10 cm)	Fibra de carbón (d=10 cm)	Sedimentos contaminados con petróleo (laguna de Coatzacoalcos + 3 g queroseno)		183.78/248.14	Este estudio

Tabla 8. Tabla comparativa de distintas configuraciones de CCM, sustratos como MO, materiales de electrodo y potencia entregada por la biocelda.

La distancia entre los electrodos es un parámetro muy importante, entre más corta sea la distancia entre los electrodos (cátodo-ánodo) menor será la resistencia interna, por lo tanto, la energía de salida aumentara. Sin embargo, En la literatura se ha reportado que, colocando los electrodos a una distancia corta, el resultado es adverso ocasionando una disminución en la energía obtenida por el incremento en la difusión del oxígeno del cátodo hacia el ánodo, produciendo la inhibición de las bacterias anaerobias (Kather et al., 2018). En este estudio se mantuvo una distancia de 4 cm entre los electrodos, donde; a) se conservan las condiciones anaerobias, b) sirve como una barrera para la difusión de sales del cátodo hacia el ánodo y c) sustituye a la membrana intercambiadora de iones, disminuyendo así el costo de la celda. Por lo que, se corrobora la información que hay en la literatura, en este estudio se demostró que la biocelda presentó un buen desempeño electroquímico con 4 cm de distancia entre los electrodos. Además, mejorando los parámetros de operación (pH, conductividad y catalizador catódico) se logro disminuir la resistencia interna desde 1436 Ω (celda control) hasta 170 Ω (CCM 8g CN).

Tal como se observa en la tabla, la configuración CCM 8g CN fue la biocelda que mejor desempeño electroquímico presentó. Debido a que los procesos de biodegradación pueden mejorarse mediante bioaumentación (Chandrasekhar et al., 2012) y bioestimulación (Morris et al., 2009) o una combinación de ambos procesos, el chitin es una alternativa para mejorar las condiciones de crecimiento bacteriano mediante bioestimulación para la degradación de hidrocarburos de petróleo, y al mismo tiempo ya que el chitin natural es extraído de residuos de cascara de camarón también es una alternativa que resuelve la problemática que causa las grandes cantidades de residuos generados en la industria pesquera y que ocasionan la contaminación de las costas. Poco estudio hay en el uso de residuos o aguas residuales de la industria pesquera utilizada como MO en una CCM. Jayashree et al., 2016, estudiaron el tratamiento de aguas residuales del procesamiento de mariscos utilizando una CCM en forma tubular con flujo ascendente y una distancia de 2 cm entre los electrodos (fieltro de fibra de carbono activado) obteniendo una generación de energía de 105 mW m^{-2} a una velocidad de carga de 2.57 g d^{-1} y una remoción de la demanda química de oxígeno total (DQO) del 83 %. Por otra parte, no hay reporte sobre el uso de CCMS para la biodegradación de sedimentos contaminados con petróleo real modificado con chitin natural o comercial y simultánea recuperación de energía.

4.2.7. Voltametría de barrido lineal

El potencial de barrido lineal (LSV) es una técnica electroquímica útil para medir la velocidad a la cual se lleva a cabo una reacción en una celda electroquímica. La técnica consiste en aplicar al electrodo de trabajo con respecto al electrodo de referencia un barrido de potencial que varía en función del tiempo, con el fin de generar una reacción de transferencia de carga en la interface electrodo-disolución. Simultáneamente, se produce una corriente eléctrica medible que pasa entre CE y ET, como respuesta a dicho estímulo.

La respuesta electroquímica se registra en un voltamograma I vs V (corriente vs potencial) (Greef et al 2001).

En La figura 4.16 se muestra el voltamograma I vs V de la CCM 8g CN hacia la reacción de reducción de oxígeno realizadas a pH 2, 0.8 M de Na₂SO₄ y O₂ del aire como oxidante (catolito), como se describe en la sección 3.7. El voltamograma muestra cinco voltametrías lineales, donde, se rectifica los resultados obtenidos en las curvas de polarización. La FC sin catalizador (SC) a pH alcalino (8.25) muestra las menores densidades de corriente (—) -0.04 mA m² a un voltaje de 0.4 V, mientras que, modificando el pH a 2, la densidad de corriente aumenta 2.5 veces (-0.1 mA m²). Por otra parte, depositando una

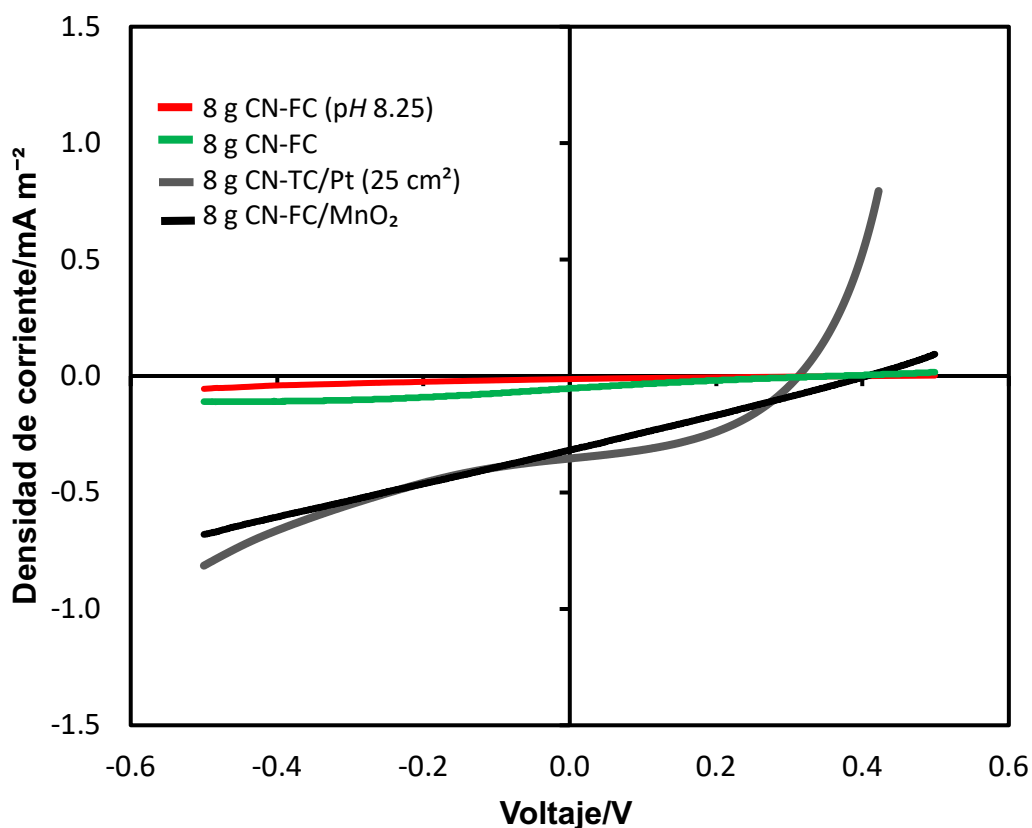


Figura 4.16. Voltamograma de la configuración CCM-8g CN hacia la RRO. Evaluación del catalizador. — FC/SC (pH 8.25); — FC/SC (pH 2; 0.8 M Na₂SO₄); — TC/Pt (25 cm²; pH 2; 0.8 M Na₂SO₄); — FC/MnO₂ (pH 2; 0.8 M Na₂SO₄).

capa de catalizador de MnO_2/FC tipo birnessita (—) presenta similar desempeño electroquímico que el material comercial TC/Pt (—) con una densidad de corriente de -0.6 y -0.609 mA m^{-2} , respectivamente.

La RRO sobre el material de Pt involucra un camino de 4 e^- hacia la RRO (Farahani et al., 2018) como se muestra en la reacción 1. La Voltametría lineal el catalizador MnO_2/FC mejoró cinéticamente la RRO con una densidad de corriente similar a la del Pt , por lo que, muy probable procede a través de un mecanismo de 4 e^- .

Los resultados de voltametría corroboran los resultados de las curvas de polarización sobre la importancia del catalizador, aun bajo las mejores condiciones de operación ($\text{pH } 2$, $0.8 \text{ M Na}_2\text{SO}_4$), pero sin el uso del catalizador (—) el desempeño total de la celda es bajo (-0.1 mA m^{-2}), mientras que, bajo las mismas condiciones, pero con el catalizador tipo birnessita la reducción del aire aumento hasta 6 veces (-0.6 mA m^{-2}) por lo que, el uso del catalizador es un parámetro crucial para el desempeño total de la biocelda.

4.4. Análisis morfológico por FESEM

Los electrodos catódicos analizados mediante FESEM fueron denominados; FC , MnO_2/FC y Pt/C .

