

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica



"Producción de energía eléctrica en una Celda de Combustible Microbiana empleando Cascarilla de Arroz (*Oryza sativa*) como sustrato y Licor Ruminal Bovino como inóculo microbiano"

Tesis presentada por la Bachiller:

Karla Mariel Pineda Arista

Para Optar el Título Profesional de:

Ingeniero Biotecnólogo

Asesor: José Villanueva Salas PhD.

Arequipa – Perú
2015

A mi familia y a quien quiera leer este trabajo



Agradecimientos

Quiero agradecer a mis padres por su amor e infinita paciencia. Además quiero agradecer a todos los profesores cuyos aportes, consejos y ejemplos hicieron que este trabajo de investigación llegue a buen término. También a aquellos que me enseñaron con calidez y amabilidad que es lo que debo y no debo hacer, no sólo como profesional, sino como persona. Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mi familia, Kevin y Antonia, por la felicidad de estar juntos y por los éxitos que vendrán.



Índice de Contenidos

Índice de Contenidos	III
Índice de Figuras	VI
Índice de Tablas	IX
Resumen	X
Abstract	XII
Introducción	1
Objetivos	4
Hipótesis	5
1 Marco Teórico	6
1.1 Sector eléctrico a nivel nacional	6
1.2 Celdas de combustible microbianas: definición	7
1.3 Electricidad y corriente eléctrica	8
1.4 Electroodos en celdas de combustible microbianas	9
1.5 Microorganismos en celdas de combustible microbianas	11
1.6 Sustratos en celdas de combustible microbianas	15
1.7 Cascarilla de arroz y producción en Perú	18
1.8 Diseños de celdas de combustible microbianas	19

1.9	Antecedentes de uso de cascarilla de arroz y rumen bovino en celdas de combustible microbianas	24
2	Materiales y métodos	25
2.1	Lugar de ejecución y toma de muestras	25
2.2	Materiales	25
2.2.1	Reactivos	25
2.2.2	Biológicos	26
2.2.3	Equipos	26
2.2.4	Vidrio	27
2.2.5	Otros	27
2.3	Diseño Experimental	28
2.3.1	Diseño de la estructura física de la celda	28
2.3.2	Unidad experimental	29
2.3.3	Tratamientos aplicados	30
2.4	Métodos	31
2.4.1	Recolección y pre-tratamiento de material biológico	31
2.4.2	Diseño y operación de la celda de combustible microbiana	31
2.4.3	Evaluación del efecto del rumen bovino como inóculo microbiano	33
2.4.4	Evaluación del efecto de la cascarilla de arroz como sustrato	34
2.4.5	Análisis de sólidos totales	37
2.4.6	Análisis de concentración de azúcares reductores totales	38
2.4.7	Determinación de voltaje	43
2.4.8	Determinación de potencia	45

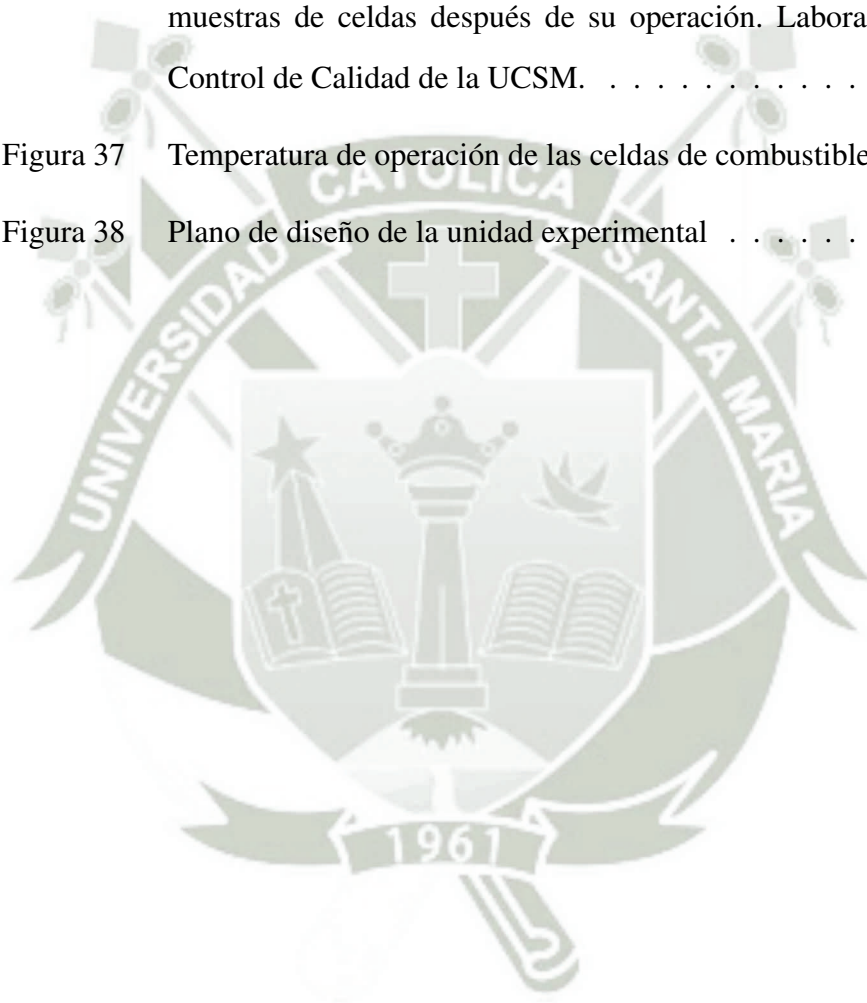
2.4.9	Determinación de densidad de potencia	45
2.4.10	Determinación de la energía total producida	46
2.4.11	Relación de consumo de sólidos totales y producción de energía	46
2.4.12	Análisis estadístico	46
3	Resultados y Discusión	47
3.1	Evaluación del efecto del rumen bovino como inóculo microbiano . .	47
3.1.1	Determinación de pH	47
3.1.2	Determinación de voltaje	47
3.2	Evaluación del efecto de la cascarilla de arroz como sustrato	51
3.2.1	Análisis de sólidos totales	51
3.2.2	Análisis de azúcares reductores totales	56
3.2.3	Determinación de intensidad de corriente	57
3.2.4	Determinación de voltaje	58
3.2.5	Determinación de potencia	64
3.2.6	Determinación de densidad de potencia	66
3.2.7	Determinación de densidad de corriente	69
3.2.8	Determinación de energía total producida	72
3.2.9	Relación de consumo de sólidos totales y producción de energía	75
4	Conclusiones	78
5	Recomendaciones	80
	Referencias	81

Índice de Figuras

Figura 1	Esquema de una celda de combustible microbiana de cámara doble [68].	8
Figura 2	Imagen de microscopía por escaneo láser de un biofilm en un electrodo de papel carbón [52]	12
Figura 3	Cascarilla de Arroz. <i>Elaboración propia</i>	18
Figura 4	Esquemas de CCMs de doble cámara [29]	21
Figura 5	Imágenes de diversos modelos de CCM [51]	22
Figura 6	Unidad experimental antes de ser ensamblada	30
Figura 7	Pre-tratamiento de rumen bovino mediante filtrado.	31
Figura 8	Operación de las celdas de combustible microbianas	33
Figura 9	Diagrama PID de la celda de combustible microbiana para evaluar el efecto de los microorganismos.	35
Figura 10	Cámaras de la celda de combustible microbiana mostrando los electrodos colocados.	35
Figura 11	Diagrama PID de las celdas de combustible para la evaluación del efecto del sustrato.	37
Figura 12	Recipientes tras secado para cálculo de sólidos totales	38
Figura 13	Muestras para análisis de azúcares reductores totales	39
Figura 14	Muestras tras adición de acetato neutro de plomo	40
Figura 15	Precipitación en muestras tras adición de acetato neutro de plomo	40
Figura 16	Filtración tras precipitación con oxalato de potasio	41

Figura 17	Apariencia del filtrado tras adición del oxalato de potasio . . .	42
Figura 18	Nivelación de pH del filtrado	42
Figura 19	Licor de Fehling empleado para la titulación	43
Figura 20	Titulación del licor de Fehling	44
Figura 21	Inicio de aparición de precipitado rojo ladrillo para la muestra de rumen	44
Figura 22	Medición del pH del rumen bovino, se observa un pH de 7. . .	48
Figura 23	Resultados de evaluación del efecto de los microorganismos ru- minales en términos de voltaje	49
Figura 24	Resultados estadísticos para la determinación de sólidos totales	54
Figura 25	Resultados del análisis de azúcares reductores totales	57
Figura 26	Resultados de la determinación de intensidad de corriente . . .	59
Figura 27	Resultados de la determinación de voltaje	60
Figura 28	Resultados estadísticos para el máximo voltaje registrado para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen	62
Figura 29	Resultados de la determinación de potencia	65
Figura 30	Resultados estadísticos para la máxima densidad de potencia registrada para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen	67
Figura 31	Resultados estadísticos para la máxima densidad de corriente registrada para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen	70
Figura 32	Resultados de la determinación de energía total producida . . .	72
Figura 33	Resultados estadísticos para la determinación de energía total producida	73

Figura 34	Ajuste de curva para la relación de consumo de sólidos totales y producción de energía	76
Figura 35	Resultados de análisis de azúcares reductores totales para la muestra de rumen pre-tratado. Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM.	93
Figura 36	Resultados de análisis de azúcares reductores totales para la muestras de celdas después de su operación. Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM.	94
Figura 37	Temperatura de operación de las celdas de combustible	95
Figura 38	Plano de diseño de la unidad experimental	99



Índice de Tablas

Tabla 1	Configuración de las celdas de combustible microbianas para la evaluación del efecto de los microorganismos.	32
Tabla 2	Configuración de las celdas de combustible microbianas para la evaluación del efecto del sustrato.	34
Tabla 3	Resultados del análisis de sólidos totales	53
Tabla 4	Resultados del análisis de azúcares totales	56
Tabla 5	Máximo voltaje para evaluación del efecto del sustrato.	63
Tabla 6	Máxima densidad de potencia para evaluación del efecto del sustrato	66
Tabla 7	Máxima densidad de corriente en para evaluación del efecto del sustrato	69
Tabla 8	Resultados del análisis de sólidos totales	75
Tabla 9	Desempeño de diferentes celdas de combustible microbianas basadas en cultivo simple (un solo microorganismo) y mixto [68].	96
Tabla 10	Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbianas y su máxima densidad de corriente producida [59]. Parte 1 de 2.	97
Tabla 11	Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbianas y su máxima densidad de corriente producida [59]. Parte 2 de 2.	98

Resumen

Las celdas de combustible microbianas son una tecnología en desarrollo que permite producir energía eléctrica limpia empleando materia orgánica como sustrato y microorganismos como catalizadores de reacción. La región de Arequipa produce altas cantidades de arroz *Oryza sativa*, siendo la cascarilla el principal residuo generado, por lo que está altamente disponible y no tiene valor industrial. En la presente investigación se diseñó y evaluó una celda de combustible microbiana empleando el licor ruminal bovino como fuente de microorganismos lignocelulolíticos para la producción de electricidad, realizando finalmente una comparación del sustrato consumido con la energía total producida.

La celda de combustible microbiana tuvo un diseño de dos cámaras cilíndricas concéntricas, tipo batch, con puente salino de cloruro de potasio y electrodos de malla de acero inoxidable 301. Se realizó una comparación entre celdas con rumen bovino y

cascarilla de arroz (RB+CA) y celdas con rumen bovino solamente (RB). Las celdas RB+CA operaron durante 46 días sin agotarse y produjeron una media de $349,25 \pm 94,59$ Joules de energía, por el contrario, las celdas RB produjeron $80,10 \pm 13,63$ Joules y operaron durante 20 días hasta agotarse. Ambos tipos de celda reportaron valores de parámetros de producción de energía estadísticamente similares, siendo la máxima densidad de corriente de $0,014 \pm 0,0002 \text{ mA/cm}^2$ y la máxima densidad de potencia de $4.9447 \pm 1.0567 \text{ mW/m}^2$. Se observó un consumo promedio de sustrato del 4.67 % en términos de sólidos totales y un consumo total de azúcares reductores libres. Estos resultados demuestran que la cascarilla de arroz es un sustrato que puede ser degradado por microorganismos del rumen bovino para la producción de electricidad, se espera que este diseño pueda ser mejorado posteriormente para incrementar la eficiencia de la celdas estudiadas.

Palabras clave: *celdas de combustible microbianas, cascarilla de arroz, arroz, rumen*

Abstract

Microbial fuel cells are a developing technology that allows the production of clean electric energy by using organic matter as substrate and microorganisms as reaction catalysts. Arequipa produces high quantities of rice *Oryza sativa*, so rice hulls are the main generated residue, whereby it is highly available and has no industrial value. In this research, a MFC (microbial fuel cell) was designed and evaluated using bovine rumen fluid as a source of lignocellulolytic microorganisms for electricity production, comparing the substrate consumption and the total energy production.

The MFC was designed as two cylindrical-concentric chambers, batch, with a potassium chloride salt bridge and 301-stainless steel mesh as electrodes. A comparison between MFC with rumen fluid and rice hulls (RB+CA) and MFC with rumen fluid only (RB) was performed. The RB+CA cells were operated for 46 days and produced 349.25 ± 94.59 Joules, conversely, RB cells produced 80.10 ± 13.63 Joules and were operated for 20 days until they runned out of power. Both cells produced energy production parameter values statistically alike, measuring a maximum current density at 0.014 ± 0.0002 mA/cm² and a maximum power density at 4.9447 ± 1.0567 mW/m². A average substrate consumption of 4.67 % in terms of total solids was measured and a complete consumptions of free reducing sugars. These results demonstrate that rice hulls are a substrated that can be converted by rumen microorganisms for electricity production, it is expected that this desing could be improved in the future to increase the studied cells efficiency.

Keywords: *microbial fuel cells, rice hulls, rice, rumen*

Introducción

El modelo energético presente a nivel mundial no responde de manera eficiente a las necesidades actuales. Existen numerosos problemas de carácter medioambiental, sanitario y económico ligados a la producción energética nuclear y de combustión de hidrocarburos. Es de vasto conocimiento los peligros que involucra el manejo del petróleo y el metano a nivel ambiental, y lo complejo que resulta recuperar un hábitat afectado tras un derrame o fuga. En el área sanitaria, se tienen registrados lamentables eventos que demuestran lo peligroso que resulta la producción y manejo de energía nuclear, tanto para la salud humana como animal. En términos monetarios, ambos procesos de producción no son económicos y pueden influir en el costo de vida de una localidad [28].

Según el Ministerio de Energía y Minas, la capacidad actual de generación de electricidad a nivel nacional está dividida de manera uniforme entre las fuentes de energía hidroeléctrica y de energía termoeléctrica. Las energías alternativas en el Perú son escasamente estudiadas, y por ende, aplicadas. Frente a este panorama es conveniente un estudio permanente de las alternativas emergentes para el desarrollo sostenible del sector eléctrico en nuestro país [26].

Una celda de combustible microbiana es un bioreactor, aprovecha las reacciones metabólicas de microorganismos que suceden al consumir un determinado sustrato orgánico con el fin de producir corriente eléctrica [68]. Este concepto se ha venido desarrollando bajo cuatro diferentes enfoques, de acuerdo al objetivo de la celda: la biodegradación de sustratos con moléculas persistentes y/o bioacumulativas, mejora estructural y de rendimiento, identificación de microorganismos exoelectrogénicos y búsqueda de nuevos sustratos y/o inóculos [68, 29, 89]. Las celdas de combustible microbianas poseen muchas ventajas, entre ellas, su alta eficiencia de conversión de sustrato y su capacidad de operar a temperatura ambiente, esto podría conllevar a una producción energética económica y sostenible. Además no necesita tratamiento de ga-

ses de salida, no necesitan aireación y son potencialmente aplicables en zonas rurales.

Son muchos los sustratos que han sido evaluados en la operación de celdas de combustible microbianas. La mayoría corresponde a aguas residuales de industrias varias, residuos ricos en glucosa, lixiviados de vertederos de basura. En menor proporción, se han investigado los residuos lignocelulósicos [89], los cuales son objeto de análisis en la presente investigación.

El arroz es uno de los principales cultivos del Perú y produce como residuo en su procesamiento post-cosecha la cascarilla de arroz. Este producto corresponde al 20 % del peso seco de grano y es separado en el proceso de pilado. La cascarilla de arroz se compone principalmente de celulosa (39 %), lignina (27 %), proteínas (4 %), extractos no nitrogenados (8 %), humedad (9 %) y otros (13 %). Los principales usos de la cascarilla son la producción de abonos y combustibles por fermentación, aunque normalmente es incinerada para evitar su acumulación en los molinos [64]. En investigaciones de celdas de combustibles microbianas de sustrato lignocelulósico se ha comprobado que existen microorganismos que son capaces de realizar la hidrólisis de la celulosa y la oxidación de la glucosa simultáneamente, y que todos los monosacáridos generados a partir de la hidrólisis de la celulosa pueden ser oxidados por microorganismos lignocelulolíticos en celdas de combustibles microbianas [34]. Aunque no se comprende plenamente el mecanismo de reacción, se han producido modelos bastante prometedores en cuanto a rendimiento [34, 20].

El licor ruminal de bovinos (*Bos Taurus*) contiene una gran cantidad de bacterias y protozoarios con actividad lignocelulolítica y oxidativa de azúcares y ha sido evaluado previamente determinándose su naturaleza anaeróbica [20]. Estos microorganismos son necesarios para la hidrólisis del alimento y la obtención de energía a partir de su degradación. Los géneros más comunes encontrados incluyen a *Streptococcus*, *Clostridium*, *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, *Prevotella*, *Succinivibrio*, *Bifidobacterium* y otros [24]. Estos microorganismos podrían participar en la hidrólisis de la celulosa y la oxidación de azúcares, y si se realiza en una celda de combustible microbiana en presencia

de un sustrato lignocelulósico, podría generar energía eléctrica.

El presente informe se divide en cinco capítulos: el primer capítulo comprende el planteamiento de la investigación en la que se presentan los objetivos, la hipótesis y las variables e indicadores. El segundo capítulo incluye el marco teórico en el cual se abordan las bases teóricas de la electricidad y sector eléctrico nacional, las investigaciones realizadas sobre las celdas de combustible microbianas y los diseños existentes de las mismas, además de algunos antecedentes respecto al uso de sustratos lignocelulósicos y bacterias de origen bovino. El tercer capítulo comprende el diseño experimental, los materiales empleados y los métodos ejecutados en la investigación. El cuarto capítulo aborda los resultados obtenidos, los análisis estadísticos y una discusión profunda de los mismos, considerando resultados y conclusiones de otras investigaciones relacionadas con fines estrictamente comparativos. Finalmente se presentan las conclusiones y recomendaciones a las que se llegó tras el análisis de los resultados, con el fin de contribuir e incentivar la investigación en el área de las celdas de combustible microbianas.

Objetivos

Producir energía eléctrica en una celda de combustible microbiana empleando cascarilla de arroz (*Oryza sativa*) como sustrato (*Oryza sativa*) y licor ruminal bovino como inóculo microbiano .

Objetivos Secundarios

1. Diseñar y construir una celda de combustible microbiana
2. Evaluar los datos de consumo de sustrato (cascarilla de arroz) en términos de sólidos totales y concentraciones de azúcares reductores iniciales y finales.
3. Analizar la relación entre los parámetros analizados del consumo de sustrato y los de la producción de energía eléctrica.

Hipótesis

Dado que las celdas de combustible microbianas son capaces de producir energía eléctrica a partir de la degradación de materia orgánica y que el rumen bovino contiene microorganismos lignocelulolíticos y oxidantes de azúcares, es posible producir energía eléctrica a partir de la cascarilla de *Oryza sativa* (arroz) utilizando el rumen bovino como fuente microbiana en una celda de combustible microbiana.



Capítulo 1

Marco Teórico

En el presente capítulo se presenta una revisión de los aspectos teóricos más importantes relacionados con el tema de tesis desarrollado; como la situación energética a nivel urbano y rural en el país, la historia y concepto de celdas de combustible desde las químicas hasta las microbianas, su funcionamiento, principios de electricidad y electrónica, microorganismos implicados en el proceso y su bioquímica. Así mismo se presenta información sobre las principales características de la cascarilla de arroz y su importancia en el sector industrial de Arequipa.

1.1. Sector eléctrico a nivel nacional

En el Perú son cuatro los principales sectores donde existe una alta demanda energética. El sector transporte utiliza el 40 % de toda la energía eléctrica producida, posteriormente está el sector residencial con un 28 % de demanda energética, seguidamente el sector industrial y minero con un 25 % y finalmente el agropecuario, agroindustrial y pesquero con un 3 % [26].

De acuerdo a las estadísticas presentadas por el ministerio de energía y minas en el año 2012, el consumo total de electricidad en el Perú fue de 712 072 TJ. La capacidad de producción energética del país se reparte entre las fuentes de energía termoeléctrica y las fuentes de energía hidroeléctrica [26].

Respecto a las energías renovables y biocombustibles, en años recientes se han desarrollado proyectos basándose en la energía solar fotovoltaica, impulsada para atender las necesidades básicas de energía en zonas aisladas, rurales y de frontera, habiéndose instalado a nivel nacional, paneles solares domésticos y comunales para dotar de su-

ministro eléctrico a viviendas, locales comunales e instituciones públicas, según fue el caso. La Dirección General de Electrificación Rural (DGER) actualmente está implementando este modelo, en sinergia con proyectos para producción de energía eólica [28].

Otras nuevas tecnologías que serán consideradas en el futuro son las microturbinas, que utilizan la energía cinética de los ríos, y los paneles solares para servicios básicos de iluminación y comunicaciones [28]. Poco o nada se ha difundido acerca de las celdas microbianas de combustible a nivel nacional.

1.2. Celdas de combustible microbianas: definición

Una celda microbiana de combustible es un bioreactor diseñado para convertir energía, disponible en un sustrato bio-convertible, directamente a electricidad empleando microorganismos. Los microorganismos oxidan los sustratos dentro de la celda, producto de ello se liberan electrones que se transfieren a un electrodo, el cual actúa como un aceptor final de electrones artificial reemplazando al compuesto aceptor natural. El aceptor de electrones puede ser oxígeno para microorganismos aerobios o nitratos para microorganismos anaerobios, sin embargo en una celda de combustible microbiana, este aceptor es reemplazado por un electrodo, que puede estar hecho de materiales como carbón, acero inoxidable, aluminio, platino y otros metales [68, 29, 89]. Esta transferencia puede ocurrir vía componentes asociados a la membrana lipídica de las bacterias, o lanzaderas electrónicas insolubles [68]. Los electrones entonces fluyen a través de un resistor hacia el cátodo, en donde el aceptor de electrones es reducido.