4.4.1. Análisis morfológico de FC

En la figura 4.17, se muestra las características morfológicas del material FC que se utilizó como material soporte (ánodo y cátodo) en las CCMs. La FC presenta una forma alineada con muchos filamentos, cilindros (a) con una superficie limpia, sin impurezas por su previa limpieza; en (b) se observa un solo filamento de carbón con una superficie rugosa, lo que, permite que las bacterias se adhieran fuertemente a la superficie de la FC (ánodo), mientras que, en el cátodo la superficie es adecuada para que haya una buena nucleación y crecimiento de una capa heterogénea de partículas de catalizador de MnO_2 para aumentar la cinética de la RRO.

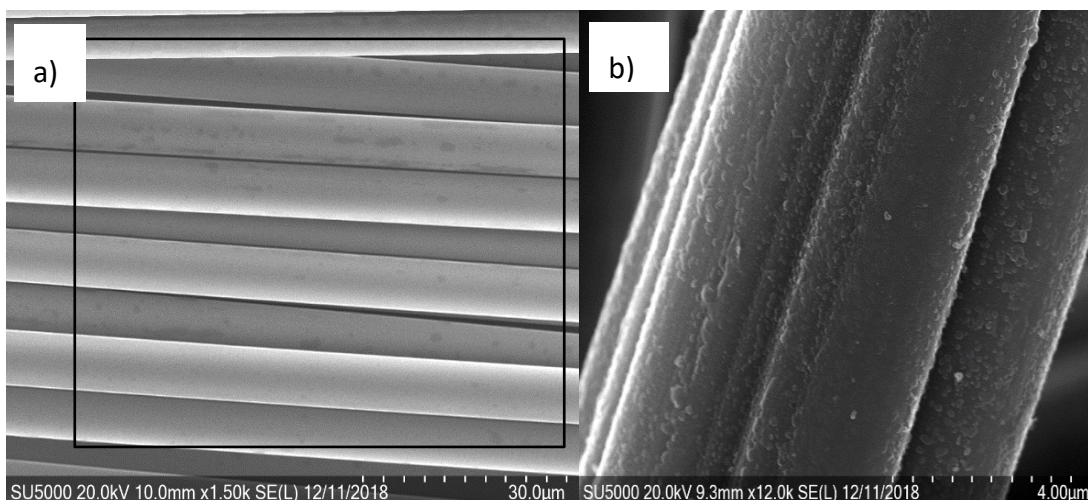


Figura 4.17. Microscopia de FESEM de fibra de carbón como material de soporte (ánodo y cátodo) en las CCMs. a) FC; b) Un solo hilo de FC.

4.4.1.1. Análisis elemental de la FC

En la tabla 9, se observa el análisis químico elemental de FC como material de soporte constituido de carbono con 91.5 % en peso (% p), sin impurezas.

Cátodo FC	
Elemento	Peso (%)
Carbón	91.48
Oxígeno	8.52
Total	100

Tabla 9. Análisis elemental de la FC.

4.4.2. Análisis morfológico de MnO₂/FC

En la figura 4.18, se muestra la morfología del catalizador de MnO₂ depositado espontáneamente sobre la FC de una solución 0.1 M de KMnO₄ a pH 2 a 70 °C . a) se observa la formación homogénea de partículas del catalizador MnO₂ sobre la superficie de la FC; b) se muestra el catalizador tipo birnessita en forma redonda, con tamaño de partícula entre 1 y 0.25 µm,

también existe la formación de varias aglomeraciones sobre toda la superficie c) y d).

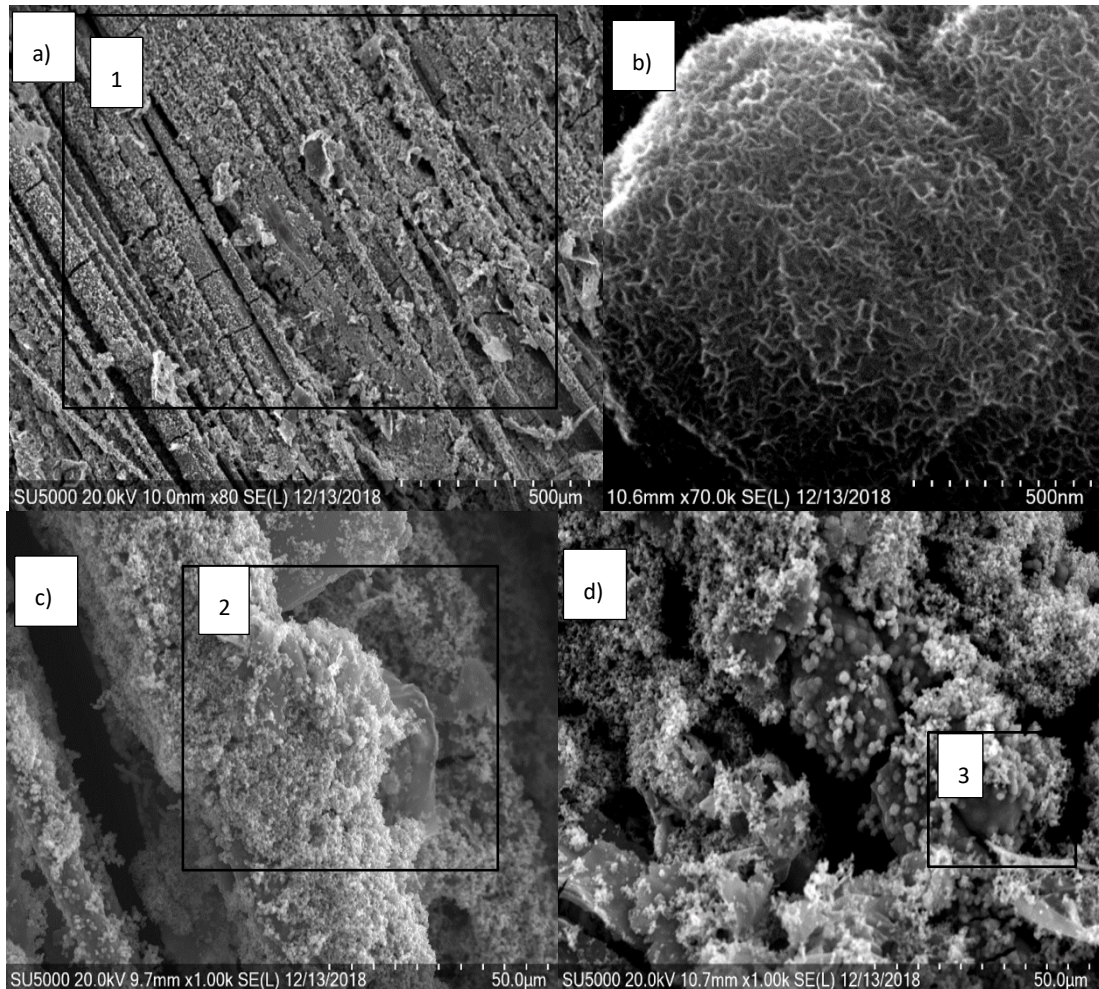


Figura 4.18. Microscopia de FESEM del catalizador catódico FC/ MnO₂ sintetizado en este trabajo. a) Magnificación de 500 µm; b) Magnificación de 500 nm; c) Magnificación de 50 µm; d) Magnificación de 50 µm, distinta zona. Análisis elemental; zonas 1), 2),3).

4.4.2.1. Análisis químico elemental MnO₂/FC

El análisis químico elemental confirma la formación de cristales de MnO₂ encontrándose un % p de los elementos; Mn (62.7), O₂ (22.8) y C (2.6). Se encontro K con 11.9 % p, se le atribuye al proceso de síntesis por el uso del reactivo de KMnO₄. Se realizó un análisis en tres distintas zonas del

catalizador MnO_2/FC (ver figura 4.27), el porcentaje en peso muestra la presencia de los elementos Mn y O_2 en las tres zonas de análisis, lo que, indica la formación homogénea de partículas de MnO_2 sobre la superficie de la FC (ver tabla 10).

Cátodo FC/ MnO_2			
Elemento	Análisis (1)	Análisis (2)	Análisis (3)
	Peso (%)		
Manganeso	62.7	79.39	60.23
Oxígeno	22.8	7.87	26.31
Carbón	2.6	2.99	1.88
Potasio	11.9	9.75	11.57
Total	100	100	100

Tabla 10. Análisis elemental del catalizador MnO_2/FC .

4.4.3. Análisis morfológico de Pt/C

En la figura 4.19, se muestra el catalizador catódico comercial Pt/C; a) se observa el carbono (tela de carbono) como material de soporte con una capa gruesa de Platino (catalizador); b) muestra una película homogénea de catalizador de Pt con formación de grietas.