En contraste a la digestión anaeróbica, una celda de combustible microbiana crea corriente eléctrica y el gas de salida producido es dióxido de carbono, no metano. En la figura 1 se muestra un ejemplo básico de celda de combustible microbiana, en adelante denominada CCM. El sustrato es metabolizado por el microorganismo, el cual transfiere los electrones ganados hacia el ánodo. Este fenómeno puede ocurrir directamente a través de la membrana o a través de lanzadera redox.

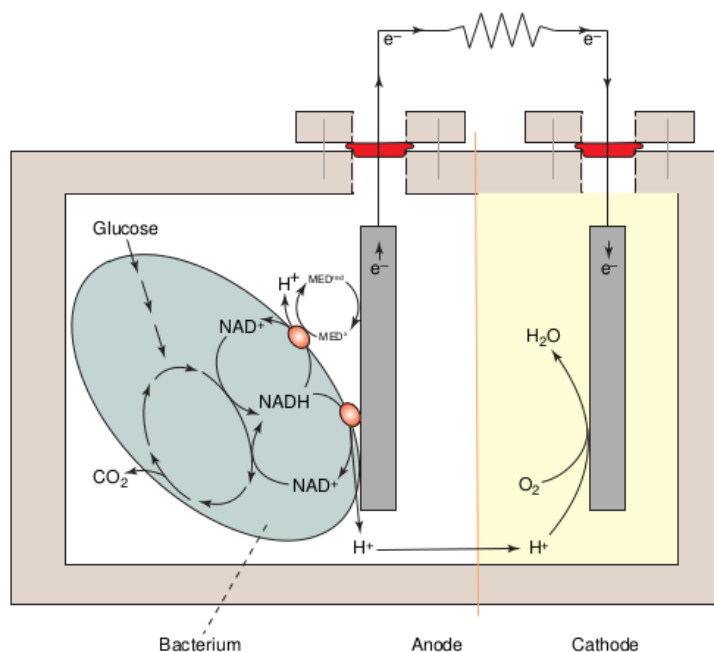


Figura 1: Esquema de una celda de combustible microbiana de cámara doble [68].

Las CCM tienen potenciales ventajas operacionales y funcionales sobre las tecnologías actualmente utilizadas para generar energía a partir de materia orgánica. Primariamente la conversión directa de la energía del sustrato a electricidad permitiría una alta eficiencia de conversión. Segundo, las CCM pueden operar a temperatura ambiente, por lo que se reducen costos de termostatos. Tercero, una CCM no requiere el tratamiento de efluentes gaseosos, ya que el único gas de salida es el dióxido de carbono. Además no requiere aireación artificial ya que el cátodo se encuentra ligeramente aireado [68]. Por último, tienen potencial aplicación en áreas rurales no electrificadas y pueden servir como complemento para satisfacer la demanda en las ciudades grandes.

1.3. Electricidad y corriente eléctrica

Se define a la corriente eléctrica como el movimiento de electrones a través de los átomos de un material conductor. Los electrones circulan desde un polo negativo de un generador hasta el polo positivo. Un conductor es cualquier material cuyo último

nivel de la configuración electrónica de sus átomos contiene pocos electrones, por lo que es sencillo el movimiento de estos. Por otra parte, un material aislante es aquel cuyo último nivel de la configuración electrónica se encuentra completo, por lo tanto, sus electrones no se mueven [35].

Para formar un circuito eléctrico se tienen que cumplir dos condiciones fundamentales: se debe contar con un dispositivo que cree una diferencia de cargas, mediante la amplificación de la energía potencial y un circuito por donde se realice el paso de electrones [35].

Para medir el caudal del movimiento de electrones en un conductor se emplea la intensidad de corriente eléctrica, la cual se define como la cantidad de electricidad que recorre un circuito en una unidad de tiempo expresándose en amperios o coulomb por segundo. Para medir la intensidad de corriente se emplea el amperímetro, el cual debe colocarse en serie dentro del circuito [35].

Existen dos clases de corriente eléctrica clasificadas de acuerdo al sentido en que se mueven los electrones. La corriente alterna tiene un flujo de electrones que se mueve en un sentido y en otro y cuyo valor de corriente es variable, es producida por los alternadores en las centrales eléctricas; por otra parte la corriente continua se caracteriza porque los electrones siempre se mueven en el mismo sentido y con una intensidad constante, es producida por los dínamos, las baterías de acumuladores, pilas, celdas fotovoltaicas [35] y por ende por celdas de combustible químicas y microbianas.

En términos eléctricos, las celdas de combustible microbianas siguen el mismo principio que las celdas electroquímicas y baterías, produciendo corriente continua [68] .

1.4. Electrodos en celdas de combustible microbianas

Un electrodo es un componente conductor eléctrico utilizado para hacer contacto con una parte no metálica de un circuito. Un electrodo en una celda electroquímica se refiere a cualquiera de los dos conceptos, sea ánodo o cátodo [29]. El ánodo es definido

como el electrodo en el cual los electrones salen de la celda y ocurre la oxidación, y el cátodo es definido como el electrodo en el cual los electrones entran a la celda y ocurre la reducción [29].

En las celdas microbianas de combustible, los materiales anódicos deben ser conductores, biocompatibles y químicamente estables en la solución de reacción. El único tipo de ánodo metálico que puede emplearse es el acero inoxidable [29], el cobre no es recomendado debido a su alta toxicidad incluso en trazas que eliminaría la flora microbiana presente. El material más utilizado, tanto por su economía como por su versatilidad, es el carbón, el cual puede encontrarse en diferentes presentaciones compactas como grafito, placas, varillas o gránulos; asimismo también están disponibles presentaciones fibrosas como el papel carbón, la fibra, la tela y la espuma de carbón. Las presentaciones más empleadas son el grafito, las placas y las varillas debido a su bajo precio, su fácil manipulación y área de superficie definida, no obstante, la fibra, tela y papel carbón han adquirido popularidad por su mayor superficie de contacto, este es un aspecto importante en la eficiencia de una celda de combustible [51, 29].

Con el objetivo de aumentar la eficiencia del ánodo, diversos materiales y estrategias se han implementado. Se ha reportado la incorporación de Mn (IV) y Fe(III) covalentemente unidos con rojo neutro, esto con el fin de mediar la transferencia electrónica al ánodo [61]. Asimismo se ha demostrado que las polianilinas/Pt mejoran la generación de corriente al asistir la oxidación directa de metabolitos microbianos [62]. Otra estrategia reportada consiste en dirigir la corriente del agua a través del ánodo [19], aunque esto solo funciona en electrodos porosos.

Respecto a los cátodos se conoce que el oxígeno es un aceptor de electrones muy popular para una celda microbiana de combustible debido a su alto potencial de oxidación, disponibilidad en el aire, sustentabilidad y su falta de producción de contaminantes, ya que solo produce agua como desecho. Sin embargo la implementación del oxígeno en algunos modelos de celda es bastante difícil, por lo que se recurre a otras soluciones como el ferricianuro de potasio, cuya ventaja principal es su bajo sobrepo-

tencial cuando se usa cátodos de placas de carbón, en contraparte, su desventaja está en su insuficiente reoxidación, por lo que requiere ser reemplazado cada cierto tiempo [66].

Frente a estos aceptores, los materiales del cátodo influyen mucho en la eficiencia de la celda. Para celdas basadas en sedimentos acuíferos son muy eficientes los discos de grafito sumergido en el agua sobre el sedimento [53]. Para incrementar la velocidad de reducción del oxígeno se disuelven catalizadores de Pt en el oxígeno disuelto [79] o en el aire ingresante [48, 69], por otra parte también se han incorporado biofilms en cátodos de acero inoxidable que han incrementado la eficiencia de la celda [7]. En la figura 2 se observa una imagen microscópica de la distribución de células vivas y muertas sobre un electrodo de papel carbón con biofilm en una celda microbiana de combustible; este biofilm fue obtenido de una CCM con mucho tiempo de producción estable de energía. Para tomar esta imagen se pintaron las células con un colorante fluorescente para mostrar la diferencia entre células vivas (verdes) y muertas (rojas). Las imágenes A y B corresponden a las capas separadas de los microorganismos. La imagen C es la imagen completa del biofilm.

1.5. Microorganismos en celdas de combustible microbianas

La diferencia principal entre una celda galvánica y una celda de combustible microbiana radica naturalmente en los microorganismos empleados. Existen dos roles básicos que debe cumplir una cepa microbiana o un consorcio para ser empleado en una CCM, las cepas debe ser capaces de oxidar el sustrato y de transferir los electrones al electrodo de la cámara anódica [50].

Para lograr la producción de electricidad por microorganismos es de gran importancia la identificación de las vías metabólicas que gobiernan el flujo de electrones y protones dentro de la bacterias. Se ha reportado que tanto el potencial del ánodo como el sustrato determinarán el metabolismo bacteriano [65]. A mayor cantidad de corriente el potencial del ánodo decrecerá, forzando de este modo a la bacteria a realizar el

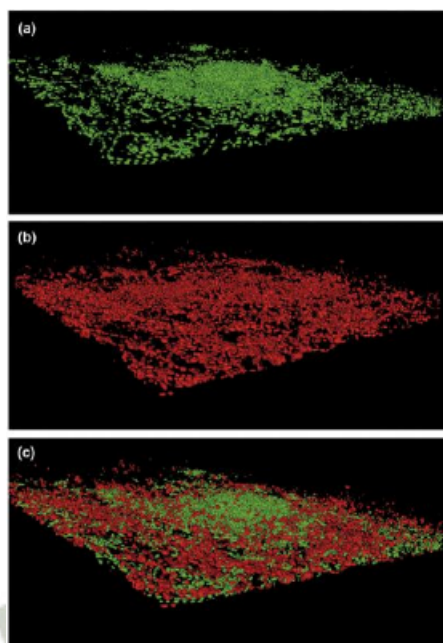


Figura 2: Imagen de microscopía por escaneo láser de un biofilm en un electrodo de papel carbón [52]

paso de electrones a través de complejos más reducidos. Muchas rutas metabólicas pueden distinguirse basándonos en el potencial del ánodo, desde los metabolismos redox altamente oxidativos, los medianamente oxidativos y los poco oxidativos, incluso las fermentaciones [68].

Existen al menos tres posibles razones por las cuales los microorganismos emplean la transferencia de electrones extracelular [50]. La primera razón y también la más estudiada es la de la respiración celular usando óxidos metálicos sólidos, como el hierro. Muchas cepas bacterianas pueden liberar electrones de una oxidasa terminal en la cadena respiratoria hacia compuesto con Fe(III) afuera de la célula, produciendo Fe(II) soluble. La segunda teoría dice que es posible que las células puedan transferir electrones directamente hacia otra célula sin la necesidad de intermediarios, como el hidrógeno. Se ha reportado que la bacteria fermentadora *Pelotomaculum thermopropionicum* está relacionada con la bacteria *Methanothermobacter thermautotrophicus* por medio de un apéndice eléctricamente conductor; esta sería la primera evidencia sobre transmisiones electrones interespecie [32].

La transferencia directa de electrones ha sido observada directamente en otras situaciones, como cuando la reducción de oxígeno puede ser catalizada por las bacterias en el cátodo, recibiendo este último el nombre de bio-cátodo [23]; de este modo se permite el crecimiento bacteriano usando electrones producidos en el ánodo a partir de la oxidación de la materia orgánica. Los microorganismos pueden derivar energía de esta reacción porque los electrones van de la bacteria al bio-cátodo a un mayor potencial que el necesario para la reducción de oxígeno. Estos bio-cátodos han sido empleados también para la reducción de nitratos [22] y evolución del hidrógeno [74]. La evidencia de que los electrones pueden ser tanto liberados como aceptados por microorganismos sugiere que el intercambio electrónico intercelular es un fenómeno natural en consorcios microbianos. Una tercera posible razón para la transferencia exógena de electrones, que aún no ha sido examinada experimentalmente, implicaría un posible rol de la transferencia electrónica en la comunicación intercelular, esto de acuerdo al descubrimiento que indica que las bacterias en un biofilm se comunican entre sí por medio de químicos propios del *quórum sensing*.

A potenciales anódicos altos, las bacterias pueden utilizar la cadena respiratoria en un metabolismo oxidativo, de esta manera, los electrones y protones serán transportados a través de compuestos como la NADH deshidrogenasa, ubiquinona, coenzima Q y citocromo [15, 6, 58]. En el estudio de esta vía metabólica se observó que la generación de corriente eléctrica de una Celda Microbiana de Combustible era impedida por varios inhibidores de la cadena respiratoria. Asimismo, se han observado procesos donde se usa la fosforilación oxidativa en CCM, resultando ser muy eficientes [67]. Los microorganismos que emplean estas vías son *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus faecium* [65], y *Rhodoferrax ferrireducens*.

Por otra parte, a potenciales anódicos bajos en presencia de aceptores de electrones alternativos, como sulfatos, los electrones tienden a depositarse en estos componentes. Cuando el inóculo son fangos anaeróbicos suele observarse con frecuencia la producción de metano, esta es un indicio de que la bacteria no está empleando el ánodo como aceptor de electrones [39]. Si compuestos como nitratos, sulfatos u otros aceptores

de electrones están presentes, el proceso principal será la fermentación mientras el potencial del ánodo se mantenga bajo. Muchos microorganismos son conocidos por generar productos de fermentación y pertenecen a los géneros *Clostridium*, *Alcalígenes* y *Enterococcus* [60, 63], estos han sido aislados de CCM. Esta vía metabólica está fundamentada por la gran cantidad de hidrógeno producido cuando la flora de CCM es incubada anaeróbicamente en pruebas separadas de fermentación [60]. Productos de fermentación como el acetato pueden ser oxidados a potenciales anódicos bajos por microorganismos anaerobios como los de la especie *Geobacter* [62].

Esta variación metabólica, junto con los datos de potenciales redox, proveen una visión sobre la electrodinámica de los microorganismos. Una CCM, operada a baja resistencia externa, generará inicialmente poca corriente eléctrica durante el crecimiento de la biomasa, por lo tanto, tendrá un potencial anódico alto. El resultado es una selección entre aerobios facultativos y anaerobios. Cuando una resistencia alta es usada, el potencial del ánodo será bajo, incluso a niveles bajos de corriente; en ese caso, uno deberá seleccionar microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos [80, 49, 55].

Los microorganismos empleados ejercen mucha influencia sobre la capacidad de la CCM de producir electricidad. Se ha reportado que las CCM que utilizan cultivos mixtos y consorcios bacterianos tienen mejor eficiencia que aquellos que emplean cultivos puros [80, 49] por lo que fuentes acuíferas, con sedimentos y microorganismos en simbiosis, resultan muy buenas alternativas para el diseño de nuevas celdas microbianas de combustible [55].

Existen muchas fuentes de inóculos microbianos empleados en las CCM, muchas cepas son estudiadas como inóculo único, sin embargo se han demostrado mejores resultados con consorcios microbianos debido a que muchos de los productos generados por unas cepas son utilizados por otras en la transformación del sustrato [29]. Para decidir si un inóculo puede ser apropiado para un determinado sustrato, es necesario conocer su características bioquímicas y las condiciones en las que funciona mejor.

El rumen bovino es la primera cámara del canal alimenticio de los rumiantes y es el principal sitio de fermentación microbiana para la digestión de los alimentos. La flora del rumen bovino está compuesta de un consorcio microbiano muy variado, que incluye bacterias, hongos, protozoarios y virus, de los cuales los más abundantes son las bacterias [37, 43]. La flora bacteriana del rumen participa de manera cooperativa del catabolismo de sustratos, es decir, ninguna cepa por sí sola es responsable de la completa degradación de las sustancias complejas propias de la alimentación de los bovinos, como proteínas, celulosa, almidones, etc [44]. Existen entonces, relaciones de co-dependencia significativas entre los microorganismos del rumen bovino para la degradación de sustratos complejos como la lignocelulosa.

La mayoría de los microorganismos encontrados en el rumen son metanogénicos y lignocelulolíticos, encontrándose géneros como *Clostridium*, *Bacteroides*, *Succinivibrio*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Megasphaera*, *Butyrivibrio*, *Ruminobacter*, *Cytophaga*, *Roseburia*, and *Selenomonas* [13, 44]. Sin embargo la flora bacteriana ruminal no es estándar, varía de acuerdo a la alimentación de cada animal y se refleja en las concentraciones de cada género encontradas en bovinos [13].

1.6. Sustratos en celdas de combustible microbianas

El sustrato, dentro del diseño de celdas microbianas de combustible, es un aspecto de suma importancia que afecta directamente a la producción eléctrica [59]. El sustrato se define como la materia biodegradable que los microorganismos transformarán y oxidarán en la celda de combustible y cuyos electrones liberados irán hacia el ánodo.

El acetato es, hasta ahora, el sustrato más usado para la producción de electricidad. La propiedad recalcitrante de las aguas residuales los hace más difícil de utilizar que el acetato [76] ya que este es un sustrato simple y una fuente de carbón altamente utilizada para inducir a las bacterias electro activas [9]. Además el acetato es el producto final de muchas vías metabólicas para productos carbonados más grandes [8]. Usando una CMC de cámara simple se ha reportado que el poder generado con acetato

(506 mW/m², 800mg/L) fue mayor en un 66 % al reportado con butirato (305 mW/m², 1000mg/L) [47]. Incluso recientemente se comparó la eficiencia de cuatro diferentes sustratos en términos de producción eléctrica, encontrándose que la mayor eficiencia la tenía el modelo basado en acetato, seguido del butirato, después el propianato y finalmente la glucosa [14]. Por otra parte, cuando se comparó el acetato y aguas residuales ricas en proteínas, el consorcio del diseño en base a acetato alcanzó el doble de producción de electricidad que el modelo de aguas residuales, además se logró un 50 % más de eficiencia en resistencia de carga externa [51]. De cualquier modo, siendo las aguas residuales un sustrato complejo permite el crecimiento de una comunidad bacteria más diversa que en el caso del acetato.

La glucosa es otro sustrato comúnmente usado en celdas de combustible microbianas. En el año 2000 se reportó una celda inoculada con *Proteus vulgaris* cuya eficiencia dependía de la fuente de carbono a emplear en el medio inicial de microorganismo y las células iniciadas en un cultivo con glucosa duraron por muy poco tiempo a comparación de las iniciadas en galactosa [40]. Por otra parte se reportó una densidad eléctrica de 216 W/m³ obtenida a partir de un biorreactor tipo fed-batch usando cianuro férrico 100mM como oxidante del cátodo [67]. En un estudio hecho en el 2008 se comparó la eficiencia del acetato y la glucosa como sustratos encontrándose que la eficiencia de conversión de energía fue del 42 % con el acetato y de solo un 3 % con la glucosa [46]. Esta baja eficiencia se debe a que la glucosa es un sustrato fermentable implicando su consumo por diversos microorganismos que compiten, y cuyos metabolismos basados en fermentación y metanogénesis, estos últimos no producen electricidad [14].

También se han estudiado las aguas residuales como sustratos, este tiene muchas ventajas, la principal es su baja dureza, además es adecuada para la generación de energía debido a la cantidad de materia orgánica y compuestos carbonados y proteicos, y la baja concentración de sustancias inhibitorias como el amoníaco [30]. Un tipo de agua residual muy popular es el de industrias cerveceras y, aunque la concentración de sus componentes no es constante, se encuentra típicamente entre 3000 y 5000 mg de DQO/L, que es aproximadamente diez veces más concentrado que las aguas resi-

duales domésticas [83]. En el año 2008 se realizó el tratamiento de aguas residuales de cervecería empleando una MFC con cátodo aéreo externo generándose una potencia específica de 528 mW/m^2 tras haber agregado buffer fosfato 50mM al agua residual I[30].

Otro tipo de aguas residuales muy empleado son las aguas residuales de la industria del almidón, de los colorantes, teniendo como prioridad en este último la biorremediación de los tintes debido a su alta toxicidad. Recientemente se reportó el consumo de rojo brillante X-3B activo, un colorante azoderivado, en una CMC empleado glucosa y agua residual sintética como co-sustratos [75]. A pesar de altas concentraciones de tinte (incluso mayores a 1500mg/L), la decoloración no resultó inhibida, sin embargo, la generación de electricidad a partir de glucosa si se inhibió con concentraciones mayores a 300mg/L de colorante. Esto se atribuye a la competencia entre el colorante azoderivado y el ánodo por lo electrones liberados tras la oxidación de componentes carbonados [75].

Otra alternativa son los lixiviados de vertederos de basura. Este es el sustrato más contaminado que existe, está formado por cuatro componentes básicos: materia orgánica disuelta, macro componentes inorgánicos, metales pesados y compuestos orgánicos xenobióticos [42]. En el 2008 se diseñó una celda de flujo ascendente y con el cátodo aéreo, con la capacidad de generar electricidad de forma continua durante 50 horas [88]. Asimismo en el 2009 se demostró que es posible generar electricidad mientras se trata los lixiviados de un vertedero mediante una CCM en columna [33].

Los materiales lignocelulósicos lo componen principalmente los residuos agrícolas que, lamentablemente, no pueden ser directamente utilizados por los microorganismos en las CMC; primero deben degradarse a monosacáridos u otros compuestos de menor peso molecular [71]. Se ha reportado la generación de electricidad a partir de residuos de maíz (*Zea mays*) hidrolizados cuya máxima potencia específica fue de 371 mW/m^2 empleado un cátodo aéreo [90], asimismo también se reportó el uso de una celda de cámara simple con el mismo sustrato obteniendo resultados satisfactorios [84].

Recientemente se agregó a la lista de sustratos estudiados a la luz solar, esta es una fuente alternativa de sustrato en cuyos catalizadores se incluye a las algas y a las plantas. En el año 2005 se empleó el alga *Chlamydomonas reinhardtii* en la producción de hidrógeno por fotosíntesis que posteriormente es oxidado in situ para producir corriente eléctrica [73]. Por otro lado, en el 2008 se describió una CCM a base de luz solar que empleó *Rhodobacter sphaeroides* en la cámara anódica alimentada con succinato, cuyo potencial generado fue de 790 mW/m^2 [21].

1.7. Cascarilla de arroz y producción en Perú

La cascarilla de arroz es un tejido vegetal constituido por lignocelulosa y sílice [64] que proviene de la limpieza del arroz recién cosechado. Ha sido investigada mayormente como adsorbente de colorantes [81, 54], metales pesados [45, 5] y para mejorar la consistencia del concreto [11, 57], además se ha reportado su uso para producción de biocombustibles como el bio-etanol [1] y metano [16].



Figura 3: Cascarilla de Arroz. *Elaboración propia*

En el Perú, la última proyección de la producción de arroz a nivel nacional se realizó en el 2007. La producción de arroz cáscara en la economía del sector Agrario viene participando en el año 2004 con el 4.2 % dentro de la estructura total del Valor Bruto

de la Producción Agropecuaria y al mismo tiempo es un producto primario dentro del consumo de la población peruana, en donde el consumo ha venido mostrando un comportamiento ascendente, por ejemplo en el año 1950 el consumo per cápita era de 13.3 kg/hab*año mientras que en el año 2004 este consumo ha sido aproximadamente 47 kg/hab/año [25].

La participación de la producción de arroz cáscara de Arequipa es del 8.5 % con respecto a la producción nacional y ocupa el sexto lugar en cuanto a la importancia productiva debido a que la cosecha máxima que se ha obtenido en este departamento ha sido de 16 mil hectáreas cuya producción ha significado un total por encima de 200 mil toneladas en condiciones climáticas normales, en los últimos 7 años la producción de arroz se ha incrementando a una tasa promedio anual de 4.4 por ciento, la estacionalidad productiva de este cereal se da entre febrero y junio de todos los años y con mayor énfasis en el mes de abril, con rendimientos promedios por hectárea por encima de las 12 toneladas, el pronóstico que se ha obtenido con la aplicación de la metodología de Box y Jenkins para el año 2007 ha sido de 176 mil toneladas, las mismas que se han obtenido en forma mensual [25].

1.8. Diseños de celdas de combustible microbianas

Las celdas de doble cámara están formadas por dos cámaras, una anódica y otra catódica, las cuales están divididas por una membrana de intercambio protónico (PEM) o un puente salino por donde se dará el paso de protones a través del cátodo, mientras se bloquea la difusión de oxígeno en el ánodo. Normalmente son de tipo Bath con un medio definido en la cámara anódica, que puede ser glucosa o acetato. Por su estructura y el alto precio de las PEM, solo se realizan a escala laboratorio y sus compartimientos pueden tomar diferentes formas. En la figura 4 se pueden observar 5 diseños presentados por Du e el año 2007 tras una recopilación de los mejores diseños para CMC reportados hasta entonces [29]. La imagen A corresponde al diseño en forma cilíndrica, la imagen B en forma rectangular, la imagen C corresponde a una celda miniatura,

la D es una celda cilíndrica de flujo ascendente y la imagen E tiene una configuración con un compartimento catódico en forma de U. Por otra parte las imágenes D y E, por su tamaño son más adecuadas para el tratamiento de aguas residuales porque pueden ser llevadas a gran escala fácilmente, la única desventaja es que la energía que requieren para el reflujo de sustrato es mucho mayor a la que se alcanza a producir con las CCM, sin embargo esto pierde importancia ya que el objetivo principal de estas celdas es aminorar el gasto de energía en el tratamiento de aguas residuales.

Por otra parte las celdas de cámara simple tienen una ventaja evidente, son muy sencillas, económicas y llevarlas a gran escala es posible. Se caracterizan por poseer una cámara anódica y no requieren aireación en una cámara catódica. En la figura 5 se observa el diseño de una CCM cuya cámara anódica tiene forma rectangular y posee un cátodo poroso aéreo acoplado externamente y expuesto a aire. La imagen A corresponde a un sistema sencillo de cámara doble con un puente salino, la imagen B muestra 4 celdas tipo batch acopladas y de doble cámara separadas por una membrana, la imagen C es un modelo parecido al anterior con la diferencia que este tiene un flujo continuo de sustrato a través de una matriz granular de grafito, la imagen D es una celda fotoheterotrófica cuyo sustrato es la luz solar cuya cámara anódica está inmersa en la cámara catódica, la imagen E corresponde a una CMC de cámara simple en forma tubular con cátodo aéreo, finalmente la imagen F corresponde a una celda de cámara doble separadas por una membrana. El segundo tipo es una celda en forma cilíndrica con el cátodo ubicado a un lado de la misma en contacto con el aire, el ánodo en este caso es papel carbón y tiene una PEM dividiendo el interior de la cámara con el cátodo. Además se estudió una forma CCM tipo continua cuyo ánodo es grafito granuloso inmerso en todo el interior.

Otra característica de este tipo de celdas son los cátodos aéreos, esto quiere decir que se encuentran en contacto directo con el aire, siendo el oxígeno del ambiente el agente oxidante del cátodo. En otros caso incluso se puede dejar gotear un catolito, que originalmente iría dentro de una cámara, sobre el cátodo, de este modo no es necesario oxigenarlo ya que constantemente está en contacto con el oxígeno [48].

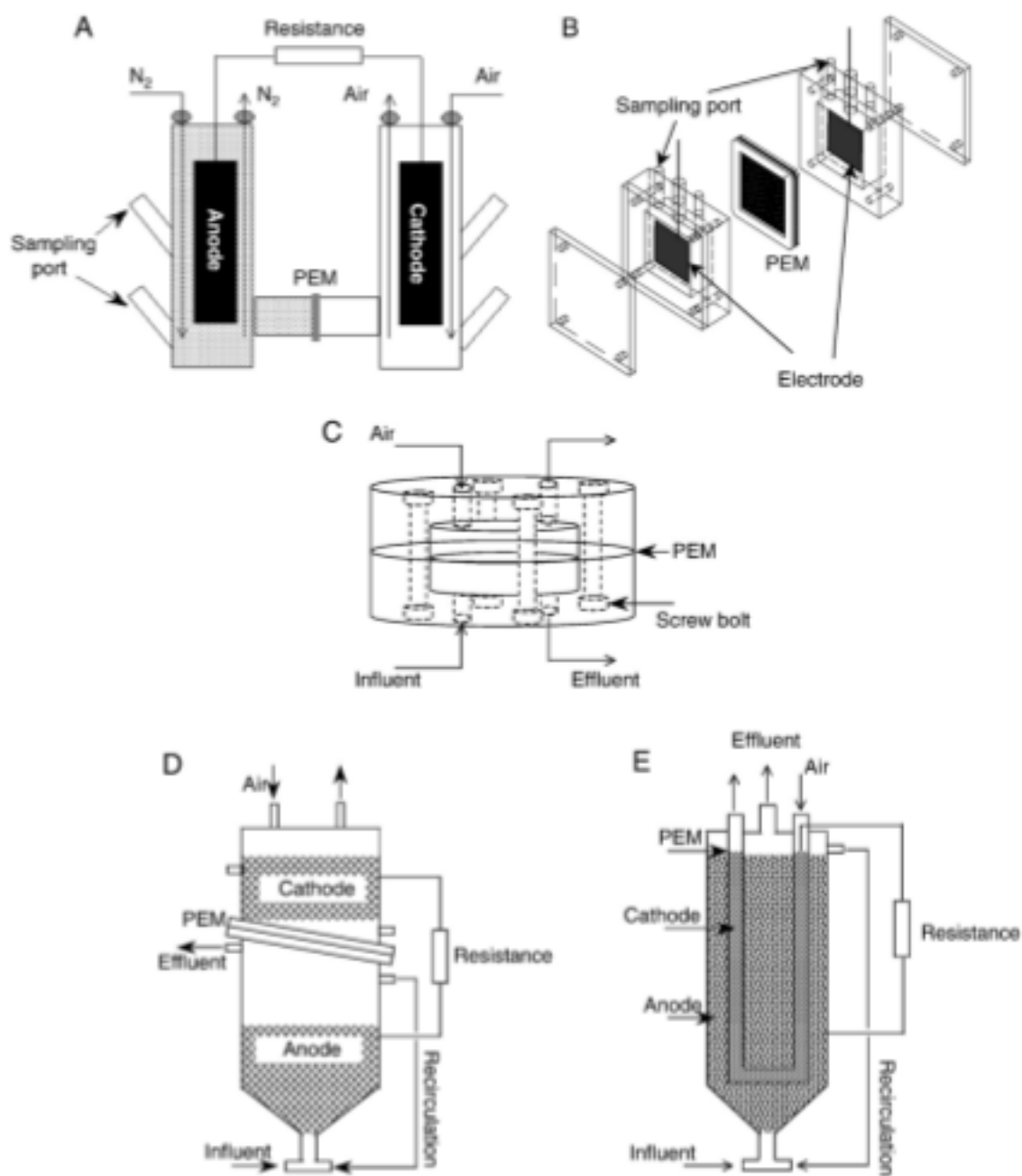


Figura 4: Esquemas de CCMs de doble cámara [29]

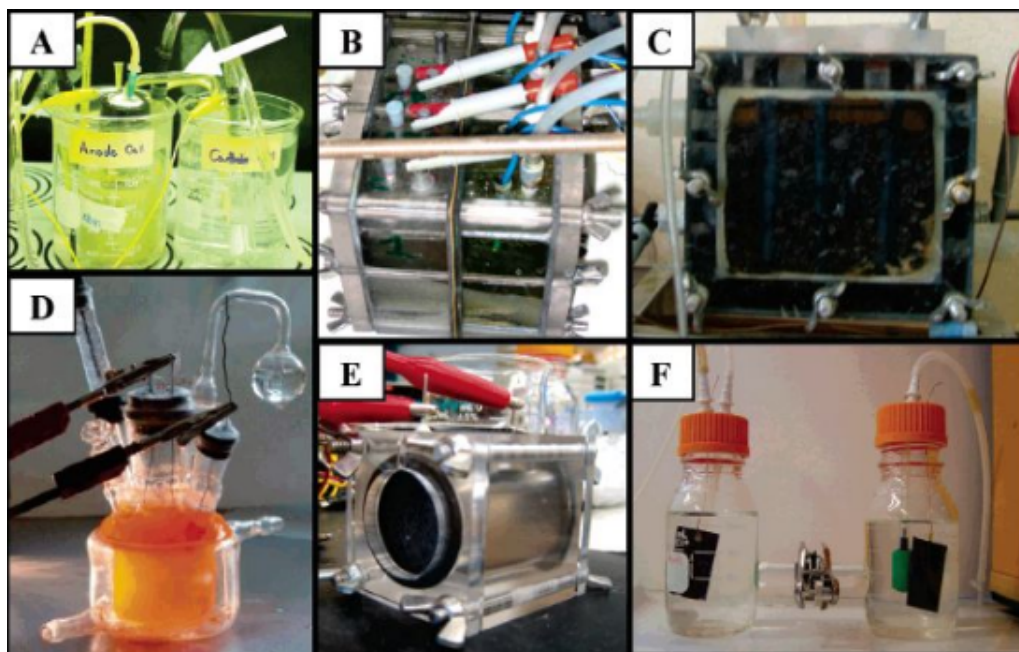


Figura 5: Imágenes de diversos modelos de CCM [51]

La desventaja de realizar un modelo de flujo continuo está en el gasto energético que representa la bomba, por ello, si el objetivo es producir energía, esta debe ser mayor a la que necesita la bomba para su funcionamiento, lamentablemente esto no ha sido logrado aún. Asimismo vienen a ser un poco más complejos por lo que llevarlo a escala se torna difícil.

Otro modelo altamente estudiado son las celdas apiladas, estas consisten en múltiples sub-cámaras unidas para formar electricidad en conjunto y pueden estar conectadas en serie o en paralelo. Normalmente en estos casos se emplean tanto cámara anódicas como catódicas pero existen excepciones. En la figura 4 se observa un esquema de una celda apilada en serie con ánodos de grafito granular y cátodos de papel carbón.

La ventaja de estas celdas se encuentra en que, al estar en serie o en paralelo, se aumenta la superficie de contacto de los electrodos, por ende se produce un mayor voltaje. Felizmente no se observa desventaja alguna ya que muchas veces no requiere uso de bombas.

Sin embargo, es necesario considerar también que las celdas apiladas conectadas en paralelo tienen mayor corriente de corto circuito que las celdas en serie. Esto quiere decir que se permite una mayor velocidad de reacción bio-electroquímica en la conexión en paralelo, por lo tanto, para maximizar la remoción de demanda química de oxígeno, se prefiere una conexión en paralelo en caso de que las celdas no operen independientemente [2].

Finalmente están las celdas de flujo ascendente. Estas celdas de flujo continuo normalmente son tubulares; como su nombre lo indica, tiene la entrada de sustrato en la parte inferior de la celda y este sube a través del cátodo hacia la parte superior [29]. La ventaja de este tipo de modelos radica en que el tiempo de residencia del sustrato es mayor a un flujo en una celda horizontal de flujo continuo. EL tiempo de residencia del sustrato es un factor importante ya que existe una velocidad de flujo en la cual se aprovecha al máximo el sustrato, con un tiempo mayor o menor la eficiencia disminuye ya que, o no se oxida todo el sustrato o se oxida mientras aun esta dentro de la celda [56]. Por otro lado existe una clara desventaja que es el uso obligatorio de bombas. Estas requieren una cantidad de energía que muchas veces supera a la producida por la misma celda.

En el año 2004 se reportó un diseño de flujo ascendente [38] que estaba constituido por un cilindro de plexiglás partido en dos secciones por una capa de fibra de vidrio y perlas de vidrio. Estas dos secciones servían como cámara anódica y catódica respectivamente. En la figura 4 se puede observar el diseño que corresponde a la imagen A. Tanto el ánodo como el cátodo fueron discos de grafito y se colocaron en la parte inferior y superior respectivamente. Por otro lado, la imagen B muestra otro diseño propuesto por Tartakosvky en el 2006 basado en el modelo anterior, en este caso el contenedor es rectangular y sin separación física entre las dos cámaras, por ende, no existen catolito y anolito separados, la barrera de división en este caso es la gradiente de demanda de oxígeno, la cual es mayor abajo y va disminuyendo a medida que va subiendo [78]. Otros modelos pueden observarse en la figura 5. Tanto la imagen A, como la B son celdas de flujo ascendente con la diferencia que en el modelo A, el cátodo

es aéreo y externo. En la imagen B el cátodo está en la parte superior y las dos cámaras son separadas por una PEM.

1.9. Antecedentes de uso de cascarilla de arroz y rumen bovino en celdas de combustible microbianas

Hasta la fecha no se encuentran antecedentes de uso de cascarilla de arroz y rumen bovino en una misma celda de combustible microbiana, sin embargo existen trabajos que nos acercan mucho a esta idea. La cascarilla de arroz es un material lignocelulósico, que ha sido estudiando como fuente de azúcares para fermentación y producción de bio-etanol [1], para lo cual se le aplicó diversos métodos físico-químicos para lograr su hidrólisis, la hidrólisis en este caso no fue realizada por microorganismos. Otra investigación si reportó el uso de microorganismos lignocelulósicos para la fermentación de la cascarilla de arroz, esta investigación tenía como objetivo la producción de gas natural, este proceso fermentativo es similar al que ocurriría en una celda de combustible microbiana [16]. Por otra parte si se ha estudiado ampliamente el uso del rumen bovino, o de su flora aislada in vitro, en las celdas de combustible. Los primeros avances reportaron su uso en una celda alimentada con celulosa de grado analítico, se observó que las bacterias del rumen bovino eran capaces de transformar la celulosa en azúcares para su posterior oxidación en presencia de diversos catolitos [20]. Posteriormente se reportó el uso de bacterias del rumen bovino utilizando pajilla de arroz como sustrato, alcanzando una densidad de poder de $145 \text{ mW}/\text{m}^2$ con una concentración inicial de pajilla de arroz de 1 g/L [34]. EL rumen bovino ha sido estudiado además en la degradación de diversos residuos lignocelulósicos como *Canna indica* [87]. Estas investigaciones indican que el rumen bovino es capaz de degradar celulosa bajo las condiciones de una CCM y ejercer propiedades electroquímicas para reducir el ánodo, mientras se va generando electricidad [20].

Capítulo 2

Materiales y métodos

En el presente capítulo se mostrarán los resultados obtenidos tras el periodo de ejecución de la tesis, además se discutirá acerca de la relevancia de los resultados, se comparará con otras investigaciones y se discutirán otras eventualidades surgidas durante la ejecución de los métodos.

2.1. Lugar de ejecución y toma de muestras

Esta investigación fue realizada en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María, en los laboratorios H-104, H-105 y H-203. Las muestras de licor ruminal bovino fueron obtenidas del camal frigorífico Don goyo a partir de los residuos frescos del beneficio de bovinos y las muestras de cascarilla de arroz se obtuvieron de un mercado en la ciudad de Arequipa.

2.2. Materiales

2.2.1. Reactivos

1. Hidróxido de sodio, grado reactivo analítico, Sigma.
2. Acetato de plomo, grado reactivo analítico, Merck.
3. Cloruro de potasio, grado reactivo analítico, Merck.
4. Oxalato de sodio, grado reactivo analítico, Sigma
5. Ácido clorhídrico concentrado, grado reactivo analítico, JT Baker.

6. Licor de Fehling A, grado reactivo analítico, JT Baker.
7. Licor de Fehling B, grado reactivo analítico, JT Baker.
8. Ácido clorhídrico, grado reactivo analítico, JT Merck.
9. Ácido sulfúrico concentrado, grado reactivo analítico, Merck.
10. Agua destilada.

2.2.2. Biológicos

1. Licor ruminal bovino.
2. Cascarilla de arroz.

2.2.3. Equipos

1. Adquisidor de datos NI-6008 National Instruments.
2. Multímetro digital.
3. Balanza analítica de cuatro ceros.
4. Estufa
5. Autoclave
6. Bomba de vacío
7. Potenciómetro
8. Termómetro ambiental
9. Autoclave

2.2.4. Vidrio

1. Equipo de reflujo
2. Erlenmeyers 100 mL, 250 mL, 500 mL
3. Vasos de precipitado 250 mL, 500 mL, 1000 mL
4. Pipetas de 1 mL y 10 mL
5. Baguetas
6. Vasos de 500 mL y 1000 mL
7. Bureta de 500 mL
8. Probeta de 100 mL, 500 mL
9. Botellas con septa de 150 mL
10. Botellas con tapa de 125 mL
11. Fiolas de 100 mL y 500 mL
12. Matrices kitasato
13. Embudos
14. Goteros
15. Puente salino

2.2.5. Otros

1. Papel filtro
2. Embudo Büchner
3. Cápsulas

4. Caimanes
5. Resistencias de 500 mOhmios
6. Malla de acero inoxidable 301
7. Cables de cobre
8. Resistencias de 0.5 y 1 ohmio
9. Manguera de pecera
10. Parafilm
11. Cinta de teflón

2.3. Diseño Experimental

2.3.1. Diseño de la estructura física de la celda

Para determinar que estructura de celda emplear se tomaron en cuenta los siguientes principios:

1. Los gastos de producción de la celda deben ser los mínimos, no tendría sentido crear una celda que sea costosa de producir.
2. Los gastos de operación de la celda deben ser los mínimos, ya que queremos probar si los microorganismos empleados y el sustrato empleado producirán electricidad por si solos.
3. No debemos operar con bombas y termostatos, ya que buscamos crear una celda que pueda operar a temperatura ambiente y condiciones normales.

Por ello se siguió el modelo más común, el de doble cámara, sin embargo se realizó una mejora para acercarse más al diseño de una batería AA por lo que se optó por in-

sertar la cámara anódica dentro de la catódica, con el fin de proteger la cámara anódica de la influencia del exterior.

El material a emplear en la construcción de las cámaras no debe ser conductor, esto reduciría radicalmente la eficiencia de la celda, además debe ser económico, duradero y de preferencia reciclable, el vidrio es un material que cumple con todas estas características.

Para proteger la celda de combustible de la influencia de la luz solar se pintaron las celdas de color negro por la parte exterior.

El material para construir los electrodos debe ser económico y duradero, muchos materiales han sido evaluados como electrodos de celdas de combustible, sin embargo sus costos son elevados. Los materiales más económicos son el aluminio y el acero inoxidable, sin embargo el aluminio no es duradero y se corroe fácilmente. Se decidió emplear malla de acero inoxidable de porosidad fina, su estructura porosa asegura una buena superficie de contacto para la adhesión de los microorganismos. Para estandarizar su función en ambas cámaras se emplearon las mismas dimensiones en ambos casos.

Las celdas funcionan mucho mejor si no ingresa oxígeno a la cámara anódica, por ello se cerró esta cámara con parafilm, un material flexible y aislante. Sin embargo la cámara catódica si debe estar expuesta al oxígeno, por ello se cerró con parafilm esta cámara pero se agregó una valvula pequeña con filtro que permite el ingreso de aire libre de microorganismos.

El diseño de la estructura física queda plasmado en el Anexo 6.

2.3.2. Unidad experimental

Consiste en celdas de dos cámaras concéntricas de vidrio de color negro, con una capacidad de 570 mL y volumen de cabecera de 30 %. Los electrodos de ambas cámaras son de malla de acero inoxidable 301 con porosidad fina con una superficie de

350cm^2 . Están unidas a través de puentes salinos de cloruro de potasio 1M. Incluye caimanes con cables de cobre rotulados para conectar los electrodos a las resistencias externas, al multímetro y al dispositivo de adquisición de datos.



Figura 6: Unidad experimental antes de ser ensamblada

2.3.3. Tratamientos aplicados

Se aplicó el siguiente tratamiento para observar el efecto de los microorganismos ruminales en la celda de combustible microbiana

- **Control negativo:** 3 celdas de combustible microbianas con rumen bovino esterilizado
- **Tratamiento:** 3 celdas de combustible microbianas con rumen bovino sin esterilizar

Se aplicó el siguiente tratamiento para observar el efecto de la cascarilla de arroz como sustrato en la celda de combustible microbiana

- **Control negativo:** 3 celdas de combustible microbianas con rumen bovino

- **Tratamiento:** 3 celdas de combustible microbianas con rumen bovino y cascarilla de arroz



Figura 7: Pre-tratamiento de rumen bovino mediante filtrado.