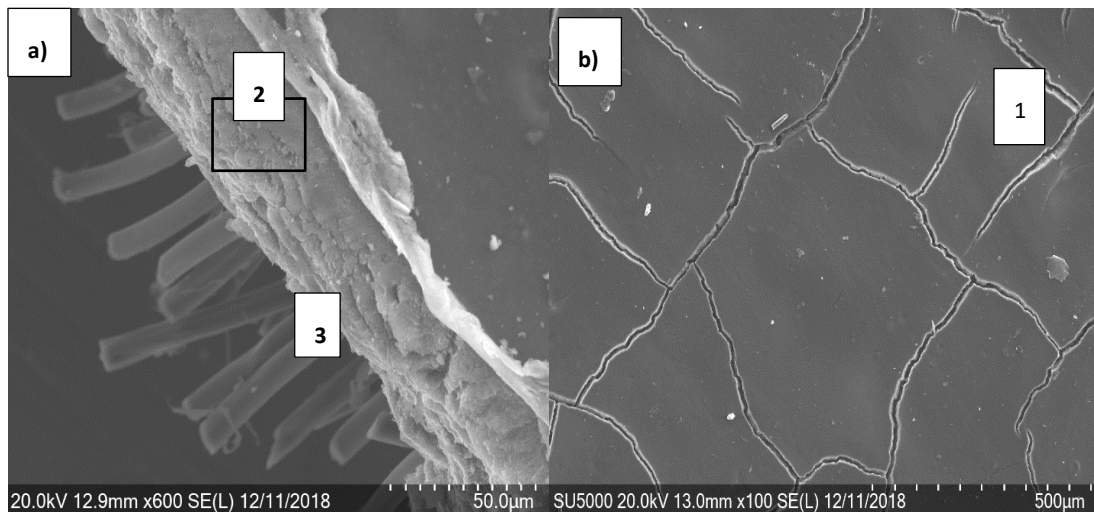


Figura 4.19. Microscopia de FESEM de tela de carbón como material catódico comercial: a) TC/Pt; b) Película de Pt. Análisis elemental: 1) Análisis general de la película; 2) Análisis de la subpelícula; 3) Análisis de un hilo de la TC.

4.4.3.1. Análisis químico elemental del catalizador Pt/C.

En la tabla 11, se muestra el porcentaje en peso del catalizador Pt/C, analizando 3 distinta zonas; en la zona 1 se realizó un análisis general superficial de electrodo, se observó un 38.67 % de C y 46.36 % de Pt (% en peso). En la zona 2, la subcapa del material fue analizado, encontrándose 31.64 % C y 64.28 % Pt, mientras que en la zona 3, se muestra el material de soporte (tela de carbón) del catalizador.

Cátodo Pt/TC			
Elemento	Análisis (1)	Análisis (2)	Análisis (3)
	Peso (%)		
Carbón	38.67	31.64	46.17
Oxígeno	14.97	4.08	53.83
Platino	46.36	64.28	
Total	100	100	100

Tabla 11. Análisis elemental del catalizador comercial TC/Pt.

4.5. Caracterización cristalografica por DRX

en la figura 4.20 se muestra el difractograma que se realizó a el material MnO₂/FC, el cual se evaluó a tres distintas intensidades para obtener información a mayor profundidad. Un pico de difracción a 24.7 ° indica la formación de MnO₂ tipo birnessita (JCPDS No. 42-1317) con los planos (002), el cual, se ha identificado anteriormente como birnessita por Ma et al., 2007. Existen otros dos picos a 44.2 ° y 52.7 ° (*), que corresponden a la formación de las particulas de MnO₂ de tipo amorfo.

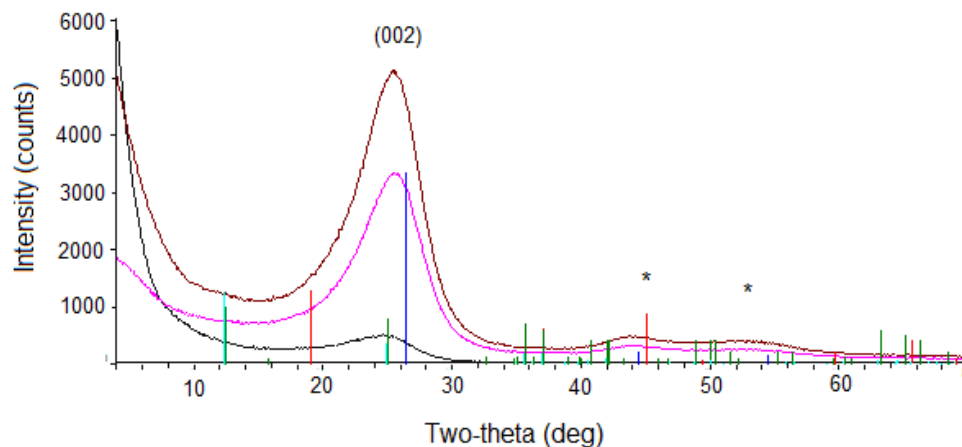


Figura 4.20. Análisis del catalizador MnO₂/FC por DRX.

4.3. Análisis de la comunidad microbiana

Después de la caracterización electroquímica se extrajo sedimento de la biopelícula del ánodo y del anolito para la extracción de DNA. Las muestras fueron tomadas de las CCMs 8g CC, 8g CN y 3g Q, las cuales presentaron mejor desempeño electroquímico. Las muestras extraídas del sedimento se clasificaron como; S1, S2 y S3, y de la biopelícula E1, E2 y E3, correspondientes a las celdas 8 g de chitin comercial, 8g de chitin natural y 3 g de queroseno, respectivamente.

4.3.1. Extracción de DNA total

Se realizaron 6 extracciones de DNA mediante el protocolo del kit de extracción Powersoil® DNA Isolation Kit (MO Bio Laboratories, Inc). La concentración de DNA total extraído de cada muestra se presenta en la siguiente tabla. En el gel de electroforesis (figura 4.21) se muestran las bandas menos intensas que indican baja concentración de DNA (ver tabla 12) para las muestras biopelícula del ánodo de las celdas E3 y E2, mientras que, las demás presentaron una mayor concentración (bandas más intensas).

Muestra	Descripción	Concentración (ng/μl)
S1	Sedimento anódico de la CCM-8g CC	18.9
S2	Sedimento anódico de la CCM-8g CN	22.2
S3	Sedimento anódico de la CCM-3g Q	24.2
E1	Biopelícula del ánodo de la CCM-8g CC	21.6
E2	Biopelícula del ánodo de la CCM-8g CN	6.7
E3	Biopelícula del ánodo de la CCM-3g Q	13.8

Tabla 12. Cuantificación de extracción de DNA.

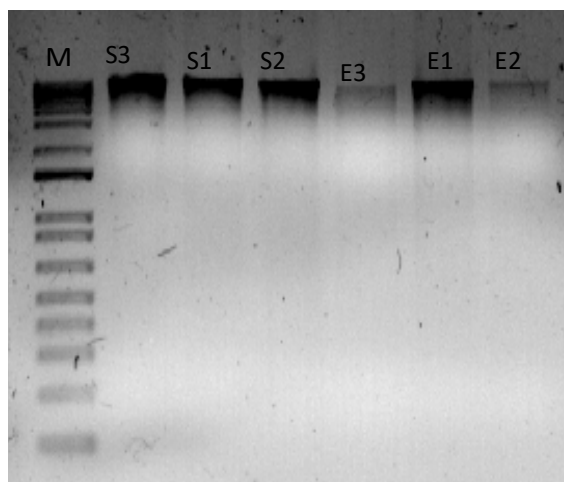


Figura 4.21. Extracción de DNA.

Después de la extracción de DNA se realizó la amplificación del gen 16S rRNA por PCR. En la figura 4.22 y 4.23, se observa el gel de electroforesis de los productos de PCR de las extracciones para análisis de bacterias extraídas de la biopelícula del ánodo (E1, E2 y E3) y del sedimento (S1, S2 y S3), respectivamente. Donde, se observa mayor intensidad en las bandas de los electrodos, lo que indica una mayor cantidad de bacterias en la superficie del electrodo que en el sedimento, lo cual es importante para el desempeño electroquímico de la biocelda, facilitando la transferencia de electrones directa de las bacterias al electrodo.

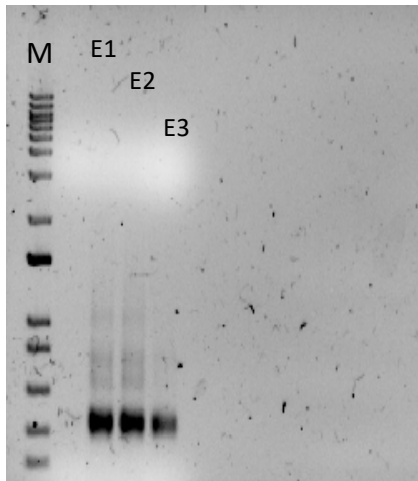


Figura 4.22. Electroforesis de la biopellicula.

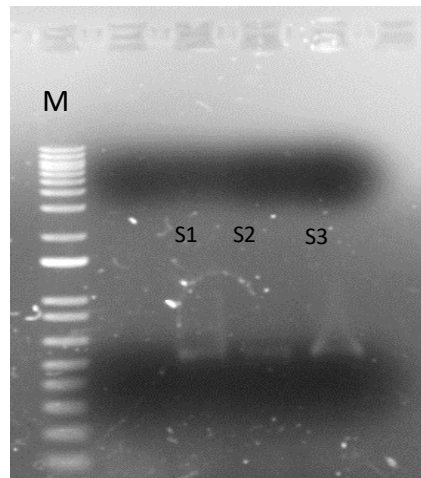


Figura 4.23. Electroforesis del sedimento.

4.3.2. Análisis de la comunidad bacteriana

En la tabla 13, se muestran los resultados obtenidos de la asignación taxonómica OTU'S (Operational Taxonomic Unit, por sus siglas en inglés) de los diferentes niveles taxonomicos (Phyla, Clase, Orden, Familia, Género y especie) de la biopellicula y del sedimento de las configuraciones; CCM-8g CC, 8g CN y 3g Q.

Muestra	Filo		Clase		Orden		Familia		Género		Especie	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
E1	1.15	4.10	1.10	4.45	0.00	4.27	1.04	3.71	1.10	3.93	2.77	7.03
E2	0.23	4.30	0.21	4.70	0.21	4.49	0.18	3.95	0.17	4.17	0.42	7.57
E3	0.24	4.30	0.22	4.70	0.31	4.55	0.18	4.02	0.17	4.20	0.80	7.51
S1	0.49	4.24	0.46	4.63	0.54	4.49	0.50	4.10	0.46	4.07	1.17	7.40
S2	0.44	4.25	0.40	4.65	0.46	4.43	0.41	3.99	0.41	4.05	1.01	7.43
S3	0.70	4.19	0.65	4.58	0.81	4.43	0.61	4.04	0.60	4.03	1.73	7.27

Tabla 13. Clasificación por nivel taxonomico con numero de OTU's. A-Dominio Arquea; B- Dominio Bacteria.

Las muestras analizadas tanto del sedimento (S1, S2 y S3) como de la biopelícula (E1, E2 y E3) para las 3 configuraciones de las celdas, muestran una abundancia mayor al 96 % del reino bacterias, también se encontró una abundancia menor al 5 % del reino arqueas (ver figura 4.24). Se ha indicado que las arqueas pueden extraer electrones del ánodo para realizar sus propios procesos metabólicos, por lo que, es menos la cantidad de electrones transferidos hacia el ánodo (Barbato et al., 2017), sin embargo, en los sedimentos contaminados con petróleo tanto en el sedimento como en el ánodo, la concentración de metanógenos fue baja.

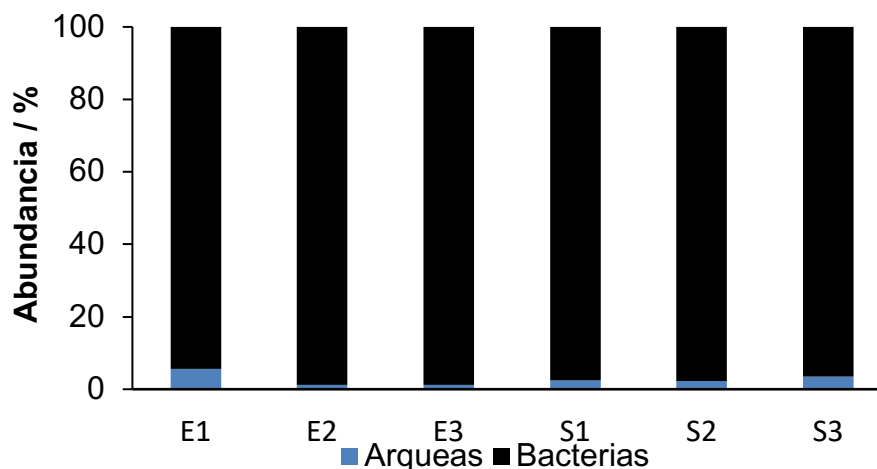


Figura 4.24. Abundancia relativa de la composición de la comunidad microbiana del sedimento (S) y Biopelícula (E).

Los fragmentos del gen 16S rRNA amplificados por PCR y secuenciación de bandas dominantes mostraron una gran diversidad filogenética identificando varios grupos bacterianos revelados a partir de las unidades taxonómicas operacionales, y se muestran en la figura 4.25 para el filo del dominio bacterias para la configuración de las celdas; CCM 8g CC, 8g CN y 3g Q. El amplio análisis taxonomico releva que el ánodo (E1, E2 y E3) para las 3 configuraciones fue dominado por **Proteobacteria** 22.85; 24.24; 38.48 %, **Firmicutes** 15.82;13.53;2.44, **Bacteroidetes** 13.50;32.87;5.03 %, **Acidobacteria** 11.44;2.71;5.70 %, Actinobacteria 3.21; 3.95; 13.28 %, Chloroflexi 2.95;2.70;11.26 %, Synergistetes 8.03;4.29 % (E1 y E2), Patescibacteria 3.10;3.94;3.26 % y menor al 2 % otras bacterias (ver figura 4.19). Siendo de mayor abundancia del filo Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y Acidobacteria.

El filo de bacterias en el sedimento fue similar al de la biopelícula (S1, S2 y S3) con **Proteobacteria** 22.99; 29.25; 31.35 %, Firmicutes 4.57;13.56;3.66, Bacteroidetes 5.70;17.07;5.19 %, Acidobacteria 7.82;4.28;7.88 %, Actinobacteria 2.04; 1.02; 2.26 %, **Chloroflexi** 18.24;9.58;22.92 %, **Nitrospirae** 18.81, 11.11;14.01 Patescibacteria 9.49;3.35;0.46 %, el resto de las bacterias son menor al 2 %. Siendo Proteobacteria el filo dominante seguido de Chloroflexi y Nitrospirae.

Actinobacteria podrían desempeñar la función de reducción de nitrato (Chen et al., 2008). Mientras que, bacteroidetes se ha reportado en biopelículas electroquímicamente fermentativas debido a su capacidad para biodegradar proteínas poliméricas y carbohidratos. Por otra parte, el filo firmicutes frecuentemente es asociado a la actividad electrogénica (Rago et al., 2018), al igual que los microorganismos synergistetes, bacteroidetes y

castellaniella que pueden contribuir en conjunto para producir electricidad (Guo et al., 2016).

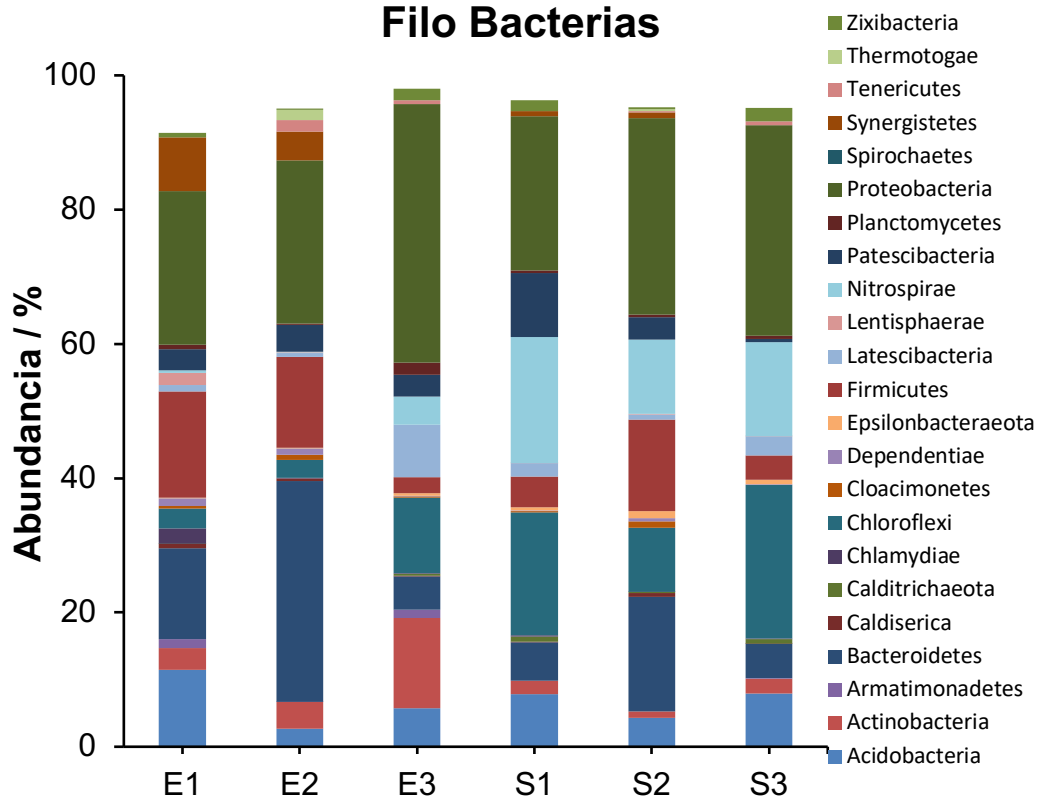


Figura 4.26. Abundancia relativa de filo bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento.