2.4. Métodos

2.4.1. Recolección y pre-tratamiento de material biológico

El rumen bovino fue recolectado del camal de beneficio Don goyo a primera hora (6:00 am, hora de beneficio del animal), en un envase estéril hermético y almacenado en frío, posteriormente se filtró para retirar restos de alimento antes de ser utilizado en las celdas. Se realizó una medición del pH para asegurar su buen estado.

2.4.2. Diseño y operación de la celda de combustible microbiana

Se construyeron seis celdas empleando dos tipos de envases de vidrio, el primero de 1330 mL de volumen, con 17cm de alto y 10cm de diámetro que fue utilizado para la cámara catódica y el segundo de aproximadamente 570 mL de volumen, con 15cm de alto y 7cm de diámetro, el cual fue empleado para la cámara anódica. Ambos envases fueron pintados de negro para evitar la influencia de la luz solar sobre las celdas.

Tabla 1: Configuración de las celdas de combustible microbianas para la evaluación del efecto de los microorganismos.

Celda	Contenido	Tiempo	Resistencia
1	20 mL de RP	5 días	Ninguna
2	20 mL de RP	5 días	Ninguna
3	20 mL de RP	5 días	Ninguna
4	20 mL de RPE	5 días	Ninguna
5	20 mL de RPE	5 días	Ninguna
6	20 mL de RPE	5 días	Ninguna

Cada celda consiste en dos cámaras, el envase de 570 mL se insertó dentro del de 1330 mL resultando dos espacios concéntricos de 570 mL cada uno aproximadamente. Los electrodos de ambas cámaras fueron contruidos con malla de acero inoxidable 301 con porosidad fina, cuya superficie es de 350cm^2 . Ambos electrodos fueron colocados dentro de cada cámara. Se fabricaron puentes salinos con una solución de cloruro de potasio 1M en agar para conectar la cámaras entre sí. Ningun puente salino fue reemplazado durante la evaluación. Se emplearon caimanos con cables de cobre para conectar los electrodos a las resistencias externas, al multímetro y al dispositivo de adquisición de datos, rotulándose cada cable. La cámara anódica fue aislada del aire sellandola con parafilm, la cámara catódica fue cerrada con papel aluminio evitando su contacto con cables o electrodos.

Se armaron seis celdas que fueron empleadas para evaluar el efecto de los microorganismos y posteriormente el efecto de la cascarilla de arroz como sustrato. El contenido de las celdas se especifica en la tabla 1, donde RPE es rumen pre-tratado y esterilizado, RP es rumen Pre-tratado y CA corresponde a cascarilla de arroz. Esta tabla ofrece una vista completa de las características de las celdas de acuerdo a su contenido, objetivo de evaluación, tiempo de evaluación y las resistencias empleadas. Para el estudio del efecto de la flora microbiana no se empleó ninguna resistencia externa

debido a que no era necesario la cuantificación de la energía producida, a este tipo de configuración se denomina "circuito libre".

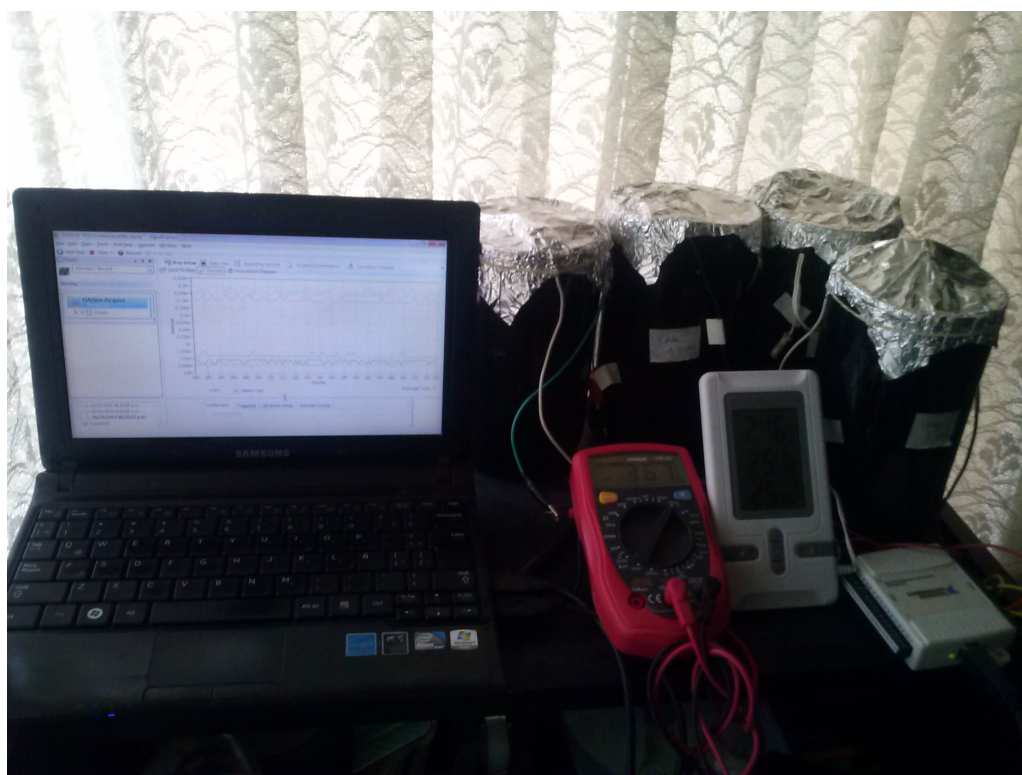


Figura 8: Operación de las celdas de combustible microbianas

2.4.3. Evaluación del efecto del rumen bovino como inóculo microbiano

Para la evaluación del efecto de la flora microbiana se evaluó únicamente la diferencia de potencial armando las celdas tal como se muestra en la tabla 2, donde RPE es rumen pre-tratado y esterilizado, RP es rumen pre-tratado y CA corresponde a cascarilla de arroz.

Todas las cámaras fueron esterilizadas por autoclave antes de armar las celdas. Se emplearon tres celdas blanco (celdas 4, 5 y 6) inoculando con 20 mL de rumen bovino pre-tratado y esterilizado por autoclave a 121°C por 15°C y adicionando 380 mL de agua destilada estéril, esto con el fin de evaluar la funcionalidad de la celda en ausencia de microorganismos vivos. En las cámaras catódicas se colocó agua destilada esteril

Tabla 2: Configuración de las celdas de combustible microbianas para la evaluación del efecto del sustrato.

Celda	Contenido	Tiempo	Resistencia
1	20 mL de RP + 1 g de CA	46 días	680mΩ
2	20 mL de RP + 1 g de CA	46 días	680mΩ
3	20 mL de RP + 1 g de CA	46 días	680mΩ
4	20 mL de RP	14 días	680mΩ
5	20 mL de RP	14 días	680mΩ
6	20 mL de RP	14 días	680mΩ

saturada en oxígeno. Las celdas 1, 2 y 3 corresponden al tratamiento con 20 mL de rumen bovino pre-tratado. Las celdas fueron conectadas a un multímetro en modo lectura de voltaje y se tomaron muestras cada 12 horas durante 5 días sin colocar resistencias externas. Se evaluó la temperatura cada 3 horas empleando un termómetro ambiental.

Las conexiones se realizaron tal como muestra el diagrama PID correspondiente en la figura 9, donde TI es el indicador de temperatura e II corresponde al indicador de corriente.

2.4.4. Evaluación del efecto de la cascarilla de arroz como sustrato

Para la evaluación del efecto de la cascarilla de arroz como sustrato en la celda se llevaron a cabo dos etapas a las cuales llamaremos Etapa Experimental 1 y Etapa Experimental 2.

Etapa Experimental 1 Consiste en el funcionamiento de todas las celdas únicamente con rumen bovino, con el fin de agotar las reservas de azúcares propias del rumen. Todas las cámaras fueron esterilizadas por autoclave antes de armar las celdas. En la

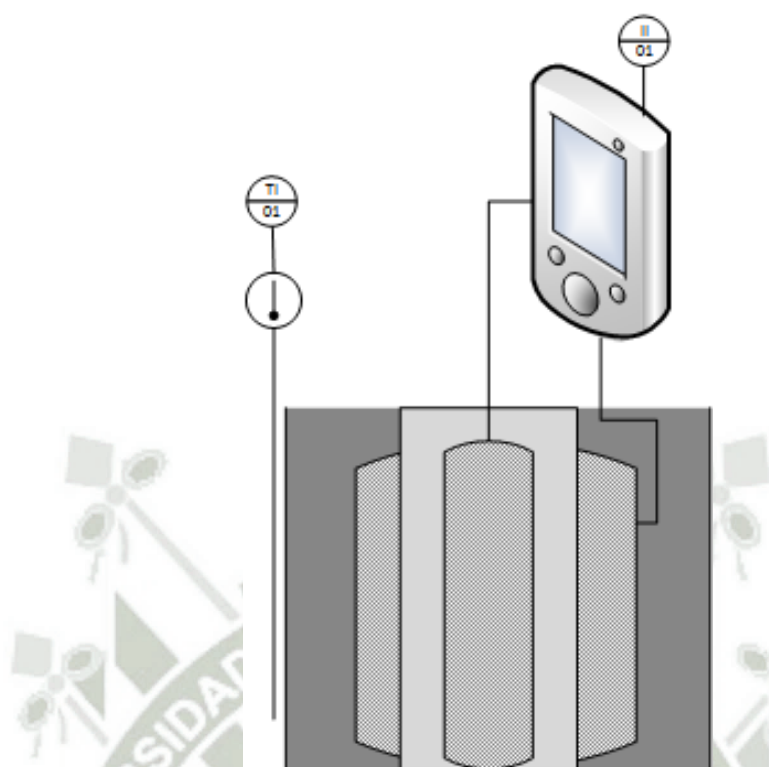


Figura 9: Diagrama PID de la celda de combustible microbiana para evaluar el efecto de los microorganismos.



Figura 10: Cámaras de la celda de combustible microbiana mostrando los electrodos colocados.

cámara catódica se colocó 400 mL de agua destilada saturada de oxígeno. Se colocó 20 mL de rumen pretratado en 380 mL de agua destilada estéril (Sol. al 5 %) en la cámara anódica, quedando un volumen de cabecera del 30 % para luego colocar la cámara anódica dentro de la cámara catódica. En las cámaras catódicas se colocó agua destilada estéril saturada en oxígeno. Se colocaron electrodos enrollados como lo muestra la figura 10. Las conexiones se realizaron tal como muestra el diagrama PID correspondiente en la figura 11, donde TI es el indicador de temperatura e IRC corresponde al indicador y controlador de corriente. Finalmente se colocó el puente salino y se conectaron los electrodos al multímetro y al equipo de adquisición de datos para su evaluación tal como lo muestra la figura 11, cerrando la cámara anódica con parafilm y la catódica con parafilm y papel aluminio para evitar la influencia de la luz solar. Las celdas fueron evaluadas de modo continuo y a temperatura ambiente la cual también se registró. Se determinó el fin de la etapa experimental 1 cuando la curva de voltaje de las celdas empezó a descender, el funcionamiento de las celdas bajo estas condiciones duró 348 horas, equivalente a 14 días y 12 horas.

Etapas Experimentales Consiste en el funcionamiento de las celdas 1, 2 y 3 con el rumen bovino agotado agregándole la cascarilla de arroz pre-tratada, con el fin de evaluar y comprobar el consumo de la cascarilla de arroz como sustrato de la celda. Para esta etapa las celdas 1, 2 y 3 de la etapa experimental 1 se abrieron para agregar 1 g de cascarilla de arroz pre-tratada y se cerraron tal como se describe en la etapa experimental 1. Las celdas fueron evaluadas de modo continuo y a temperatura ambiente. Se determinó el fin de la etapa experimental 2 tras 756 horas, equivalentes a 31 días y 12 horas de funcionamiento posteriores a la adición de la cascarilla de arroz, a pesar de que la curva de potencia seguía constante en las 3 celdas. Se vació el contenido de cada una de las cámaras anódicas con mucho cuidado y se filtró al vacío para separar los sólidos y analizarlos. El sobrenadante tenía una ligera coloración gris casi transparente. Las tortas presentaban ligeras pigmentaciones verdes sobre las cascarillas.

El registro de los resultados de la operación de estas celdas fue realizada mediante

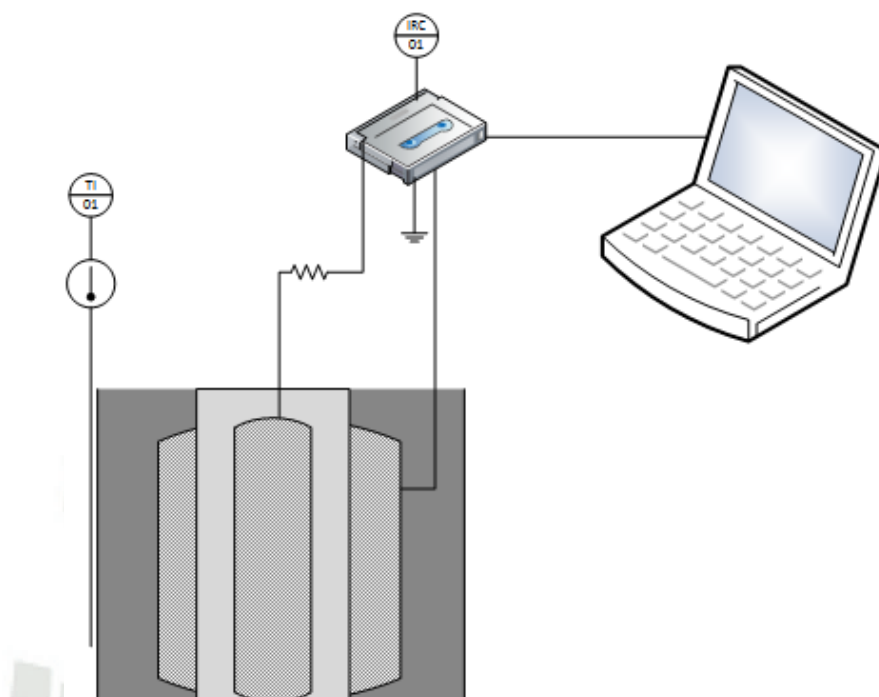


Figura 11: Diagrama PID de las celdas de combustible para la evaluación del efecto del sustrato.

el software Signal Express a través de un equipo adquisidor de datos (NI USB-6008 de National Instruments) el cual permitió registrar amperajes de modo continuo y con control de errores. Se trabajó a una temperatura promedio de 22.37 ± 1.04 que fue medida con un termómetro ambiental, registrándose la temperatura cada 12 horas (Véase Anexo 1). El software permitió el registro de Intensidad de corriente por conexión analógica en amperios tomando 100 valores por segundo los cuales fueron promediados para obtener un valor por segundo.

2.4.5. Análisis de sólidos totales

Tras finalizar la evaluación del efecto del sustrato se realizó este análisis a todas las celdas y a una muestra de 20 mL de rumen bovino pre-tratado. Se separaron los sólidos presentes en la celda retirando el ánodo devolviendo todo trozo de cascarilla de arroz a la cámara, se dejó sedimentar el contenido y se separó la mayor parte del



Figura 12: Recipientes tras secado para cálculo de sólidos totales

sobrenadante. Se reservó una muestra de 100 mL del sobrenadante para el análisis de azúcares reductores, el cual era ligeramente turbio y de color terroso muy suave. El precipitado se trasvasó en su totalidad a un envase de vidrio tal como lo muestra la figura 12 y se secó en la estufa a 92°C overnight registrando el peso del envase seco, peso húmedo y seco. Para el caso de rumen bovino, se colocó 20 mL en una cápsula y se secó bajo las mismas condiciones; se tomó el peso solo, con rumen y tras el secado. Se calculó los sólidos totales (ST) de las muestras mediante la ecuación 3.4.1.

$$ST_{antes} = \frac{\text{PesoSeco} - \text{PesoRecipiente}}{\text{PesoHumedo}} \quad (2.4.1)$$

Los sólidos totales fueron evaluados antes y después de la etapa experimental 2.

2.4.6. Análisis de concentración de azúcares reductores totales

Se evaluaron las muestras retiradas de la sedimentación previa al análisis de sólidos totales. Se realizó la misma evaluación a una muestra de rumen pre-tratado 2 horas después de la filtración.



Figura 13: Muestras para análisis de azúcares reductores totales

Se analizó la concentración de azúcares reductores mediante el método del licor de Fehling bajo la norma mexicana NMX-F-312-1978 [27]. Para ello se prepararon algunas soluciones previas al análisis:

1. Solución saturada de acetato neutro de plomo, 250 mL.
2. Solución de hidróxido de sodio 1N, 300 mL.

Se tomaron muestras de 5 mL de cada una de las muestras y se colocaron en matraces rotulados de 250 mL tal como lo muestra la figura 13, posteriormente se agregaron 100 mL de agua destilada a cada uno. Se agitó cada muestra uniformemente por 15-20 segundos para uniformizarlas. De la solución saturada de acetato neutro de plomo se tomaron 5 mL por cada muestra y se agregó a sus respectivos matraces, seguidamente se agitaron uniformemente durante 1 minuto y se dejaron sedimentar observándose un precipitado y un sobrenadante ligeramente blanco, tal como puede verse en la figuras 14 y 15.

Tras observar la sedimentación se agregó aproximadamente 2gr de oxalato de po-



Figura 14: Muestras tras adición de acetato neutro de plomo



Figura 15: Precipitación en muestras tras adición de acetato neutro de plomo



Figura 16: Filtración tras precipitación con oxalato de potasio

tasio hasta observar una segunda precipitación, en esta oportunidad se observó un sobrenadante transparente y un precipitado blanco. Para separar las dos fases se filtró al vacío como lo muestra la figura 16, lavando bien el matraz para reducir pérdidas.

En la figura 17 se observa que los precipitados no presentaban coloración. A cada filtrado se le agregó 10 mL de una solución de ácido clorhídrico concentrado y se calentó a 65°C aproximadamente por 15 segundos en un termostato evitando la excesiva liberación de vapores. Se detuvo la reacción colocando los matraces en agua con abundante hielo.

Una vez fríos (10°C aprox.) se neutralizó con la solución de NaOH 1N midiéndose con un potenciómetro previamente calibrado tal como demuestra la figura 18.

Se colocó cada una de estas soluciones en una bureta y para cada titulación se preparó un título de 5 mL de Fehling A con 5 mL de Fehling B y 50mL de agua en ebullición, el cual tomó color azul como se observa en la figura 19.

El licor de Fehling se calentó hasta ebullicir y se tituló como lo muestra la figura 20 con el preparado hasta observarse un precipitado de color rojo ladrillo, el la figura 21



Figura 17: Apariencia del filtrado tras adición del oxalato de potasio



Figura 18: Nivelación de pH del filtrado



Figura 19: Licor de Fehling empleado para la titulación

se observa que este precipitado puede verse cuando se detiene la agitación del título.

Se agregó 1 mL de la disolución de azul de metileno y se completó la titulación hasta la decoloración del indicador.

Se midió la cantidad gastada y se aplicó la ecuación 3.4.2 para el cálculo de azúcares reductores por mL de muestra.

$$\text{AzucareReductores} = \frac{0,05 * 25000}{\text{gasto} * \text{titulo}(5\text{mL})} \quad (2.4.2)$$

2.4.7. Determinación de voltaje

El voltaje es una magnitud física que cuantifica la diferencia de potencial eléctrico entre dos puntos, en el caso de una celda de combustible microbiana, estos puntos corresponden a la cámara anódica y la cámara catódica, ya que los electrones fluyen desde el ánodo hacia el cátodo. También es expresado como el trabajo por unidad de carga ejercido por el campo eléctrico sobre una partícula cargada para moverla entre



Figura 20: Titulación del licor de Fehling



Figura 21: Inicio de aparición de precipitado rojo ladrillo para la muestra de rumen

dos posiciones determinadas. El voltaje es independiente de la longitud del camino recorrido por el electrón y depende exclusivamente del potencial eléctrico de ambos puntos en el campo eléctrico. Se calculó el voltaje producido por las celdas a partir de los datos registrados de Intensidad de corriente empleando la ley de Ohm (ecuación 3.4.3), donde I es intensidad en amperios, V es el voltaje en voltios, Q es la carga en coulombs y t corresponde al tiempo expresado en segundos.

$$I = \frac{V}{R} = \frac{Q}{t} \quad (2.4.3)$$

2.4.8. Determinación de potencia

La potencia eléctrica es la relación de paso de energía de un flujo por unidad de tiempo, en otras palabras, la cantidad de energía entregada o absorbida por un elemento en un tiempo determinado. La potencia desarrollada en las celdas es el producto de la diferencia de potencial entre el terminal positivo y negativo y la intensidad de corriente que pasa a través de ella. Por ello se calculó en base a los resultados de voltaje e intensidad de corriente según la fórmula para corriente continua (ecuación 3.4.4), donde P es la potencia en watts, I es intensidad de corriente en amperios y V es voltaje en voltios.

$$P = I * V \quad (2.4.4)$$

2.4.9. Determinación de densidad de potencia

Se define la densidad de potencia como la potencia ejercida por cada m^2 de ánodo. La densidad de potencia, denominada DP, se calculó dividiendo la potencia calculada con la ecuación 3.4.4 entre el área total de ánodo y se expresa en Watts/m^2 (ecuación 3.4.5).

$$DP = \frac{P}{A} \quad (2.4.5)$$

2.4.10. Determinación de la energía total producida

El equipo de adquisición de datos nos permitió medir 100 valores por segundo. Los datos de intensidad de corriente fueron promediados para obtener un valor promedio por segundo. Comúnmente se calcula el valor de la energía producida multiplicando el valor de la potencia por el tiempo en segundos de funcionamiento del artefacto. Sin embargo en las celdas evaluadas no se obtuvo un valor de potencia constante debido a la naturaleza biológica de la celda, por lo tanto se tomó cada valor obtenido por segundo y se sumó el total de los valores.

2.4.11. Relación de consumo de sólidos totales y producción de energía

Para hacer una comparación entre el consumo de sólidos totales y la producción de energía por la celda se consideraron únicamente los datos de sólidos totales reportados para las celdas 1, 2 y 3. No se consideraron las celdas 4, 5 y 6 debido a que utilizan un mismo valor de sólidos totales, correspondiente al promedio del peso seco del rumen bovino pre-tratado y reportaron diferentes valores de energía total producida. Para el análisis se realizaron pruebas estadísticas de ajuste de curva y regresión lineal.