Las arqueas son conocidas como metanógenas y persisten en el sistema en poca abundancia menor al 5 % con un 5.75, 1.15 y 0.57 % del filo arqueas para Euryarchaeota, correspondientes a la biopelícula (E1, E2, E3) de las celdas 8g CC, 8g CN y 3g Q, respectivamente. Para el análisis del sedimento fue de 2.30, 1.95 y 2.51% para S1, S2 y S3 (figura 4.27). Thaumarchaeota esta presente en bajo porcentaje en todas las celdas con una abundancia menor al 0.03 %, microorganismos de este filo han sido relacionados con el ciclo del nitrógeno (Sotelo B. 2018).

Filo Arqueas

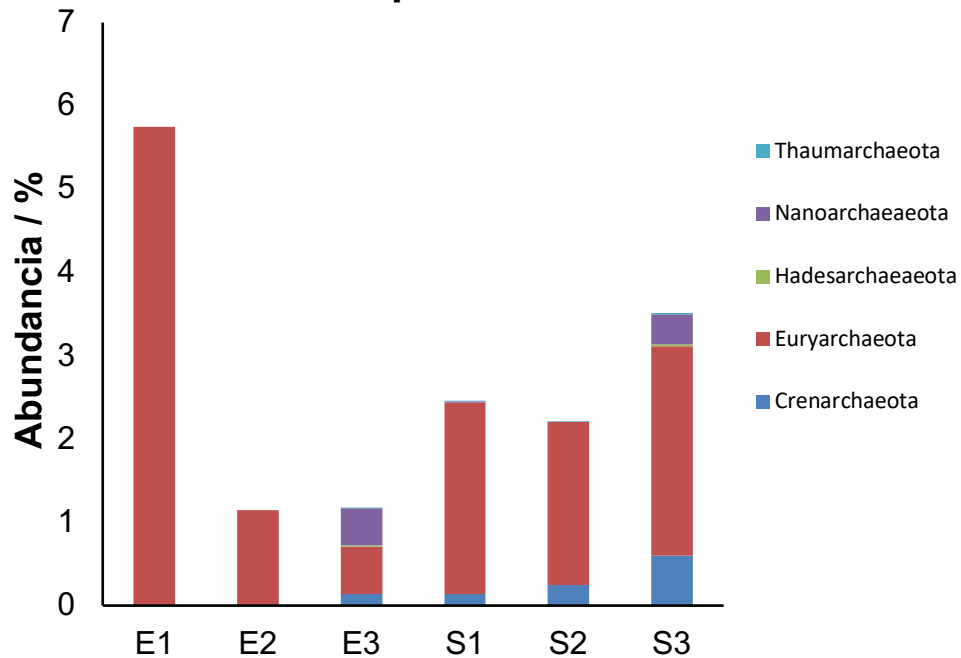


Figura 4.26. Abundancia relativa de filo arqueas para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento.

El orden de los desulfobacteriales, se encuentra la abundancia relativa de 12.98, 10.86, 15.60, 5.49, 8.66 y 17.39 % correspondientes al análisis de la biopelícula E1, E2, E3 y análisis del sedimento S1, S2 y S3 de la configuración de la celda 8g CC, 8g CN y 3g Q, respectivamente (ver figura 4.27). En todas las celdas se encuentra presente este microorganismo perteneciente a la familia desulfobulbaceae que ya se ha reportado como uno de los pocos organismos con respuestas de expresión génica a estímulos de transferencia de electrones extracelularmente aplicados (Roustazadeh et al., 2017).

Microorganismos de la clase Deltaproteobacteria son conocidos como bacterias anaerobias las cuales potencialmente reducen iones metal/sulfato. Varias cepas de Deltaproteobacterias son conocidas por generar corriente (transferencia de electron directa) en CCM como *Geobacter* spp y

Desulfuromonas sp y utilización del ánodo como el aceptor de electrones (Ewing et al., 2014; Freguia et al., 2010).

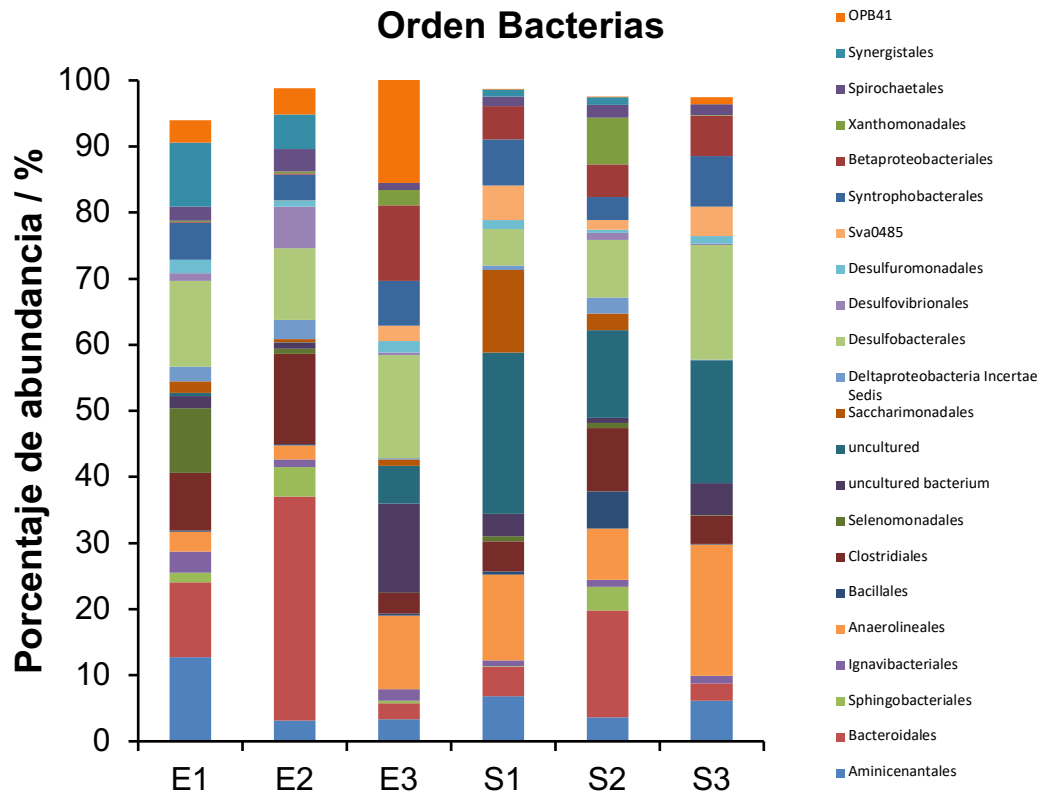


Figura 4.27. Abundancia relativa de orden bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento.

En la figura 4.28 se muestra la abundancia relativa del género bacterias. Se encontró un pequeño porcentaje del género desulfovibrio de la clase proteobacteria con abundancia de 2.04, 2.93, 3.58, 1.12, 3.80 y 2.04 % para E1, E2, E3, S1, S2 y S3, respectivamente, la cual es una bacteria reductora de sulfato y previamente se ha reportado que degrada compuestos orgánicos de Diesel (C8-C25) (Pratiksha et al., 2016; morris et al., 2009).

La presencia de desulfomicrobium fue interesante solo en la muestra de la biopelícula (E2) del ánodo de la configuración 8 g CN (7.72 %), mientras que, para el resto de las muestras fue menor al 1.5 %, siendo ausente en en

sedimento (S1) de la configuración 8g CC, y es una bacteria exoelectrogénica muy conocida (Rago et al., 2017).

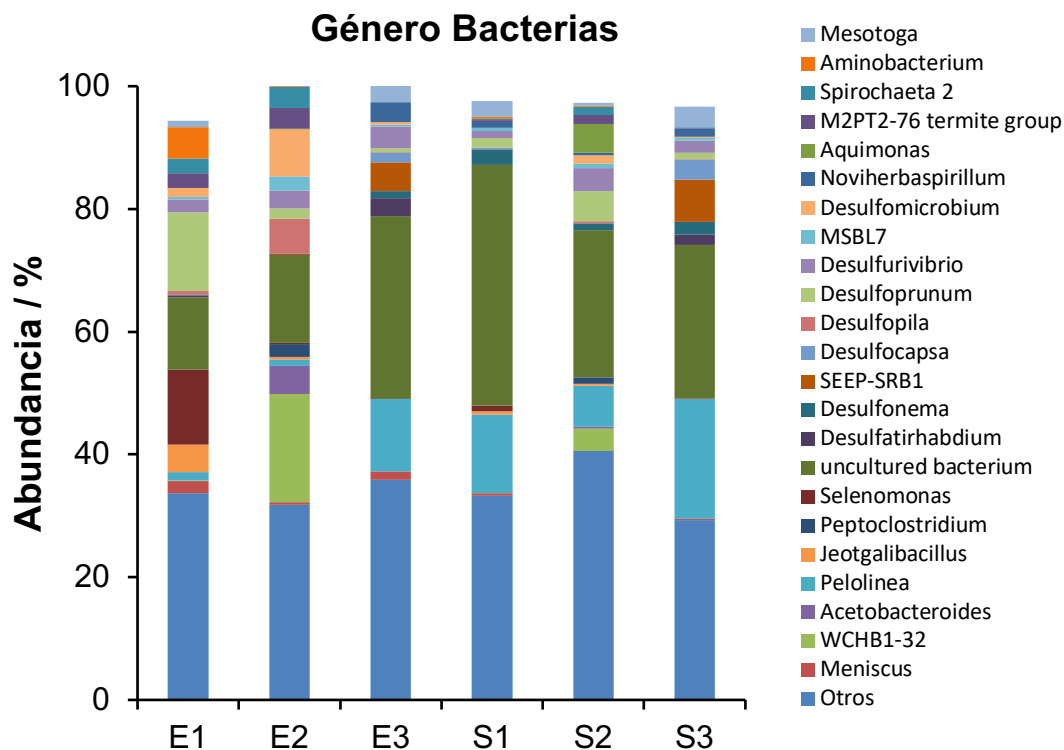


Figura 4.28. Abundancia relativa del género bacterias para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento.

La amplia diversidad de bacterias que evolucionan en un reactor es en parte por las condiciones de operación, demostrando la versatilidad de la bacteria ya sea para transferir electrones a el electrodo o pueden estar en el reactor como resultado de una relación simbiótica con las bacterias productoras de electricidad.

En la figura 4.29 se muestra la abundancia relativa del género arqueas donde arqueas methanoregula presentó mayor abundancia en la configuración 8g CC en la biopelícula (E1) con 5.81 %, mientras que en E2 fue de 0.7 % y E3 fue nulo. En el caso del sedimento, la abundancia fue de 0.52, 0.43 y 0.62 % para S1, S2 y S3 (8g CC, 8g CN y 3g Q), respectivamente. Archaeon uncultured predominó en el sedimento con una abundancia relativa de 1.69,

1.37 y 2.91 para S1, S2 y S3, mientras que, en la biopelícula fue casi nula con 0.01, 0 y 0.81 para E1, E2 y E3, respectivamente. Methanosaeta y methanosarcina estuvieron presentes tanto en la biopelícula como en el sedimento a excepción de la biopelícula (E2) de la configuración 8g CN para methanosaeta, mientras que methanosarcina no estuvo presente en la biopelícula (E3) para la configuración 3g Q. Se ha reportado que las arqueas methanosarcina y methanosaeta son metanogénicas acetoclásticas y se asociaron a la transferencia directa de electrones entre especies con la bacteria exoelectrogénica Geobacteraceae contribuyendo a la mayor producción de energía (Rago et al., 2017, Rago et al., 2018). La arquea Methanoregula produce metano a partir de H_2/CO_2 (Braüer et al., 2011).

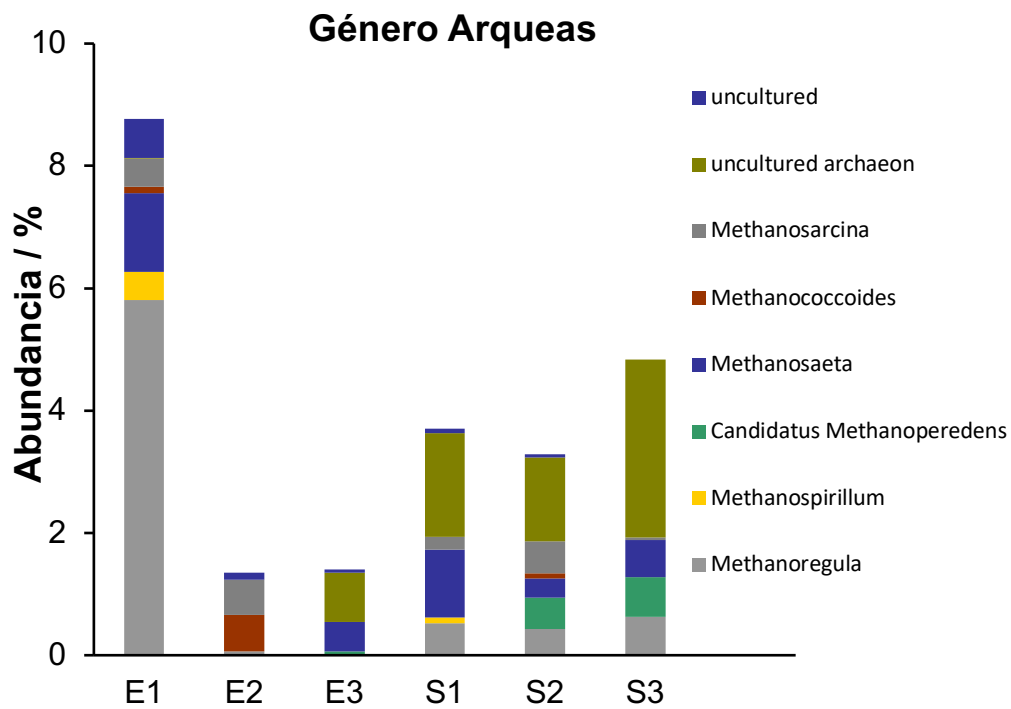


Figura 4.29. Abundancia relativa del género arqueas para la configuración de las celdas 8g CC (E1-S1), 8g CN (E2-S2) y 3g Q (E3-S3). E-Biopelícula, S-Sedimento.

CONCLUSIONES

1. Por medio de un diseño simple de una CCMS se construyeron 11 celdas, donde se utilizó SCP como MO inicial más la adición de 3 distintos tipos de MO; queroseno, gasolina y chitin. Por su simplicidad el chitin favoreció la bioestimulación que aumento el desempeño electroquímico de la celda, en comparación al queroseno y gasolina que poseen una estructura compleja.
2. En las bioceldas se modificó la conductividad del catolito con 4 distintas concentraciones de Na_2SO_4 ; 0.05, 0.2, 0.5 y 0.8 M, obteniendo mejor desempeño a 0.8 M. También, se vario el *pH*; 8 (inicial), 6, 4 y 2, se generó mayo energía a *pH* 2.
3. Se utilizó un catalizador catódico birnessita/C. Aún en las mejores condiciones de operación (0.8 M y *pH* 2) sin el catalizador la DP fue

baja (14.06 mW m^2), mientras que con catalizador la DP incremento casi 8 veces con 108.79 mW m^2 (evaluación en la CCM 3g CN).

4. utilizando SCP como MO se obtuvo una DP bajo (4.8 mW m^2), sin embargo, modificando la conductividad del catolito 0.8 M de Na_2SO_4 , $\text{pH } 2$ y un cátodo de birnessita/C la DP incremento dramáticamente 183.78 , 177.61 , 61.99 para las celdas 3g Q , 8g CN y 3 g CC , respectivamente, siendo las celdas que presentaron mejor desempeño electroquímico.
5. Se evaluó una CCMS con SCP adicionando 3 distintas cargas de MO; 3 , 9 y 15 g de queroseno. El mejor rendimiento se obtuvo a pequeñas cargas de MO (3 g) con una DP de 183 mW m^2 , mientras que para 9 y 15 g la DP fue de 99.31 y 34.89 mW m^2 , respectivamente. Por otra parte, adicionando una materia más fácil de degradar (residuos de cascara de camarón) el rendimiento electroquímico incrementa a una mayor concentración de MO (8 g chitin natural) obteniendo una DP de 177.61 mW m^2 , incrementando 37 veces más en comparación a la CCM control (4.8 mW m^2).
6. Las bacterias naturalmente presentes en los lodos contaminados con petróleo pueden producir electricidad mediante su metabolismo, lo cual, no se requiere de una comunidad microbiana pura, por lo que, la mezcla de bacterias como biocatalizador naturalmente presentes en el sedimento es factible y versátil por su bajo costo, no se requiere mantener condiciones estériles, presentando una estabilidad operacional, flexibilidad y efectivas sobre diversos sustratos.

-
7. El catalizador de MnO_2 de tipo birnessita presentó desempeño electroquímico hacia la RRO similar al material comercial Pt/C. A un voltaje de 0.4 V se generó una DC de 0.6 y 0.609 mA m^2 , respectivamente. Por lo que, el catalizador MnO_2 es un material alternativo para sustituir al Pt y mejorar la cinética de la RRO, además de que, es un material barato y fácil de sintetizar.
 8. La ventaja de este tipo de CCMS es que no requiere de metales preciosos caros que actúen como catalizador, además de que se pueden construir a partir de materiales de bajo costo, no requieren de mantenimiento, de mediadores redox, de una cultura pura, ni membrana intercambiadora de protones.