2.4.12. Análisis estadístico

Todos los datos fueron registrados en Excel y se realizaron pruebas estadísticas de comparación de muestras incluyendo la prueba ANOVA. Para el caso del consumo de sustrato se realizaron pruebas de comparación de muestras pareadas. Para determinar la relación entre el consumo del sustrato y la producción total de energía se realizó un ajuste de curva con regresión lineal. Todas las pruebas estadísticas se realizaron empleando el software Statgraphics.

Capítulo 3

Resultados y Discusión

3.1. Evaluación del efecto del rumen bovino como inóculo microbiano

3.1.1. Determinación de pH

Previamente al uso del rumen bovino en las celdas se realizó una medida de su pH para determinar su buena conservación. Se realizó la medición del pH del rumen bovino empleando una cinta de pH, debido a que el uso de un potenciómetro podría contaminar la muestra, además no existía suficiente muestra como para cubrir totalmente el electrodo de un potenciómetro. Tal como muestra la figura 22, la muestra de rumen bovino obtenida tiene un pH de 7, tal como se reporta en otras investigaciones [41, 86, 24]. El pH del rumen permite indicar su estado y asegura una buena población de microorganismos. Un pH neutro o cercano a seis nos permite asegurar un buen desempeño de las enzimas producidas por los microorganismos, tal como menciona Das, las enzimas celulolíticas bovinas tienen un pH ideal de desempeño de 7 [24]. Dado que se obtuvo un pH neutro se asume que existe una buena proporción de microorganismos anaeróbicos y con actividad lignocelulósica.

3.1.2. Determinación de voltaje

La diferencia de potencial registrada en las seis celdas de esta etapa se muestra en la figura 23, en la cual se puede observar una evidente diferencia entre las celdas de rumen bovino (RB) y las celdas con rumen bovino estéril (RBE). Se observa que el rumen bovino estéril, al no contener microorganismos vivos, no pueden degradar la



Figura 22: Medición del pH del rumen bovino, se observa un pH de 7.

materia orgánica y tampoco pueden reducir el ánodo, por lo tanto, el multímetro detectó cifras muy inferiores a 0.01mV, incluso inferiores a 0, que resulta cuando el aparato no detecta actividad eléctrica en materiales que son capaces de conducir electricidad.

Cuando se colocan los electrodos del multímetro en materiales como concreto se detecta el valor exacto de cero, sin embargo cuando se colocan en materiales sensibles a la estática se detectan estos valores altamente inestables de micro-voltios. Debido a la evidente diferencia de valores es que se determinó culminar la evaluación tras cinco días de funcionamiento. Tras 348 horas de funcionamiento se agregó 1 g de cascarilla de arroz a las celdas 1, 2 y 3 dejando intactas las celdas 4, 5 y 6. Se observa una fase lag inicial muy corta.

La mayoría de artículos relacionados al tema no consideran el efecto de los microorganismos en términos de ausencia y presencia, sino que comparan diferentes especies por separado, o en conjunto, evidenciando que cada especie de microorganismo tiene un mecanismo distinto de producción de energía, que tienen cierta preferencia por determinados sustratos, que tienen desempeños diferentes respecto a la temperatura y

además de la capacidad de trabajar en simbiosis [29].

Voltaje producido en celdas con rumen y rumen estéril, en voltios.

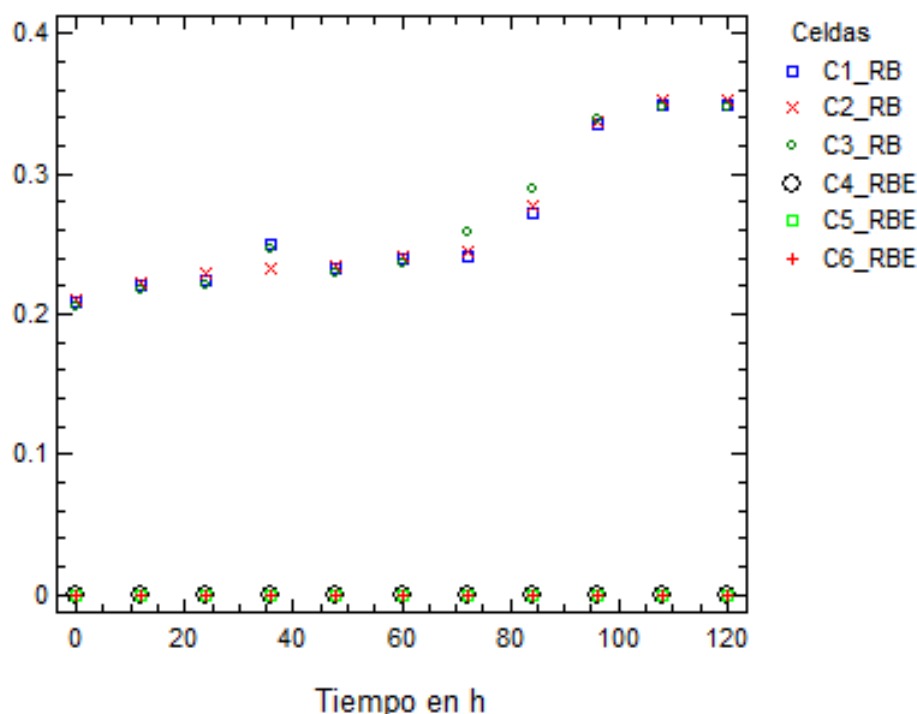


Figura 23: Resultados de evaluación del efecto de los microorganismos ruminales en términos de voltaje

A propósito de la simbiosis, se ha demostrado que las celdas de combustible microbianas tienen un mejor desempeño trabajando en grupo, que por separado [52], esto es debido a la mayor variedad de enzimas, metabolitos y especies químicas activas de redox (mediadores) que pueden liberarse para la degradación del sustrato orgánico, es por ello que uno de los propósitos de este trabajo de investigación es emplear el rumen bovino como fuente natural de microorganismos en consorcio para la degradación de la cascarilla.

La producción de electricidad catalizada por los microorganismos es un fenómeno derivado de su propio metabolismo, a partir de las reacciones que permiten degradar materia orgánica en la naturaleza. La diferencia radica en la separación del aceptor final de electrones natural que se encuentra en su ambiente original, el cual es reemplazado

en las celdas por un aceptor artificial (los electrodos) de tal modo que la única vía de respiración celular es transfiriendo los electrones de la materia orgánica oxidada hacia el ánodo. En las celdas estudiadas, este cambio no representa un fuerte estrés a la comunidad microbiana debido a que la fuente de alimentación se encontraba en el mismo inóculo y el consorcio se encontraba adaptado al consumo de los residuos de alimento del ganado.

Se observa en la figura 23 un voltaje considerable generado en las celdas con rumen bovino desde el primer momento en que cierra el circuito de la celda, asimismo no se registra voltaje alguno en las celdas con rumen bovino estéril desde el inicio de la operación de la celda. Un comportamiento similar fue reportado por Wang al trabajar con rumen bovino y restos de planta de arroz generando un voltaje inicial de 0.4V empleando ferricianuro de potasio como catolito [20]. Sin embargo este comportamiento se da cuando los microorganismos no se encuentran adaptados al sustrato en cuestión, o cuando se trata de cepas de microorganismos conservadas en laboratorio y no directamente aisladas de ambientes naturales. Con frecuencia, las cepas conservadas en laboratorio tienden a perder ciertas cualidades de interés, por lo que es importante la conservación de cepas en medios que permitan continuar la expresión de sus características iniciales. Considerando otro estudio con materia celulósica como sustrato, Rezazei y otros lograron adaptar una cepa de *Enterobacter cloacae* para la degradación de celulosa en partículas, en este caso se observaron voltajes iniciales de 0V con una fase lag de 12 horas [71]; este comportamiento se debe a dos factores: solo se empleó una cepa que realizó la hidrólisis de la celulosa y la producción de electricidad, y que la cepa no se encontraba totalmente adaptada al sustrato.

3.2. Evaluación del efecto de la cascarilla de arroz como sustrato

3.2.1. Análisis de sólidos totales

Cuando se evalúa una celda cuyo sustrato tiene una composición conocida y un mecanismo de consumo profundamente estudiado y establecido, es posible evaluar con facilidad el consumo del sustrato para relacionarlo con la energía producida. Sin embargo en esta investigación se trabajó con un material considerado relativamente inerte y difícil de tratar, además de contar con pocos antecedentes y estudios respecto al mecanismo de transformación del sustrato por microorganismos ruminales. Por lo tanto, se hace difícil evaluar el consumo de la cascarilla de arroz. Para entender el motivo del análisis de sólidos totales y azúcares reductores es necesario hacer una revisión de algunos reportes de investigaciones relacionadas. Según Chang, en los materiales lignocelulósicos, la celulosa existe en una matriz de biopolímero junto con la lignina y hemicelulosa. De estos, la lignina es un polímero relativamente inerte por su carácter aromático y estructura irregular; la lignina está formada a partir de un mecanismo de polimerización de radicales libres que involucra unidades de hidroxifenilpropanoides [17]. Por otra parte, se cree que la lignina se une irreversiblemente a las celulasas, afectando la actividad celulolítica de las enzimas [77]. Contrariamente, las hemicelulosas son lo más susceptibles a la bio-descomposición en una matriz lignocelulósica [4]. La hemicelulosa sirve como un agente de unión covalente entre las microfibras de celulosa, la celulosa y la lignina [85].

En la investigación de Chin, donde se evalúan celdas a base de rumen y restos de planta de arroz, se concluye que los ácidos de fermentación más comunes encontrados son el ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico; además se confirmó que estos productos han sido transformados para la producción de electricidad en las celdas evaluadas de ese estudio [20], sin embargo, no explica la metodología de cómo sucedería la transformación.

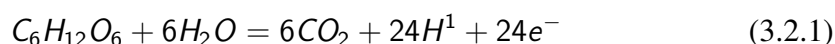
Paralelamente se investigó la supresión de la metanogénesis en celdas de combusti-

ble microbianas alimentadas con celulosa. En la investigación de Rismani se menciona que la metanogénesis es un fenómeno difícil de suprimir dentro de celdas alimentadas con polímeros de biomasa. En el ecosistema del rumen, la metanogénesis es un fenómeno común y un inconveniente potencial ya que se ha comprobado que reduce el potencial de la celda [72].

Ruminococcus flavefaciens, *Ruminococcus albus*, and *Fibrobacter succinogenes* son consideradas como las bacterias degradadoras de celulosa más importantes encontradas en el rumen y producen diversas enzimas celulolíticas, incluyendo endoglucanasas, exoglucanasas, glucosidasas y hemicelulasas. Adicionalmente, las bacterias ruminales digestoras de hemicelulosa predominantes, como *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Prevotella ruminicola* no tienen la habilidad de digerir la celulosa, pero pueden degradar xilano y pectinas y utilizar los azúcares degradados como sustratos [12].

Zuo concluye en una de sus investigaciones que, para que la masa lignocelulósica pueda ser empleada como sustrato en una celda de combustible microbiana, es necesario que los microorganismos involucrados (o en su defecto, algún proceso físico externo) produzca la liberación de azúcares solubles para el consumo de los microorganismos [90]. La celulosa dentro de la lignocelulosa en la cascarilla de arroz podría descomponerse en las unidades de β -glucosa de la que está compuesta, precisamente, la glucosa es el sustrato más estudiado en el área de las celdas de combustible microbianas.

Respecto a la transformación de la glucosa en las celdas de combustible microbianas, Chaudhuri y Lovley [18] indican que la oxidación de la glucosa en una celda microbiana de combustible rinde 24 electrones y produce dióxido de carbono e hidrógeno bajo la siguiente ecuación:



Por estas razones, teóricamente, la lignocelulosa podría degradarse dentro de la celda con microorganismos del rumen liberando glucosa, la cual se oxidaría produciendo

Tabla 3: Resultados del análisis de sólidos totales

Celda	Día 0, g	Día 46, g	Diferencia, g
1 - RB+CA	0.998	0.955	0.043
2 - RB+CA	0.996	0.949	0.047
3 - RB+CA	1.002	0.952	0.05

gases que se liberarían al exterior, causando paralelamente la pérdida de sólidos dentro de la cámara anódica. Las cámaras anódicas de las celdas evaluadas se tuvieron que abrir a los dos días debido a una ligera, aunque evidente, acumulación de gases. Por este motivo se decidió evaluar los sólidos totales en las celdas antes y después de la operación.

Los 20 mL de rumen bovino pre-tratado presentaron un peso seco de 0.00865g. Los resultados de sólidos totales de cada celda se observan en la tabla 3, donde RB corresponde a rumen bovino y CA a cascarilla de arroz. Los datos correspondientes al día 0 y al día 46 fueron analizados mediante una prueba de muestras pareadas.

Los 3 valores de diferencia entre sólidos iniciales y finales tienen una media de 0.031 y una desviación estándar de 0.027074. También se muestran intervalos de confianza del 95.0 % para la media y la desviación estándar de día 0-día 46. La interpretación clásica de estos intervalos es que, en muestreos repetidos, estos intervalos contendrán la media verdadera ó la desviación estándar verdadera de la población de la que fueron extraídas las muestras, el 95.0 % de las veces. En términos prácticos, puede establecerse con 95.0 % de confianza, que la media verdadera de día 0-día 46 se encuentra en algún lugar entre -0.0362555 y 0.0982555, en tanto que la desviación estándar verdadera está en algún lugar entre 0.0140963 y 0.170153.

Ambos intervalos asumen que la población de la cual proviene la muestra puede representarse por la distribución normal. Mientras que el intervalo de confianza para la media es bastante robusto y no muy sensible a violaciones de este supuesto, los intervalos de confianza para la desviación estándar son muy sensibles. En este caso,

SnapStat: Comparación de Muestras Paredas

Datos/Variable: día 0-día 46
 Recuento = 3
 Promedio = 0.031
 Desviación Estándar = 0.027074
 Coeficiente de Variación = 87.3354%
 Mínimo = 0.0
 Máximo = 0.05
 Rango = 0.05
 Sesgo Estandarizado = -1.13328
 Curtosis Estandarizada =

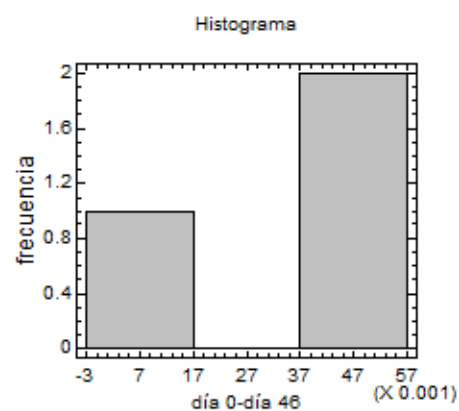
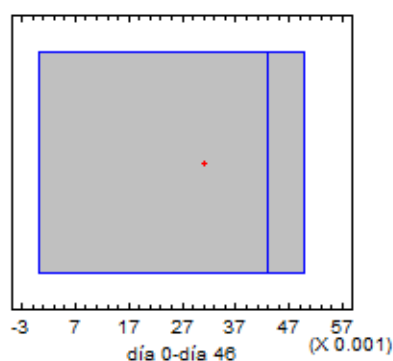


Gráfico de Caja y Bigotes



Intervalos de confianza del 95%

Diferencia de Medias: 0.031 +/- 0.0672555 [-0.0362555, 0.098
 Sigma: [0.0140963, 0.170153]

Comparación de Medias

Hipótesis Nula: diferencia = 0
 estadístico t = 1.98322
 Valor-P Bilateral = 0.1858

Diagnósticos

Valor-P de Shapiro-Wilks = 0.2476
 Autocorrelación en Retraso 1 = -0.655525 +/- 1.13159

Gráfico Secuencias Cronológicas

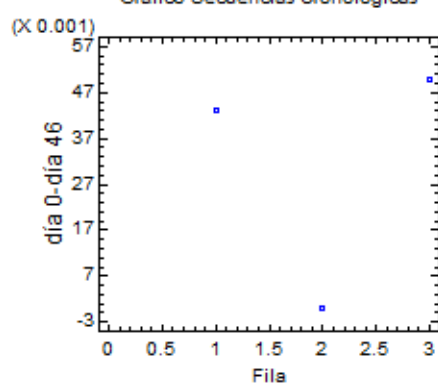


Gráfico de Probabilidad Normal

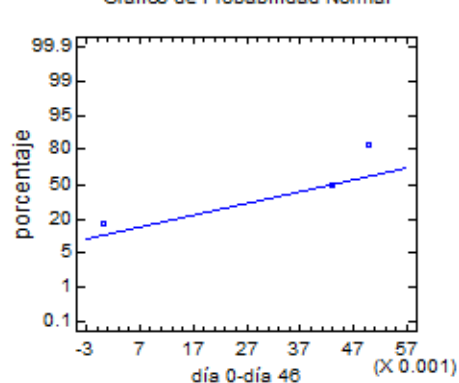


Figura 24: Resultados estadísticos para la determinación de sólidos totales

el valor-P para la prueba de Shapiro-Wilk no es menor que 0.05 indicando que no hay una desviación significativa de la normalidad con un nivel de significancia del 5 %.

La figura 24 también muestra los resultados de la prueba-t para la hipótesis nula de que la diferencia media es igual a 0 versus la hipótesis alternativa de que no es igual a 0. Debido a que el valor-P para esta prueba es mayor o igual a 0.05, no se puede rechazar la hipótesis nula, con un nivel de confianza del 5.0 % de confianza.

El coeficiente de autocorrelación lag 1, que es igual a -0.655525, mide la correlación entre valores adyacentes de los datos en la muestra. Puesto que el intervalo del intervalos de confianza del 95.0 contiene el 0, la correlación no es estadísticamente significativa con un 5.0 % de nivel de significancia.

La figura 24 también incluye un gráfico de caja y bigote para los valores. Un gráfico de caja y bigotes nos permite mostrar varias características de una muestra de datos. La parte rectangular del diagrama se extiende desde el cuartil inferior hasta el cuartil superior, cubriendo la mitad central de la muestra. La línea del centro dentro de la caja indica la localización de la mediana de la muestra. El signo más indica la localización de la media muestral. Los bigotes se extienden desde la caja hasta los valores mínimo y máximo en la muestra, excepto por cualquier punto alejado ó muy alejado, los cuales serán graficados por separado. Puntos alejados son aquellos que se encuentran a más de 1.5 veces el rango intercuartílico por arriba ó por debajo de la caja y se muestran como pequeños cuadrados. Los puntos muy alejados se encuentran a más de 3.0 veces el rango intercuartílico por arriba ó por abajo de la caja y se muestran como pequeños cuadrados con un signo más dentro de ellos. En este caso, no hay puntos alejados ni puntos muy alejados.

A través de estas pruebas estadísticas se comprueba que los valores de consumo de sólidos totales de las tres celdas son estadísticamente similares, lo cual podría traducirse en el consumo de sustrato por parte de los microorganismos, aunque no sea significativo.

3.2.2. Análisis de azúcares reductores totales

Como se mencionó anteriormente, es probable que la reacción principal para la producción de energía en las celdas evaluadas corresponda a la oxidación de la glucosa. La glucosa es un carbohidrato simple que es catalogado como azúcar reductor, por lo que tiene capacidad de reducir algo, en el caso de una celda de combustible microbiana, reduciría el ánodo u otro componente en el sustrato. Por ende, es de interés de esta investigación, evaluar la concentración de azúcares reductores existentes en el rumen y en las celdas tras la operación, para determinar si existe una oxidación de la glucosa.

Se empleó el método del licor de Fehling para la evaluación y se mandó una contra-muestra al Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM. Los resultados se observan en la tabla 4, donde CC corresponde a los datos provistos por el Laboratorio de Control de Calidad y los valores están en miligramos totales por celda.

Los resultados se observan en la figura 25 demuestran un consumo de azúcares reductores en ambos casos. Se observa también que al final de la operación de las celdas 1, 2 y 3 no quedan azúcares disueltos en el anolito. Probablemente esto se deba a que la degradación de la lignocelulosa y la oxidación de la glucosa suceden consecutivamente, por lo que no se dejan azúcares disueltos en el anolito mientras funciona la celda. Los análisis fueron repetidos 3 veces para confirmar los valores.

Tabla 4: Resultados del análisis de azúcares totales

Celda	Inicio, mg	Inicio(CC), mg	Final, mg	Final(CC), mg
1 - RB+CA	38.6	39.8	0.0	0.0
2 - RB+CA	38.6	39.8	0.0	0.0
3 - RB+CA	38.6	39.8	0.0	0.0
4 - RB	38.6	39.8	0.0	0.0
5 - RB	38.6	39.8	0.0	0.0
6 - RB	38.6	39.8	0.0	0.0

Azúcares Reductores en cámara anódica tras operación de las Celdas

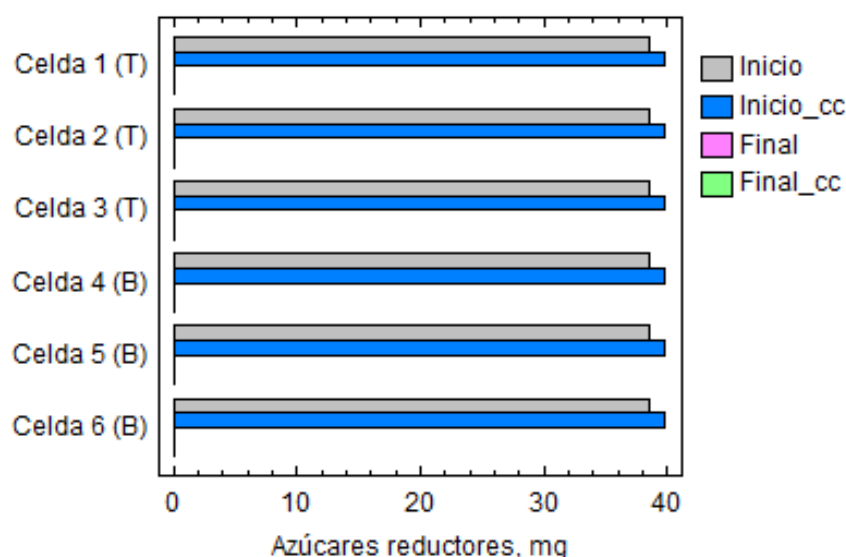


Figura 25: Resultados del análisis de azúcares reductores totales

3.2.3. Determinación de intensidad de corriente

El primer parámetro de producción eléctrica evaluado fue la intensidad de corriente. El entorno de SignalExpress permite registrar corriente eléctrica en términos de amperaje indicando el valor de la resistencia externa colocada. En esta investigación se trabajó con 680Ω tal como lo hizo Gaviria en el 2008 [31] y durante todo el proceso de operación de la celda no se cambió la resistencia externa como en otros estudios reportados. Otros autores reportan haber trabajado con valor de resistencias entre 10Ω a 1000Ω dependiendo del tipo de celda y del periodo de operación de la celda. La figura 26 muestra la intensidad de corriente registrada por el datalogger durante el periodo de operación de la celda, donde RB corresponde al rumen bovino y CA corresponde a la cascarilla de arroz. Cada punto corresponde a un valor representativo del amperaje cada 4 horas, se determinó este intervalo debido a que permitía una mejor visibilidad de los puntos en la gráfica. Se observa que desde el inicio de la operación se empezó a registrar un amperaje cercano a $150 \mu\text{amperios}$, el cual entró en fase exponencial en

las siguientes horas, la máxima producción de corriente en esta etapa se observó entre las horas 200 y 250.

Tras 348 horas de operación, se agregó 1 g de cascarilla de arroz a las celdas 1, 2 y 3, las otras celdas se dejaron intactas. Se registró una fase lag de aproximadamente 7 horas tras lo cual las celdas 1, 2 y 3 entraron en fase exponencial otra vez, la intensidad de corriente de las celdas 4, 5 y 6 continuó descendiendo durante casi 130 horas más hasta confirmar el agotamiento del sustrato. Se culminó el registro de los valores de las 3 últimas celdas tras 484 horas totales de funcionamiento, equivalente a 20 días. Tras 550 horas de funcionamiento, las celdas 1, 2 y 3 alcanzaron la fase estacionaria, particularmente la celda 3 presenta una mayor intensidad de corriente que las celdas 1 y 2, sin embargo esto se compensa con la duración superior de la fase estacionaria de ambas celdas con respecto a la primera celda. La fase estacionaria de la celda 1 termina a las 850 horas de funcionamiento, sin embargo en el caso de las celdas 2 y 3, este fenómeno se presenta entre las 1000 y 1050 horas. El periodo de evaluación finaliza tras 1104 horas de funcionamiento tras observarse la caída de la fase estacionaria de la curva para las 3 celdas.

3.2.4. Determinación de voltaje

Los valores de intensidad de corriente registrados permiten calcular el voltaje obtenido por cada valor registrado. En la figura 27 se observa la evolución del voltaje de las seis celdas durante el periodo de operación, donde RB corresponde al rumen bovino y CA corresponde a la cascarilla de arroz. La curva es similar a la presentada por la intensidad de corriente, esto se debe a que este valor depende del amperaje y del valor de la resistencia externa colocada. En otras investigaciones, los autores emplean entre 2 y 5 valores de resistencias diferentes, con el propósito de evaluar el desempeño en diferentes etapas de la operación de las celdas. Gaviria [31] reporta diferencias entre la curva de intensidad de corriente y la de voltaje tras cambiar de resistencia a mitad del periodo de operación de la celda. Naturalmente en este caso no se observa ningún

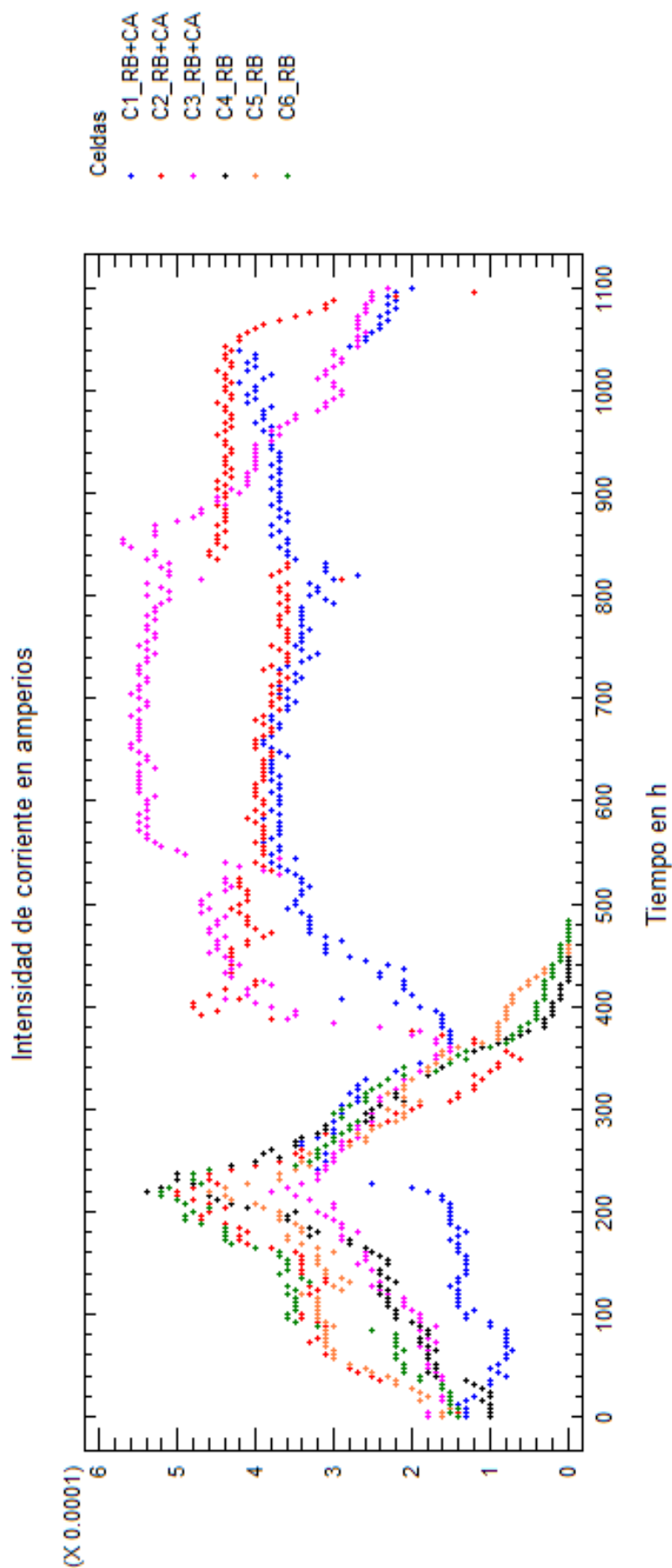


Figura 26: Resultados de la determinación de intensidad de corriente

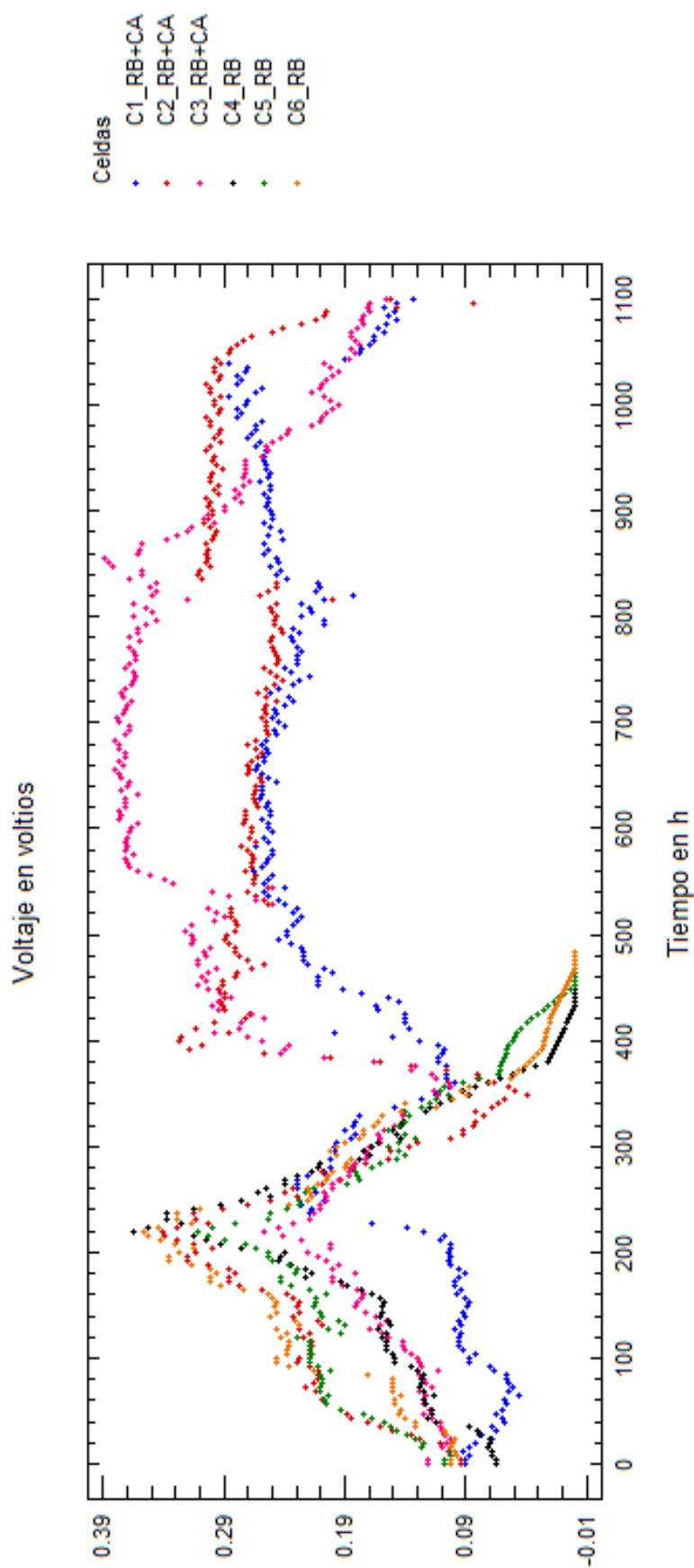


Figura 27: Resultados de la determinación de voltaje

cambio.

La curva de diferencia de potencial no solo permite evaluar el comportamiento del voltaje de la celda a lo largo del tiempo, sino que además permite encontrar el máximo valor de voltaje encontrado para poder compararlo con otros diseños de celda. En la tabla 5 se observan los máximos voltajes registrados por las seis celdas, independientemente de su duración, donde RB es rumen bovino pre-tratado y CA corresponde a cascarilla de arroz. El voltaje representa la fuerza con la cual los electrones son expulsados de la celda, esto dependería de múltiples factores como métodos de transferencia de electrones, las reacciones catalizadas, los microorganismos involucrados, temperatura ambiental, sustratos, concentraciones de microorganismos, interacciones microbiológicas, entre otros [89].

Recientes revisiones bibliográficas [89, 3] hacen énfasis en la importancia de incrementar el voltaje producido conociendo y manipulando los factores anteriormente mencionados, debido a que un voltaje superior permitiría su aplicación en aparatos electrónicos. En esta investigación contamos con dos tipos de sustratos: el primero son los restos de alimento consumido por el ganado y el segundo es la cascarilla de arroz. Debido a que desconocemos la naturaleza del alimento consumido por el bovino beneficiado, no podemos hacer una predicción sobre si es similar o no a la cascarilla de arroz en términos químicos. Por ello se realizó una comparación de los 6 valores mediante una prueba ANOVA para determinar si son estadísticamente similares o diferentes.

La figura 28 nos muestra un análisis estadístico completo de comparación de las muestras que incluye el tamaño de muestra, media y desviación estándar para tipo de celda. También se muestra un diagrama de dispersión, uno de caja y bigote, la tabla ANOVA, la gráfica de medias y la gráfica de análisis de medias.

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.0271359, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no

SnapStat: Comparación Varias Muestras

Muestra	Recuento	Media	Sigma
MV_B_V	3	0.344193	0.0281147
MV_T_V	3	0.338593	0.0517328
	6	0.341393	0.0373643

Gráfico de Dispersión

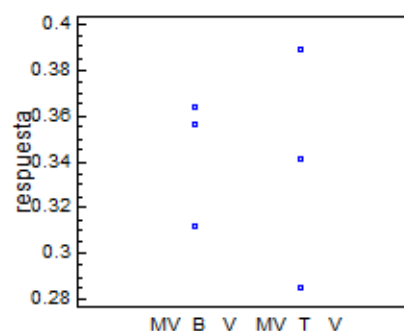


Gráfico Caja y Bigotes

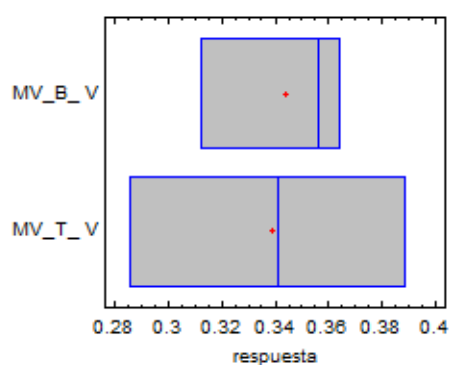


Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Media Cuadrado	Razón-F
Entre	0.000047036	1	0.000047036	0.03
Dentro de	0.0069334	4	0.00173335	
Total	0.00698044	5		

Valor-P = 0.8771

Verificación de Varianza

Levene's: 0.59778

Valor-P = 0.4826

Gráfico de Medias

Con intervalos LSD del 95.0%

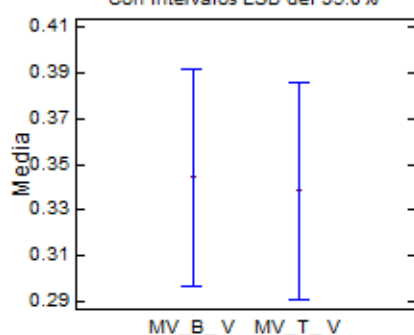


Gráfico ANOM

Con 95% Límites de Decisión

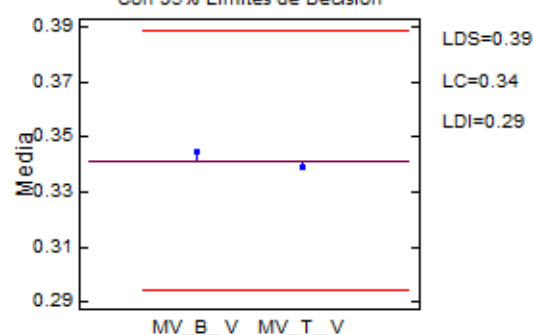


Figura 28: Resultados estadísticos para el máximo voltaje registrado para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen

Tabla 5: Máximo voltaje para evaluación del efecto del sustrato.

Celda	Máximo Voltaje, V
1 - RB+CA	0.2856
2 - RB+CA	0.3412
3 - RB+CA	0.3890
4 - RB	0.3643
5 - RB	0.3121
6 - RB	0.3562

existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95.0 % de confianza.

Las pruebas de verificación de varianzas evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar de cada una de las 2 columnas es la misma. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0 % de confianza.

El gráfico de Medias muestra las medias de los 2 tipos de celdas. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Están contruidos de tal manera que, si dos medias son iguales, sus intervalos se traslaparán un 95.0 % de las veces. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.

La gráfico de Análisis de Medias muestra la media de cada uno de los 2 tipos de celda. También se muestra la media global y los límites del 95 % de decisión. Puesto que ninguna de las muestras se encuentra afuera de los límites de decisión, no existe diferencia significativa entre ellas.

Con este análisis completo se puede afirmar que no existe diferencia estadística entre los restos de alimentos del rumen y la cascarilla de arroz como sustrato en términos

de máximo voltaje producido.

La Universidad I-Lan de Taiwan realizó una investigación en celdas a base de flora de rumen bovino empleando restos de planta de arroz (no cascarilla) con diferentes catolitos [20] . Haciendo una comparación con los datos reportados en estas celdas, el máximo voltaje de esta investigación es mucho menor al reportado en Taiwan, el cual indica un valor de 0.75V empleando permanganato de potasio como catolito y membranas Nafion para el intercambio de protones; en contraste, la presente investigación empleó agua saturada en oxígeno como catolito y un puente salino de potasio para el intercambio de protones. Muchas investigaciones concuerdan en que emplear membranas Nafion aumentan considerablemente los voltajes generados por las celdas [10, 36], paralelamente muchos autores han investigado la diferencia de los catolitos y su efecto en la eficiencia de las celdas concordando que el ferricianuro de potasio y el permanganato de potasio son excelentes catolitos en comparación con el agua [82, 20]. Sin embargo, esta investigación tiene como proyección su posible aplicación en zonas productoras de arroz y busca producir electricidad respetando el medio ambiente y bajando al mínimo su costo de producción; por este motivo se evaluó su desempeño empleado materiales biodegradables y desechos biológicos.

3.2.5. Determinación de potencia

Definimos a la potencia como la cantidad de energía entregada o absorbida por un elemento en un tiempo determinado y se expresa en Watts. La curva de potencia observada en la figura 29, donde RB corresponde al rumen bovino y CA corresponde a la cascarilla de arroz, tiene el mismo comportamiento que los anteriores gráficos. Normalmente los investigadores del área obtienen los datos de potencia con el solo fin de obtener la densidad de potencia, que es un valor mucho más específico debido a que toma en cuenta el área del ánodo. Según Logan, el desempeño total de una celda es evaluada de muchas maneras, pero principalmente a través de la potencia [51].

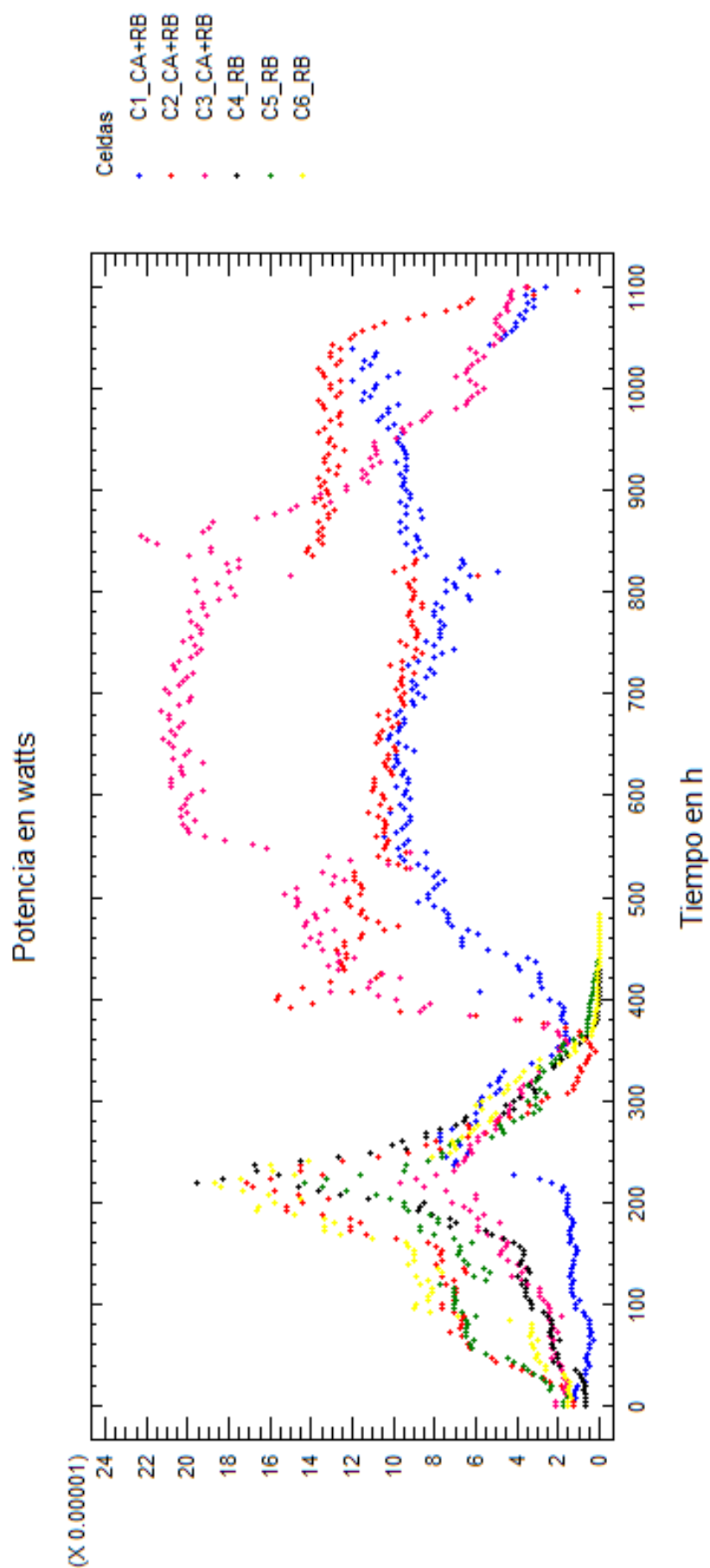


Figura 29: Resultados de la determinación de potencia

Tabla 6: Máxima densidad de potencia para evaluación del efecto del sustrato

Celda	MDP, mWatts/m ²
1 - RB+CA	3.43
2 - RB+CA	4.89
3 - RB+CA	6.36
4 - RB	5.58
5 - RB	4.09
6 - RB	5.33

3.2.6. Determinación de densidad de potencia

La densidad de potencia es uno de los parámetros más importantes a evaluar en una celda de combustible microbiana debido a que describe específicamente el desempeño de la misma. Además es un parámetro que permite comparar diseños de celdas debido a que normaliza los datos de potencia proyectándolos a la superficie del ánodo, ya que allí es donde ocurren las reacciones biológicas. Por este motivo se calculó la máxima densidad de potencia tal como muestra la tabla 6, donde RB es rumen bovino, CA es cascarilla de arroz y MDP corresponde a máxima densidad de potencia. Se sometió a un análisis estadístico para comparar los datos obtenidos para las celdas con cascarilla de arroz y las rumen bovino solamente.

La figura 30 muestra el tamaño de muestra, media y desviación estándar para cada columna de datos. También se muestra un diagrama de dispersión, uno de caja y bigote, la tabla ANOVA, la gráfica de medias y la gráfica de análisis de medias.