Recomendaciones a futuro

1. Duplicando el área del ánodo se observó una mayor DP de salida, por lo que, se recomienda ampliar aun más el área del ánodo para evaluar la DP y la velocidad de degradación de la materia orgánica.
2. Evaluar la velocidad de degradación de diferentes sustratos (queroseno, gasolina, chitin).
3. Evaluar la producción de energía a largo plazo de diferentes sustratos.
4. El catalizador MnO_2/C mostró buena actividad hacia la RRO, lo que podría ser un buen candidato para reemplazar al catalizador comercial Pt/C, sin embargo, se requiere de mayor investigación para estudiar la cinética del catalizador, por lo que, se recomienda

realizar estudios con la técnica de EDR (electrodo de disco rotatorio) o electrodo de disco-anillo rotatorio (EDAR) y conocer más en detalle la cinética hacia la RRO.

Referencias

Fuentes A. C., Del Razo A., Juarez K., Alvarez G. A. (2012). Influence of NaCl, Na₂SO₄ and O₂ on power generation from microbial fuel cells with non-catalyzed carbon electrodes and natural inocula. *Solar Energy*, pp. 1099-1107.

Payel C., Uma S. P. U., Nibedita M., Onkar N. T., Rup N. Y., Tarun K. B., Biswanath B. (2017). Performance improvement of microbial fuel cells for waste water treatment along with value addition: A review on past achievements and recent perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, pp. 372-389.

Panpan L., Peng L., Yong J., Wen H., Bo M., Donglin W., Xia H. (2018). Stimulated electron transfer inside electroactive biofilm by magnetite for increased performance microbial fuel cell. *Applied Energy*, pp. 382-388.

Chandrasekhar K., Venkata Mohan S. (2012). Bio-electrochemical remediation of real field petroleum sludge as an electron donor with simultaneous power generation facilitates biotransformation of PAH: Effect of substrate concentration. *Bioresource Technology*, pp. 517-525.

Pratiksha J., Sandipam S., Manoj K., Priyangshu M. S., Singh M. P., Banwari L. (2016). Bio-electro catalytic treatment of petroleum produced water: Influence of cathode potential upliftment. *Bioresource Technology*, pp. 652-658.

Scott K. (2016). An introduction to microbial fuel cells. *Microbial Electrochemical Fuel Cells*, capítulo 1, 3-27.

Gil C. G., Chang In-S., Kim H. B., Kim M., Jang K. J., Park S. H., Kim J. H. (2003). Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 327-334.

Logan E. B., Regan M. J. (2006). MICROBIAL Challenges and FUEL CELLS applications. *Environmental Science & Technology*, 5172-5180.

Chae J. K., Choi J. M., Lee W. J., Kim Y. K., Kim S. In. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 100, 3518-3525.

Arpita N., Kumar V., Mondal S., Dutta K., Salah M., Kundu P. P. (2015). Performance evaluation of microbial fuel cell: effect of varying electrode configuration and presence of a membrane electrode assembly. *New Biotechnology*, 32, 272-281.

Liu W. X., Sun F. X., Huang X. Y., Sheng P. G., Zhou K., Zeng J. R., Wang G. S., Xu W. A., Tong H. Z. (2010). Nano-structured manganese oxide as a cathodic catalyst for enhanced oxygen reduction in a microbial fuel cell fed with a synthetic wastewater. *Water Research*, 44, 5298-5305.

Venkata Mohan S., Chandrasekhar K. (2011). Self-induced bio-potential and graphite electron accepting conditions enhances petroleum sludge degradation in bio-electrochemical system with simultaneous power generation, *Bioresource Technology*, 9532-9541.

Li X., Wang X., Ren J. Z., Zhang Y., Li N., Zhou Q. (2015). Sand amendment enhances bioelectrochemical remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Chemosphere*, 141, 62-70.

Kiely D. P., Cusick R., Call F. D., Selembo A. P., Regan M. J., Logan E. B. (2011). Anode microbial communities produced by changing from microbial fuel cell to microbial electrolysis cell operation using two different wastewaters. *Bioresource Technology*, 102, 388-394.

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

Zhang C., Liang P., Jiang Y., Huang X. (2015). Enhanced power generation of microbial fuel cell using manganese dioxide-coated anode in flow-through mode. *Journal of Power Sources*, 273, 580-583.

Liew B. K., Daud Wan R. W., Ghasemi M., Loh S. K., Ismail M., Lim S. S., Leong X. J. (2015). Manganese oxide/functionalized carbon nanotubes nanocomposite as catalyst for oxygen reduction reaction in microbial fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40, 11625-11632.

Farahani S. F., Mecheri B., Majidi R. M., Costa de Oliveira A. M., D Epifanio A., Zurlo F., Placidi E., Arciprete F., Licoccia S. (2018). MnO_x-based electrocatalyst for enhanced oxygen reduction in microbial fuel cell air cathodes. *Journal of Power Sources*, 390, 45-53.

Foght J. (2008). Anaerobic Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons: Pathways and Prospects. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 15, 93-120.

Li X., Hu B., Suib S., Lei Y., Li B. (2010). Manganese dioxide as a new cathode catalyst in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 195, 2586-2591.

Lu M., Guo L., Kharkwal S., Wu H., Ng Y. H., Li Y. F. S. (2013). Manganese-polypyrrole-carbon nanotube, a new oxygen reduction catalyst for air-cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 221, 381-386.

Alireza A. Y., Lorenzo D' A., Nada O., Gracia W. (2016). Carbon nanotube modification of microbial fuel cell electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 85, 536-552.

Majidi R. M., Farahani S. F., Hosseini M., Ahadzadeh I. (2019). Low-cost nanowired α -MnO₂/C as an ORR catalyst in air-cathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, 125, 38-45.

Zhang L., Liu C., Zhuang L., Li W., Zhou S., Zhang J. (2009). Manganese dioxide as an alternative cathodic catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Biosensors & Bioelectronics*, 24(9):2825-9.

Wen Q., Wang S., Yan J., Cong L., Pan Z., Ren Y., Fan Z. (2012). MnO-graphene hybrid as an alternative cathodic catalyst to platinum in microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, pp.187-191.

Zhang Y., Hu Y., Li S., Sun J., Hou B. (2011). Manganese dioxide-coated nanotubes as an improved cathodic catalyst for oxygen reduction in a microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, 196, 9284-9289.

Tamboli E., Eswari J. S. (2019). Microbial Fuel Cell Configurations: An Overview. *Microbial Electrochemical Technology*, capitulo 3.2, 407-435.

Morris JM, Jin S, Crimid B, Pruden A. (2009). Microbial fuel cell enhancing anaerobic biodegradation of diesel. *Chemical Engineering Journal*, 146,161-167.

Morris M. J., Jin S. (2012). Enhanced biodegradation of hydrocarbon-contaminated sediments using microbial fuel cells. *Journal of Hazardous Materials*, 213-214, 474-477.

Prakasham R. S., Sudheer B. K. (2019). Bacterial Metabolism-Coupled Energetics. *Microbial Electrochemical Technology*, capitulo 2.1, pp. 227-260.X

Xia C., Zhang D., Pedrycz W., Zhu Y., Guo Y. (2018). Models for Microbial Fuel Cells: A critical review. *Journal of Power Sources*, 372, 119-131.

Nikhil G. N., Mohan S. V. (2019). Bioelectrochemical Energy Transitions Persuade Systemic Performance. *Microbial Electrochemical Technology*, capitulo 3.3, 437-449.

Logan E. B., Hamelers B., Rozendal R., Schröder U., Keller J., Freguia S., Aelterman P., Verstraete W., Rabaey K. (2006). *Environmental Science & Technology*, 40, 5181-5192.

Lee H. S., Dhar B. R., Hussain A. (2019). Electron Transfer Kinetics in Biofilm Anodes: Conductive Extracellular Electron Transfer. *Microbial Electrochemical Technology*, 2019, capitulo 2.5, pp. 339-351.

Louro O. R., Costa L. N., Fernandes P. A., Silva V. A., Trindade B. I., Fonseca M. B., Paquete M. C. Exploring the Molecular Mechanisms of Extracellular Electron Transfer for Harnessing Reducing Power in METs: Methodologies and Approaches, (*Microbial Electrochemical Technology*, 2019), capitulo 2.2, pp. 261-293.

Kotakonda A., Venkata S. M. (2019). Biofilms: Microbial Life on the Electrode Surface. *Microbial Electrochemical Technology*, 2019, capitulo 2.3, pp. 295-313.

Skott K., Murano C., Rimbu G. (2007). A tubular microbial fuel cell. *J. Appl. Electrochem*, 37, 1063-1068.

De Schamphelaire L, van den Bossche L, Dang HS, Hofte M, Boon N, Rabaey K, Verstraete W. (2008). Microbial fuel cells generating electricity from rhizodeposits of rice plants. *Environmental Science & Technology*, xxx,000-000.

Karra U, Huang G, Umaz R, Tenaglier C, Wang L, Li B. (2013). Stability characterization and modeling of robust distributed benthic microbial fuel cell (DBMFC) system. *Bioresource Technology*, 144,477-484.