También se muestran 2 diagramas de caja y bigote, uno para cada columna de datos. La parte rectangular de la gráfica se extiende desde el cuartil inferior hasta el cuartil superior, cubriendo la mitad central de cada tipo de sustrato. La línea central dentro de cada caja indica la localización de la mediana de cada tipo de sustrato. El signo más indica la localización de la media de cada tipo de sustrato. Los bigotes se extienden

SnapStat: Comparación Varias Muestras

Muestra	Recuento	Media	Sigma
MDP_T_mW_3m2		4.89333	1.465
MDP_B_mW_3m2		5	0.797935
	6	4.94667	1.05669

Gráfico de Dispersión

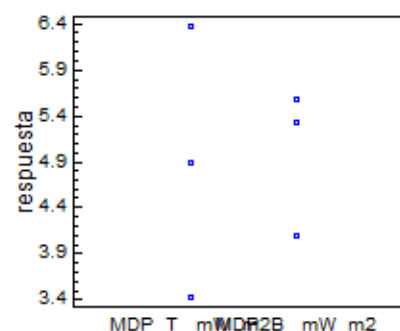


Gráfico Caja y Bigotes

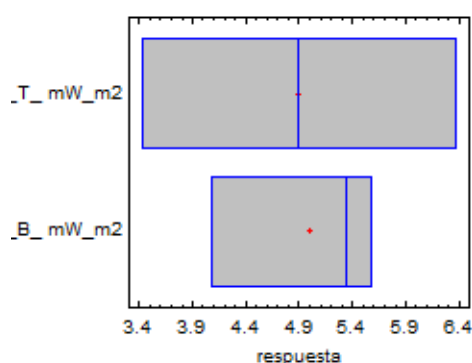


Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media Cuadrado	Razón-F
Entre	0.0170667	1	0.0170667	0.01
Dentro de	5.58587	4	1.39147	
Total	5.58293	5		

Valor-P = 0.9172

Verificación de Varianza

Levene's: 0.603422

Valor-P = 0.4807

Gráfico de Medias
Con intervalos LSD del 95.0%

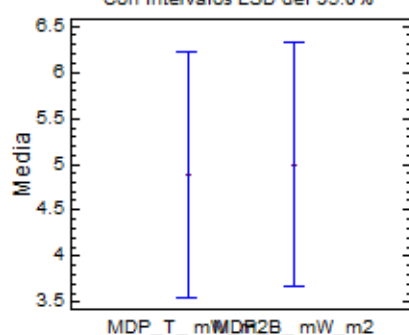


Gráfico ANOM
Con 95% Límites de Decisión

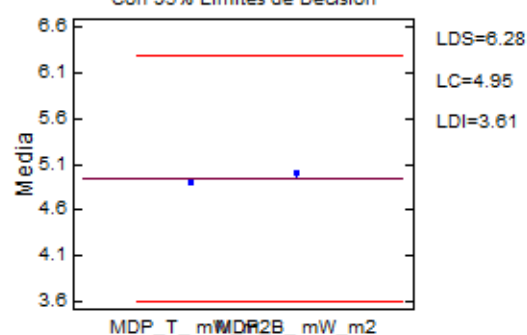


Figura 30: Resultados estadísticos para la máxima densidad de potencia registrada para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen

desde la caja hasta los valores mínimo y máximo de cada tipo de sustrato, excepto para cualquier punto alejado o muy alejado, los cuales se grafican en forma individual. Puntos alejados son aquellos que quedan a más de 1.5 veces el rango intercuartílico por arriba o por debajo de la caja y se muestran como pequeños cuadrados. Puntos muy alejados son aquellos que quedan a más de 3.0 veces el rango intercuartílico por arriba o por abajo de la caja, y se muestran como pequeños cuadrados con un signo más en su interior. En este caso, no hay puntos alejados ni puntos muy alejados.

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.0122652, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95.0 % de confianza.

Las pruebas de verificación de varianzas evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar de cada una de los 2 tipos de sustrato. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0 % de confianza.

La gráfico de Medias muestra las medias de las 2 columnas de datos. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Están contruidos de tal manera que, si dos medias son iguales, sus intervalos se traslaparán un 95.0 % de las veces. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.

La gráfico de Análisis de Medias muestra la media de cada una de los dos tipos de sustratos. También se muestra la media global y los límites del 95 % de decisión. Puesto que ninguna de las muestras se encuentra afuera de los límites de decisión, no existe diferencia significativa entre ellas. Por lo tanto se puede afirmar que las densidades de

corriente para ambos tipos de sustratos es el mismo.

Tabla 7: Máxima densidad de corriente en para evaluación del efecto del sustrato

Celda	MDC, mAmp/cm^2
1 - RB+CA	0.0012
2 - RB+CA	0.0014
3 - RB+CA	0.0016
4 - RB	0.0015
5 - RB	0.0013
6 - RB	0.0015

3.2.7. Determinación de densidad de corriente

Otro de los parámetros altamente evaluados en el área de celdas de combustible microbianas es la densidad de corriente, que indica la corriente producida por cm^2 de electrodo, la tabla 7 muestra los valores máximos encontrados en las celdas evaluadas, donde RB es rumen bovino pre-tratado, CA es cascarilla de arroz y MDC corresponde a máxima densidad de corriente.

La figura 31 muestra las pruebas estadísticas aplicadas para ambos tipos de sustrato. Se muestra el tamaño de muestra, media y desviación estándar para cada columna de datos. También se muestra un diagrama de dispersión, uno de caja y bigote, la tabla ANOVA, la gráfica de medias y la gráfica de análisis de medias.

La salida también muestra 2 diagramas de caja y bigote, uno para cada tipo de sustrato. La parte rectangular de la gráfica se extiende desde el cuartil inferior hasta el cuartil superior, cubriendo la mitad central de cada muestra. La línea central dentro de cada caja indica la localización de la mediana de los valores para cada tipo de sustrato. El signo más indica la localización de la media de cada sustrato. Los bigotes se extienden desde la caja hasta los valores mínimo y máximo de cada tipo de sustrato, excepto para cualquier punto alejado o muy alejado, los cuales se grafican en forma individual.

SnapStat: Comparación Varias Muestras

Muestra	Recuento	Media	Sigma
MDC_T_mA_cm2	6	0.0014	0.0002
MDC_B_mA_cm2	6	0.00143333	0.00011547
	6	0.00141667	0.000147196

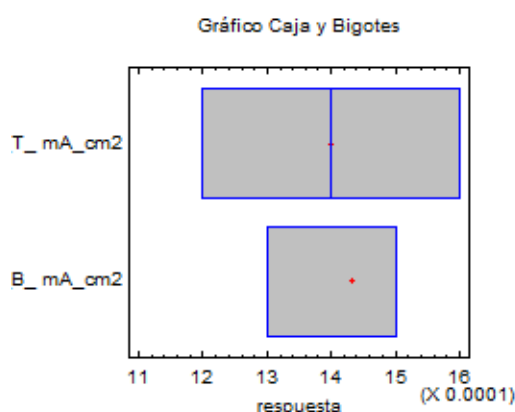
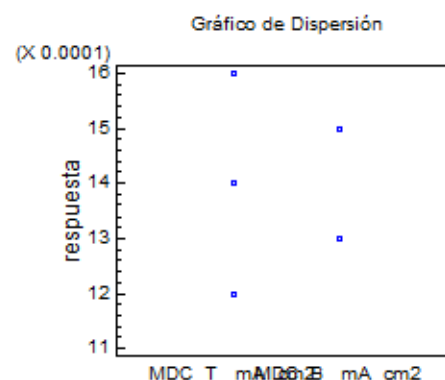


Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media Cuadrado	Razón-F
Entre	1.66667E-9	1	1.66667E-9	0.06
Dentro de	1.06667E-7	4	2.66667E-8	
Total	1.08333E-7	5		

Valor-P = 0.8149

Verificación de Varianza

Levene's: 0.5

Valor-P = 0.5185

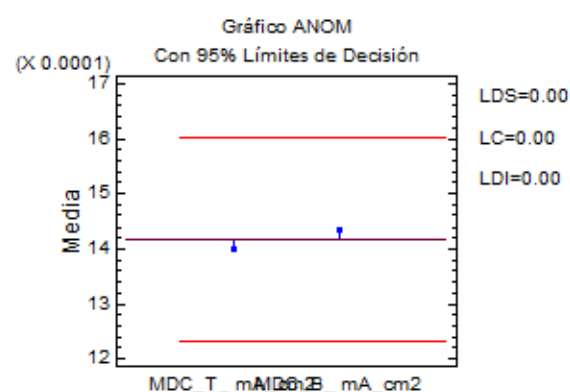
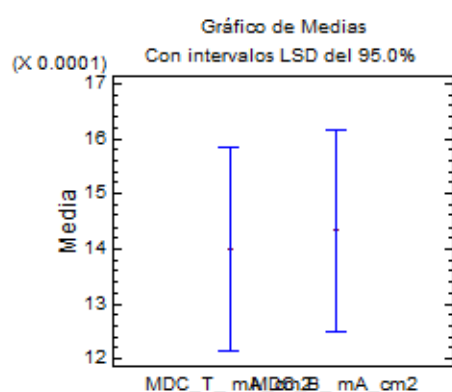


Figura 31: Resultados estadísticos para la máxima densidad de corriente registrada para el tratamiento con cascarilla de arroz y para el blanco de rumen

Puntos alejados son aquellos que quedan a más de 1.5 veces el rango intercuartílico por arriba o por debajo de la caja y se muestran como pequeños cuadrados. Puntos muy alejados son aquellos que quedan a más de 3.0 veces el rango intercuartílico por arriba o por abajo de la caja, y se muestran como pequeños cuadrados con un signo más en su interior. En este caso, no hay puntos alejados ni puntos muy alejados.

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.0625, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95.0 % de confianza.

Las pruebas de verificación de varianzas evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar de cada uno de los dos tipos de sustrato. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0 % de confianza.

La gráfico de Medias muestra las medias de los dos tipos de sustrato. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Están contruidos de tal manera que, si dos medias son iguales, sus intervalos se traslaparán un 95.0 % de las veces. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.

La gráfico de Análisis de Medias muestra la media de cada uno de los dos sustratos. También se muestra la media global y los límites del 95 % de decisión. Puesto que ninguna de los dos sustratos se encuentra afuera de los límites de decisión, no existe diferencia significativa entre ellos. Podemos afirmar que ambos tipos de sustratos tienen una densidad de potencia similar.

3.2.8. Determinación de energía total producida

Este parámetro permitió comparar en Joules la energía que produjo cada celda, de modo que nos es posible saber la diferencia entre una celda suministrada con rumen y una con cascarilla de arroz. Ambos podrían ser buenos sustratos debido a que ambos reportan voltajes, densidades de corriente y de potencia máximas estadísticamente similares, sin embargo en cuanto a la eficiencia de un bioreactor es importante considerar el rendimiento por gramo de sustrato que ingresa a la celda. Se observa la diferencia entre las energía totales producidas por las celdas en la figura 32, donde T corresponde al tratamiento con cascarilla de arroz y B corresponde al blanco solo con rumen. Aunque la diferencia entre las celdas que emplearon cascarilla de arroz es evidente, se realizó un análisis estadístico para muestras diferentes.

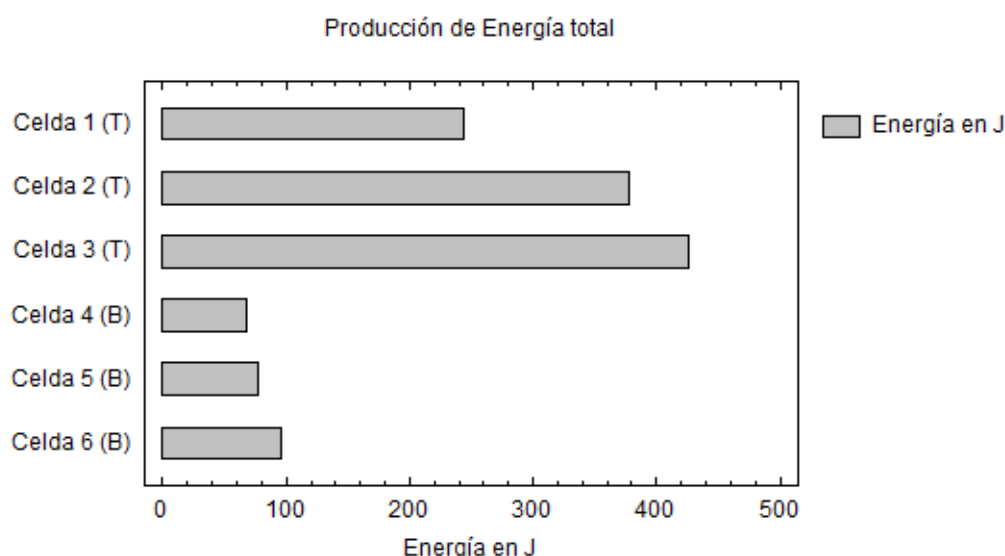


Figura 32: Resultados de la determinación de energía total producida

La figura 33 muestra el tamaño de muestra, media y desviación estándar para cada columna de datos. También se muestra un diagrama de dispersión, uno de caja y bigote, la tabla ANOVA, la gráfica de medias y la gráfica de análisis de medias.

La figura 33 también muestra 2 diagramas de caja y bigote, uno para cada tipo

SnapStat: Comparación Varias Muestras

Muestra	Recuento	Media	Sigma
Tratamiento	3	349.247	94.5895
Blanco	3	80.0967	13.6271
	6	214.672	159.329

Gráfico de Dispersión

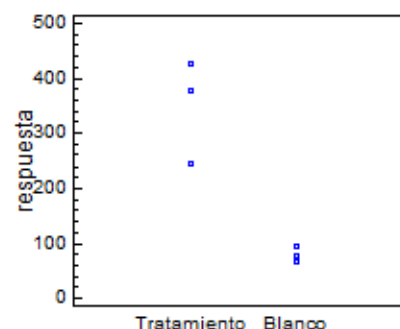


Gráfico Caja y Bigotes

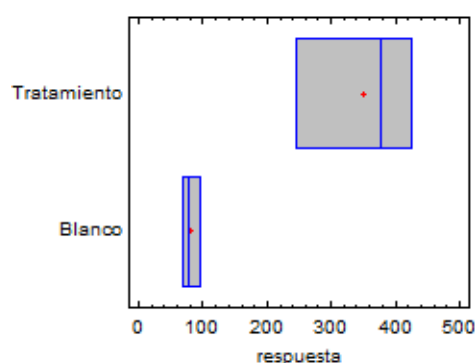


Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Media Cuadrado	Razón-F
Entre	108663	1	108663	23.80
Dentro de	18265.7	4	4566.43	
Total	126928	5		

Valor-P = 0.0082

Verificación de Varianza

Levene's: 1.7423

Valor-P = 0.2573

Gráfico de Medias

Con intervalos LSD del 95.0%

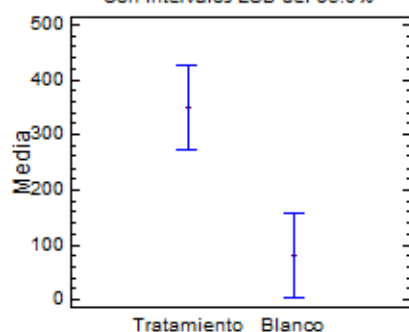


Gráfico ANOM

Con 95% Límites de Decisión

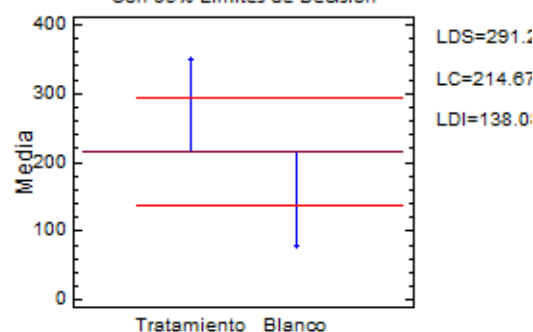


Figura 33: Resultados estadísticos para la determinación de energía total producida

de sustrato (rumen bovino con cascarilla y rumen bovino). La parte rectangular de la gráfica se extiende desde el cuartil inferior hasta el cuartil superior, cubriendo la mitad central de cada tipo de sustrato. La línea central dentro de cada caja indica la localización de la mediana de cada tipo de sustrato. El signo más indica la localización de la media de cada tipo. Los bigotes se extienden desde la caja hasta los valores mínimo y máximo de cada tipo de sustrato, excepto para cualquier punto alejado o muy alejado, los cuales se grafican en forma individual. Puntos alejados son aquellos que quedan a más de 1.5 veces el rango intercuartílico por arriba o por debajo de la caja y se muestran como pequeños cuadrados. Puntos muy alejados son aquellos que quedan a más de 3.0 veces el rango intercuartílico por arriba o por debajo de la caja, y se muestran como pequeños cuadrados con un signo más en su interior. En este caso, no hay puntos alejados ni puntos muy alejados.

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 23.796, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los datos para ambos sustratos con un nivel del 95.0 % de confianza.

Las pruebas de verificación de varianzas evalúan la hipótesis nula de que las desviaciones estándar de cada uno de los 2 tipos de sustrato. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0 % de confianza.

La gráfica de Medias muestra las medias de los datos para ambos sustratos. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Están contruidos de tal manera que, si dos medias son iguales, sus intervalos se traslaparán un 95.0 % de las veces. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente

significativa.

La gráfica de Análisis de Medias muestra la media de cada una de las 2 muestras. También se muestra la media global y los límites del 95 % de decisión. La muestra que se encuentren afuera de los límites de decisión son estadísticamente diferentes de la media global.

Se confirma de este modo que la cascarilla de arroz si es degradada por los microorganismos del rumen bovino para la producción de electricidad en las celdas de combustible estudiadas. Considerando que se agregaron 20 mL de rumen bovino filtrado con gasa a todas las celdas y 1 g de cascarilla de arroz únicamente a las celdas 1, 2 y 3, podemos afirmar que la cascarilla de arroz es un sustrato eficiente en comparación a los restos de alimento del rumen bovino.

3.2.9. Relación de consumo de sólidos totales y producción de energía

Para el análisis se realizaron pruebas estadísticas de ajuste de curva y regresión lineal, los resultados se muestran en la tabla 8, donde RBP es rumen bovino pre-tratado y CA corresponde a cascarilla de arroz.

Tabla 8: Resultados del análisis de sólidos totales

Celda	Peso RBP, g	Peso CA, g	Peso final, g	Peso perdido, g	Energía, J
1	0.346	0.998	0.955	0.389	243.75
2	0.346	0.996	0.949	0.393	377.5
3	0.346	1.002	0.952	0.396	426.49

El ajuste de curva muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre la energía total producida en Joules y el peso perdido de sólidos totales. La ecuación del modelo ajustado es:

SnapStat: Ajuste de Curva

Energía en J = $-10057.2 + 26502 \cdot \text{Peso perdido}$

	Estimado	Valor-P
Intercepto	-10057.2	0.1181
Pendiente	26502	0.1142

Coefficiente de Correlación = 0.9840
R-cuadrada = 96.82 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 93.63 por ciento

Error estándar del est. = 23.8645
Error absoluto medio = 12.9462
Estadístico Durbin-Watson = 2.98649
Autocorrelación de residuos en retraso 1 = -0.662162

Gráfico del Modelo Ajustado Con intervalos de previsión del 99.0% Límites de Predicción

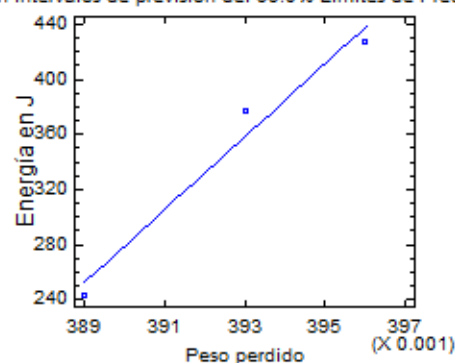
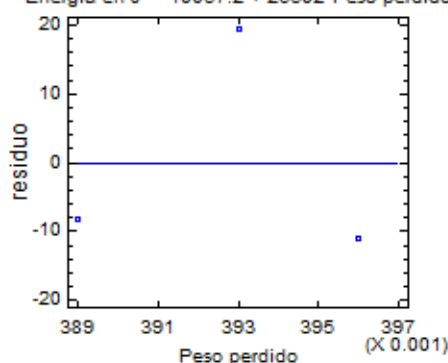


Gráfico de Residuos Energía en J = $-10057.2 + 26502 \cdot \text{Peso perdido}$



X	Predicho Y	Límite de Pred. Inferior 99.0%	Límite de Pred. Superior 99.0%
0.389	252.073	-1829.96	2334.11
0.3906	294.476	-1570.1	2159.05
0.3922	336.879	-1423.06	2096.82
0.3938	379.282	-1408.79	2167.35
0.3954	421.686	-1521.51	2364.88
0.397	464.089	-1734.51	2662.69

X	Predicho Y	Límite de Conf. Inferior 99.0%	Límite de Conf. Superior 99.0%
0.389	252.073	-1171.69	1675.83
0.3906	294.476	-786.66	1375.61
0.3922	336.879	-551.733	1225.49
0.3938	379.282	-563.812	1322.38
0.3954	421.686	-790.024	1633.4
0.397	464.089	-1125.27	2053.45

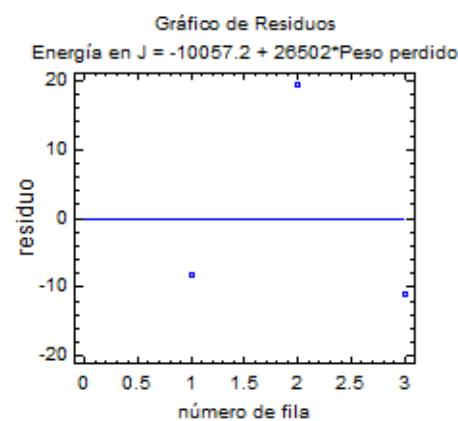
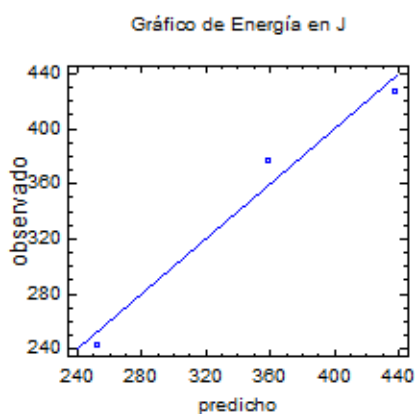


Figura 34: Ajuste de curva para la relación de consumo de sólidos totales y producción de energía

$$Energia = -10057,2 + 26502 * PesoPerdido \quad (3.2.2)$$

Puesto que el valor-P para la pendiente es mayor que 0.05, no existe una relación estadísticamente significativa entre las variables, con un 95.0 nivel de confianza.