Samsudeen N., Radhakrishnan K. T., Matheswaran M. (2016). Effect of isolated bacterial strains from distillery wastewater on power generation in microbial fuel cell. *Process Biochemistry*, 51, 1876-1884.

Kather D. Z, El-Khatib K. M, Hassan R. Y. A. (2018). Effect of vitamins and cell constructions on the activity of microbial fuel cell battery. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, xxx, xxx-xxx.

Zhan G., Feng S., Jiao Y., Lee J. d., Xin Y., Sun H. Cathodic reducing bacteria of dual-chambered microbial fuel cell. (2017). *International Journal of Hydrogen Energy*, 42, 27607-27617.

Farzaneh R., Tom L. R., Rachela A. B., Logan B. (2007). Substrate-Enhanced Microbial Fuel Cells for Improved Remote Power Generation from Sediment-Based Systems. *Environmental Science & Technology*, 41, No. 11.

Adelaja O., Keshavarz T., Kyazze G. (2015). The effect of salinity, redox mediators and temperature on anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in microbial fuel cell. *Journal of Hazardous Materials*, vol 283, pp. 2011-2017.

Xu X., Zhao Q., Wu M., Ding J., Zhang W. (2017). Biodegradation of organic matter and anodic microbial communities analysis in sediment microbial fuel cells with/without Fe (III) oxide addition. *Bioresource Technology*, vol 225, 402-408.

Bajracharya S., ElMekawy A., Srikanth S., Pant D. (2016). Cathodes for microbial fuel cells. *Microbial Electrochemical and Fuel Cell*, capitulo 6, .179-213

Wang (2012). - Wang Y., Niu C. G., Zeng G. M., Hu W. J., Huang D. W., Ruan M. (2011). Microbial fuel cell using ion active persulfate as a cathodic reactant. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 15344-15351.

Jung S. P., Pandit S. Important Factors Influencing Microbial Fuel Cell Performance, (*Microbial Electrochemical Technology*, 2019), capitulo 3.1, pp. 377-406.

Reimers E. C. (2001). Harvesting Energy from the Marine Sediment-Water Interface. *Environmental Science & Technology*, 35, 192-195.

He Z., Shao H., Angenent L. T. (2007). Increased power production from a sediment microbial fuel cell with a rotating cathode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 3252-3255.

Thomas R. J. Y., Picot M., Carer A., Berder O., Sentieys O., Barrière. A. (2013). Single sediment-microbial fuel cell powering a wireless telecommunication system, (Journal of Power Sources, 241, 703-708.

Ewing T., Ha T. P., Babauta T. J., Tang T. N., Heo D., Beyenal H. (2014). Scale-up of sediment microbial fuel cells. Journal of Power Source, 311-319.

Dumitru A., Skott K. (2016). Anode materials for microbial fuel cells. Microbial Electrochemical and Fuel Cells, capítulo 4, 117-152.

Slate J. A., Whitehead A. K., Brownson C. A. D., Banks E. C. (2019). Microbial fuel cells: An overview of current technology. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 101, 60-81.

Shrestha N., Chilkoor G., Dhiman S. S., Sani K. R., Gadhamshetty V. Extremophile Biology for Microbial Electrochemistry Applications, (Microbial Electrochemical Technology, 2019), capítulo 2.6, pp. 353-374.

Revelo M. D., Hurtado H. N., Ruiz O. J. (2013). Microbial Fuel Cells (MFCs): A Challenge for the Removal of Organic Matter and Electricity Generation. Información Tecnológica, 24, 17-28.

Gary H. J., Handwerk E. G. (2003). Refino de petróleo. Barcelona, España. Editorial Reverté. Recuperado de https://books.google.com.mx/books?id=uGK8J8fK4F4C&pg=PA14&dq=queroseno&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKEwi7_sLI74_rAhWJVVs0KHc5JAPYQ6AEwAXoECAEQAg#v=onepage&q=queroseno&f=false

Rodríguez M. N. (2019). Gasolinas. Reflexiones y comentarios relativos a su calidad. <https://www.energiaadebate.com/click/87/Doctogasolinasv1.2.pdf>.

Rezaei F, Richard TL, Brennan RA, Logan BE. (2007). Substrate enhanced microbial fuel cells for improved remote power generation from sediment based systems. *Environmental Science & Technology*, 41, 4053-8.

Liu B, Weinstein A, Kolln M, Garrett C, Wang L, Bagtzoglou A, Karra U, Li Y, Li B. (2015). Distributed multiple-anodes benthic microbial fuel cell as reliable power source for subsea sensors. *J Power Sources*, 286, 210-216.

Grattieri M., Minteer D. S. (2018). Microbial fuel cells in saline and hypersaline environments: Advancements, challenges and future perspectives. *Bioelectrochemistry*, 120, 127-137.

Arulazhagan P., Vasudevan N. (2011). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a halotolerant bacterial strain *Ochrobactrum* sp. VA1. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 388-394.

Sleutels H.J.A. T., Hamelers V.M. H., Buisman N.J. C. (2011). Effect of mass and charge transport speed and direction in porous anodes on microbial electrolysis cell performance. *Bioresource Technology*, pp. 399-403.

Torres I. C., Marcus K. A., Rittmann E. B. (2008). Proton Transport Inside the Biofilm Limits Electrical Current Generation by Anode-Respiring Bacteria, *Biotechnology and Bioengineering*, 100, No. 5.

Zhao F., Harnisch F., Schröder U., Scholz F., Bogdanoff P., Herrmann I. (2005). Application of pyrolyzed iron (II) phthalocyanine and CoTMPP based

oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 7, 1405-1410.

Diaz B. L., Vera A., Marín J., Aiello M. C., Briceño B., Morales E. (2012). Efecto del queroseno y de la concentración de nutrientes en el crecimiento de un cultivo mixto de microalgas (Chlorophyta). *Revista de la Universidad de Zulia, Ciencias Exactas, Naturales y de la salud*, 102-118.

Chandrasekhar K. (2019). Effective and Nonprecious Cathode Catalysts for Oxygen Reduction Reaction in Microbial Fuel Cells. *Microbial Electrochemical Technology*, capítulo 3.5, 485-501.

Finkelstein DA, Tender LM, Zeikus JG. (2006). Effect of electrode potential on electrode-reducing microbiota. *Environmental Science & Technology*, 40, 6990-6995.

Song T-S, Wang D-B, Han S, Wu X-Y, Zhou CC. (2014). Influence of biomass addition on electricity harvesting from solid phase microbial fuel cells. *Int J Hydrogen Energy*, 39, 1056-1062.

Li B., Wang M., Zhou X., Wang X., Liu B. (2015). Pyrolyzed binuclear-cobalt-phthalocyanine as electrocatalyst for oxygen reduction reaction in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 193, 545-548.

Jayashree C., Tamilarasan K., Rajkumar M., Arulazhagan P., Yogalakshmi N. K., Srikanth M., Banu R. J. (2016). Treatment of seafood processing wastewater using upflow microbial fuel cell for power generation and identification of bacterial community in anodic biofilm. *Journal of Environmental Management*, 180, 351-358.

Greef R., Peat R., Peter L. M., Pletcher D., Robinson J. (2001). Instrumental methods in electrochemistry. England. Horwood Publishing Chichester.

Barbato A. R., Foley L. K., Toro-Zapata A. J., Jones M. R., Reynolds M. C. (2017). The power of soil microbes: Sustained power production in terrestrial microbial fuel cells under various temperature regimes, *Applied Soil Ecology*, 109, 14-22.

Rago L., Zecchin S., Marzorati S., Goglio A., Cavalca L., Cristiani P., Schievano A. (2018). A study of microbial communities on terracotta separator and on biocathode of air breathing microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, 120, 18-26.

Roustazadeh P. S., Nasr M. E., Colombo A., Franzetti A., Trassati S. P., Cristiani P. (2017). Investigation of different configurations of microbial fuel cell for the treatment of oilfield produced water. *Applied Journal*, 192, 457-565.

Rago L., Cristiani P., Villa F., Zecchin S., Colombo A., Cavalca L., Schievano A. (2017). Influences of dissolved oxygen concentration on biocathodic microbial communities in microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, 116, 39-51.

Bräuer S.L., Cadillo-Quiroz H., Ward R.J., Yavitt J.B., Zinder S.H. (2011). *Methanoregula boonei* gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog. *Int J Syst Evol Micr*, 61(1), 45-52.

Anexos

Artículo publicado basado en la investigación de este trabajo de tesis.

Referencia: Aleman G. E., Cornejo M. J. A., Ortega M. A., Kumar K. S., Juárez K., Silva M. S., Alvarez G. A. (2021). Oil-contaminated sediment amended with enhances power production by minimizing the sediment microbial fuel cell internal resistance. Journal of Electroanalytical Chemistry. 894, 115365. https://authors.elsevier.com/c/1d6HR_ZmXwAaCd