El R-Cuadrado indica que el modelo ajustado explica 96.82 % de la variabilidad en la energía producida. El coeficiente de correlación es igual a 0.9840, indicando una relación relativamente fuerte entre las dos variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 23.8645. Este valor se usa para construir los límites de predicción para las nuevas observaciones.

El error absoluto medio (MAE) de 12.9462 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en el que se presentan en el archivo de datos.

La figura 34 también muestra una gráfica del modelo ajustado. Las cotas muestran los límites de 99.0 % de predicción para nuevas observaciones de la energía producida a valores dados de peso perdido. Se han tabulado tanto los límites de confianza para la media como los límites de predicción para las nuevas observaciones para los valores elegidos de peso perdido.

El modelo estadístico presentado por el análisis de regresión describe la relación con una certeza de 96 %, esto es comprensible debido a que son muchos los factores que cuales describen e influyen en el comportamiento y eficiencia de una celda de combustible microbiana. Sobre esto, Chin realizó un estudio de la variabilidad del desempeño de las celdas de combustibles ruminales mediante un análisis de la trayectoria del espacio de fase determinando que este tipo de celdas no son sistemas lineales y que son muy susceptibles a las condiciones iniciales de operación [20]. Rezaei, por su parte, indica que la variabilidad en el desempeño de las celdas de combustible microbianas podría deberse a cambios aleatorios en el metabolismo microbiano durante la descomposición del sustrato [70].

Capítulo 4

Conclusiones

- **Primera.** Es posible producir energía eléctrica empleando cascarilla de arroz (*Oryza sativa*) como sustrato y licor ruminal bovino como fuente de microorganismos en una celda de combustible microbiana, esto se expresó en una considerable diferencia de producción total de energía eléctrica entre celdas con rumen bovino y cascarilla de arroz y celdas con rumen bovino solamente. Las celdas con rumen bovino y cascarilla de arroz produjeron una media de 349.25 ± 94.59 Joules de energía y las celdas con rumen bovino sólo produjeron 80.10 ± 13.63 Joules. Ambos tipos de celda reportaron valores de parámetros de producción de energía estadísticamente similares, siendo la máxima densidad de corriente de $0.014 \pm 0.0002 \text{ mA/cm}^2$ y la máxima densidad de potencia de $4.9447 \pm 1.0567 \text{ mW/m}^2$.
- **Segunda.** Se diseñó una celda de combustible microbiana de dos cámaras cilíndricas concéntricas, tipo batch, con puente salino de cloruro de potasio y electrodos de malla de acero inoxidable 301. Posee una capacidad de 400 mL de sustrato y un volumen de cabecera del 30 %. El sustrato empleado fue de cascarilla de arroz y se utilizó licor ruminal bovino como fuente de microorganismos.
- **Tercera.** Se evaluó los datos de consumo de sustrato observándose un consumo promedio del 4.67 % en términos de sólidos totales, la lignina no se evaluó debido a que muchos trabajos anteriores reportan que es un polímero inerte y que no se degrada en presencia de microorganismos de origen ruminal. Se observó también un consumo absoluto de azúcares iniciales en ambos tipos de celda.
- **Cuarta.** Se encontró una relación directamente proporcional entre el consumo de sustrato y la producción de energía eléctrica. Se describió dicha relación me-

diante un ajuste de curva que rindió un modelo lineal con un ajuste del 96.82 %. Sin embargo este modelo no describe completamente al funcionamiento de una celda de combustible ruminal debido a que múltiples autores indican que este tipo de sistemas no son lineales y que son muy susceptibles a efectos externos y cambios aleatorios internos del metabolismo del consorcio microbiano.



Capítulo 5

Recomendaciones

- **Primera.** Se recomienda emplear el licor ruminal bovino como inóculo con celdas de combustible microbianas cuyo sustrato sea biomasa celulósica debido a su excelente variedad de microorganismos productores de enzimas celulolíticas, su adaptación rápida al sustrato y funcionalidad a temperatura ambiente.
- **Segunda.** Se recomienda emplear membranas de intercambio de protones (PEM) en posteriores trabajos para separar las cámaras, se han reportado mejores rendimientos en los parámetros de potencia y voltaje cuando se emplean en celdas de combustible microbianas.
- **Tercera.** Se recomienda realizar estudios sobre la posible aplicación de los restos de sustratos agotados de celdas de combustible ruminales como fertilizantes, para asegurar un máximo aprovechamiento de la masa lignocelulósica.

Referencias

- [1] Ali Abbas and Santosh Ansumali. Global potential of rice husk as a renewable feedstock for ethanol biofuel production. *BioEnergy Research*, 3(4):328–334, 2010.
- [2] Peter Aelterman, Korneel Rabaey, Hai The Pham, Nico Boon, and Willy Verstraete. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 40(10):3388–3394, 2006.
- [3] Farrukh Ahmad, Mays N Atiyeh, Brian Pereira, and Gregory N Stephanopoulos. A review of cellulosic microbial fuel cells: performance and challenges. *Biomass and Bioenergy*, 56:179–188, 2013.
- [4] Farrukh Ahmad, Travis M McGuire, Robert S Lee, and Erica Becvar. Considerations for the design of organic mulch permeable reactive barriers. *Remediation Journal*, 18(1):59–72, 2007.
- [5] Mohammad Ajmal, Rifaqat Ali Khan Rao, Shahana Anwar, Jameel Ahmad, and Rais Ahmad. Adsorption studies on rice husk: removal and recovery of cd (ii) from wastewater. *Bioresource Technology*, 86(2):147–149, 2003.
- [6] Alex S Beliaev, Daad A Saffarini, Jennifer L McLaughlin, and David Hunnicutt. Mtrc, an outer membrane decahaem c cytochrome required for metal reduction in shewanella putrefaciens mr-1. *Molecular microbiology*, 39(3):722–730, 2001.
- [7] Alain Bergel, Damien Féron, and Alfonso Mollica. Catalysis of oxygen reduction in pem fuel cell by seawater biofilm. *Electrochemistry Communications*, 7(9):900–904, 2005.

- [8] Justin C Biffinger, Jacqueline N Byrd, Breanna L Dudley, and Bradley R Rin-
geisen. Oxygen exposure promotes fuel diversity for*shewanella oneiden-
sis* microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(6):820–826, 2008.
- [9] Daniel R Bond, Dawn E Holmes, Leonard M Tender, and Derek R Lovley.
Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments.
Science, 295(5554):483–485, 2002.
- [10] Saswata Bose, Tapas Kuila, Thi Xuan Hien Nguyen, Nam Hoon Kim, Kin-tak
Lau, and Joong Hee Lee. Polymer membranes for high temperature proton ex-
change membrane fuel cell: recent advances and challenges. *Progress in Polymer
Science*, 36(6):813–843, 2011.
- [11] DD Bui, Jing Hu, and Piet Stroeven. Particle size effect on the strength of rice
husk ash blended gap-graded portland cement concrete. *Cement and concrete
composites*, 27(3):357–366, 2005.
- [12] Shichun Cai, Jiabao Li, Fen Ze Hu, Kegui Zhang, Yuanming Luo, Benjamin Jan-
to, Robert Boissy, Garth Ehrlich, and Xiuzhu Dong. Cellulosilyticum ruminicola,
a newly described rumen bacterium that possesses redundant fibrolytic-protein-
encoding genes and degrades lignocellulose with multiple carbohydrate-borne fi-
brolytic enzymes. *Applied and environmental microbiology*, 76(12):3818–3824,
2010.
- [13] TR Callaway, SE Dowd, TS Edrington, RC Anderson, Nathan Krueger, Nathan
Bauer, PJ Kononoff, and DJ Nisbet. Evaluation of bacterial diversity in the rumen
and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus solubles using
bacterial tag-encoded flx amplicon pyrosequencing. *Journal of animal science*,
88(12):3977–3983, 2010.
- [14] Kyu-Jung Chae, Mi-Jin Choi, Jin-Wook Lee, Kyoung-Yeol Kim, and In S Kim.
Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial

- viability in microbial fuel cells. *Bioresource technology*, 100(14):3518–3525, 2009.
- [15] James E Champine, Brian Underhill, Jamie M Johnston, Walt W Lilly, and Steve Goodwin. Electron transfer in the dissimilatory iron-reducing bacterium *Geobacter metallireducens*. *Anaerobe*, 6(3):187–196, 2000.
- [16] R Chandra, H Takeuchi, and T Hasegawa. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of bio-fuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(3):1462–1476, 2012.
- [17] Michelle CY Chang. Harnessing energy from plant biomass. *Current opinion in chemical biology*, 11(6):677–684, 2007.
- [18] Swades K Chaudhuri and Derek R Lovley. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature biotechnology*, 21(10):1229–1232, 2003.
- [19] Shaoan Cheng, Hong Liu, and Bruce E Logan. Increased power generation in a continuous flow mfc with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. *Environmental science & technology*, 40(7):2426–2432, 2006.
- [20] Wang Chin-Tsan, Yang Che-Ming, Chen Zih-Sheng, and Lee Yao-Cheng. Performance of straw-fed microbial fuel cells with mixed rumen microorganisms by using different catholytes. *Biomass and Bioenergy*, 59:412–417, 2013.
- [21] YK Cho, TJ Donohue, I Tejedor, MA Anderson, KD McMahon, and DR Noguera. Development of a solar-powered microbial fuel cell. *Journal of applied microbiology*, 104(3):640–650, 2008.
- [22] Peter Clauwaert, Korneel Rabaey, Peter Aelterman, Liesje De Schampelaire, The Hai Pham, Pascal Boeckx, Nico Boon, and Willy Verstraete. Biological

- denitrification in microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 41(9):3354–3360, 2007.
- [23] Peter Clauwaert, David Van der Ha, Nico Boon, Kim Verbeken, Marc Verhaege, Korneel Rabaey, and Willy Verstraete. Open air biocathode enables effective electricity generation with microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 41(21):7564–7569, 2007.
- [24] Krushna Chandra Das and Wensheng Qin. Isolation and characterization of superior rumen bacteria of cattle (*bos taurus*) and potential application in animal feedstuff. *Open Journal of Animal Sciences*, 2:224, 2012.
- [25] Ministerio de Agronomía y Riego. Perspectiva de la producción de arroz cáscara por departamentos y a nivel nacional para el periodo 2007. *TRENDS in Biotechnology*, 2007.
- [26] Ministerio de Energía y Minas. *Balance Nacional de Energía*. MEM, 2012.
- [27] Comisión Mexicana de Normas Técnicas. Method of test for total and direct reducing substances in food. normas mexicanas. n° 312. determinación de reductores directos y totales en alimentos., 1978.
- [28] Fondo Nacional del Ambiente. *Promoción de la participación pública y privada en proyectos de Energía Renovable y Fortalecimiento de la capacidad de FONAM*. FNA, 2009.
- [29] Zhuwei Du, Haoran Li, and Tingyue Gu. A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology advances*, 25(5):464–482, 2007.
- [30] Yujie Feng, Xin Wang, Bruce E Logan, and He Lee. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *Applied microbiology and biotechnology*, 78(5):873–880, 2008.

- [31] Liliana Alzate Gaviria, Carmen Fuentes Albarran, Alberto Álvarez Gallegos, and PJ Sebastian. Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo pem. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 33(7):503–509, 2008.
- [32] Yuri A Gorby, Svetlana Yanina, Jeffrey S McLean, Kevin M Rosso, Dianne Moyles, Alice Dohnalkova, Terry J Beveridge, In Seop Chang, Byung Hong Kim, Kyung Shik Kim, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by shewanella oneidensis strain mr-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30):11358–11363, 2006.
- [33] John Greenman, Antonia Gálvez, Lorenzino Giusti, and Ioannis Ieropoulos. Electricity from landfill leachate using microbial fuel cells: comparison with a biological aerated filter. *Enzyme and Microbial Technology*, 44(2):112–119, 2009.
- [34] Sedky HA Hassan, Sanaa MF Gad El-Rab, Mostafa Rahimnejad, Mostafa Ghaseemi, Jin-Ho Joo, Yong Sik-Ok, In S Kim, and Sang-Eun Oh. Electricity generation from rice straw using a microbial fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(17):9490–9496, 2014.
- [35] Antonio Hermosa. Principios de electricidad y electrónica i, 2009.
- [36] Michael A Hickner, Hossein Ghassemi, Yu Seung Kim, Brian R Einsla, and James E McGrath. Alternative polymer systems for proton exchange membranes (pems). *Chemical Reviews*, 104(10):4587–4612, 2004.
- [37] Peter N Hobson and Colin S Stewart. *The rumen microbial ecosystem*. Springer, 1997.
- [38] Jae Kyung Jang, The Hai Pham, In Seop Chang, Kui Hyun Kang, Hyunsoo Moon, Kyung Suk Cho, and Byung Hong Kim. Construction and operation of a novel mediator-and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochemistry*, 39(8):1007–1012, 2004.

- [39] BH Kim, HS Park, HJ Kim, GT Kim, IS Chang, J Lee, and NT Phung. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(6):672–681, 2004.
- [40] Namjoon Kim, Youngjin Choi, Seunho Jung, and Sunghyun Kim. Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing proteus vulgaris. *Biotechnology and bioengineering*, 70(1):109–114, 2000.
- [41] Sandra Kittelmann, Henning Seedorf, William A Walters, Jose C Clemente, Rob Knight, Jeffrey I Gordon, and Peter H Janssen. Simultaneous amplicon sequencing to explore co-occurrence patterns of bacterial, archaeal and eukaryotic microorganisms in rumen microbial communities. *PloS one*, 8(2):e47879, 2013.
- [42] Peter Kjeldsen, Morton A Barlaz, Alix P Rooker, Anders Baun, Anna Ledin, and Thomas H Christensen. Present and long-term composition of msw landfill leachate: a review. *Critical reviews in environmental science and technology*, 32(4):297–336, 2002.
- [43] Denis O Krause, Stuart E Denman, Roderick I Mackie, Mark Morrison, Ann L Rae, Graeme T Attwood, and Christopher S McSweeney. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS microbiology reviews*, 27(5):663–693, 2003.
- [44] DO Krause, TG Nagaraja, ADG Wright, and TR Callaway. Board-invited review: Rumen microbiology: Leading the way in microbial ecology. *Journal of animal science*, 91(1):331–341, 2013.
- [45] Upendra Kumar and Manas Bandyopadhyay. Sorption of cadmium from aqueous solution using pretreated rice husk. *Bioresource technology*, 97(1):104–109, 2006.
- [46] Hyung-Sool Lee, Prathap Parameswaran, Andrew Kato-Marcus, César I Torres, and Bruce E Rittmann. Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial

fuel cells (mfcs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Water research*, 42(6):1501–1510, 2008.

- [47] Hong Liu, Shaoan Cheng, and Bruce E Logan. Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental science & technology*, 39(2):658–662, 2005.
- [48] Hong Liu, Ramanathan Ramnarayanan, and Bruce E Logan. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environmental science & technology*, 38(7):2281–2285, 2004.
- [49] Bruce E Logan. Peer reviewed: extracting hydrogen and electricity from renewable resources. *Environmental science & technology*, 38(9):160A–167A, 2004.
- [50] Bruce E Logan. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology*, 7(5):375–381, 2009.
- [51] Bruce E Logan, Bert Hamelers, René Rozendal, Uwe Schröder, Jürg Keller, Stefano Freguia, Peter Aelterman, Willy Verstraete, and Korneel Rabaey. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, 40(17):5181–5192, 2006.
- [52] Bruce E Logan and John M Regan. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *TRENDS in Microbiology*, 14(12):512–518, 2006.
- [53] Daniel A Lowy, Leonard M Tender, J Gregory Zeikus, Doo Hyun Park, and Derek R Lovley. Harvesting energy from the marine sediment–water interface ii: kinetic activity of anode materials. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(11):2058–2063, 2006.
- [54] P Kumar Malik. Use of activated carbons prepared from sawdust and rice-husk for adsorption of acid dyes: a case study of acid yellow 36. *Dyes and pigments*, 56(3):239–249, 2003.

- [55] James B McKinlay and J Gregory Zeikus. Extracellular iron reduction is mediated in part by neutral red and hydrogenase in escherichia coli. *Applied and environmental microbiology*, 70(6):3467–3474, 2004.
- [56] Hyunsoo Moon, In Seop Chang, Jae Kyung Jang, and Byung Hong Kim. Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on cod removal with electricity generation. *Biochemical engineering journal*, 27(1):59–65, 2005.
- [57] Moncef Nehdi, J Duquette, and A El Damatty. Performance of rice husk ash produced using a new technology as a mineral admixture in concrete. *Cement and concrete research*, 33(8):1203–1210, 2003.
- [58] Kelly P Nevin and Derek R Lovley. Mechanisms for accessing insoluble fe (iii) oxide during dissimilatory fe (iii) reduction by geothrix fermentans. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5):2294–2299, 2002.
- [59] Deepak Pant, Gilbert Van Bogaert, Ludo Diels, and Karolien Vanbroekhoven. A review of the substrates used in microbial fuel cells (mfcs) for sustainable energy production. *Bioresource technology*, 101(6):1533–1543, 2010.
- [60] D Park and J Zeikus. Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using shewanella putrefaciens. *Applied microbiology and biotechnology*, 59(1):58–61, 2002.
- [61] DH Park and JG Zeikus. Utilization of electrically reduced neutral red by actinobacillus succinogenes: Physiological function of neutral red in membrane-driven fumarate reduction and energy conservation. *Journal of bacteriology*, 181(8):2403–2410, 1999.
- [62] Doo Hyun Park and J Gregory Zeikus. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and bioengineering*, 81(3):348–355, 2003.

- [63] Hyung Soo Park, Byung Hong Kim, Hyo Suk Kim, Hyung Joo Kim, Gwang Tae Kim, Mia Kim, In Seop Chang, Yong Keun Park, and Hyo Ihl Chang. A novel electrochemically active and *fe (iii)*-reducing bacterium phylogenetically related to *clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*, 7(6):297–306, 2001.
- [64] Yineth Piñeros-Castro, Gloria Amparo Velasco, Jeimmy Proaños, William Cortes, and Ignacio Ballesteros. Producción de azúcares fermentables por hidrólisis enzimática de cascarilla de arroz pretratada mediante explosión con vapor. *REVISTA ION*, 24(2), 2011.
- [65] Korneel Rabaey, Nico Boon, Steven D Siciliano, Marc Verhaege, and Willy Verstraete. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9):5373–5382, 2004.
- [66] Korneel Rabaey, Peter Clauwaert, Peter Aelterman, and Willy Verstraete. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environmental science & technology*, 39(20):8077–8082, 2005.
- [67] Korneel Rabaey, Geert Lissens, Steven D Siciliano, and Willy Verstraete. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology letters*, 25(18):1531–1535, 2003.
- [68] Korneel Rabaey and Willy Verstraete. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology*, 23(6):291–298, 2005.
- [69] Clare E Reimers, Leonard M Tender, Stephanie Fertig, and Wei Wang. Harvesting energy from the marine sediment-water interface. *Environmental science & technology*, 35(1):192–195, 2001.
- [70] Farzaneh Rezaei, Tom L Richard, Rachel A Brennan, and Bruce E Logan. Substrate-enhanced microbial fuel cells for improved remote power generation from sediment-based systems. *Environmental science & technology*, 41(11):4053–4058, 2007.

- [71] Farzaneh Rezaei, Defeng Xing, Rachel Wagner, John M Regan, Tom L Richard, and Bruce E Logan. Simultaneous cellulose degradation and electricity production by enterobacter cloacae in a microbial fuel cell. *Applied and environmental microbiology*, 75(11):3673–3678, 2009.
- [72] Hamid Rismani-Yazdi, Sarah M Carver, Ann D Christy, Zhongtang Yu, Kyle Bibby, Jordan Peccia, and Olli H Tuovinen. Suppression of methanogenesis in cellulose-fed microbial fuel cells in relation to performance, metabolite formation, and microbial population. *Bioresource technology*, 129:281–288, 2013.
- [73] Miriam Rosenbaum, Uwe Schröder, and Fritz Scholz. Utilizing the green alga chlamydomonas reinhardtii for microbial electricity generation: a living solar cell. *Applied microbiology and biotechnology*, 68(6):753–756, 2005.
- [74] Rene A Rozendal, Adriaan W Jeremiasse, Hubertus VM Hamelers, and Cees JN Buisman. Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environmental science & technology*, 42(2):629–634, 2007.
- [75] Jian Sun, Yong-you Hu, Zhe Bi, and Yun-qing Cao. Simultaneous decolorization of azo dye and bioelectricity generation using a microfiltration membrane air-cathode single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource technology*, 100(13):3185–3192, 2009.
- [76] Min Sun, Guo-Ping Sheng, Zhe-Xuan Mu, Xian-Wei Liu, Yong-Zhen Chen, Hua-Lin Wang, and Han-Qing Yu. Manipulating the hydrogen production from acetate in a microbial electrolysis cell–microbial fuel cell-coupled system. *Journal of Power Sources*, 191(2):338–343, 2009.
- [77] Ye Sun and Jiayang Cheng. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, 83(1):1–11, 2002.
- [78] B Tartakovsky and SR Guiot. A comparison of air and hydrogen peroxide oxygenated microbial fuel cell reactors. *Biotechnology progress*, 22(1):241–246, 2006.

- [79] Leonard M Tender, Clare E Reimers, Hilmar A Stecher, Dawn E Holmes, Daniel R Bond, Daniel A Lowy, Kanoelani Pilobello, Stephanie J Fertig, and Derek R Lovley. Harnessing microbially generated power on the seafloor. *nature biotechnology*, 20(8):821–825, 2002.
- [80] Rudolf K Thauer, Kurt Jungermann, and Karl Decker. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological reviews*, 41(1):100, 1977.
- [81] V Vadivelan and K Vasanth Kumar. Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk. *Journal of Colloid and Interface Science*, 286(1):90–100, 2005.
- [82] S Venkata Mohan, R Saravanan, S Veer Raghavulu, G Mohanakrishna, and PN Sarma. Bioelectricity production from wastewater treatment in dual chambered microbial fuel cell (mfc) using selectively enriched mixed microflora: effect of catholyte. *Bioresource Technology*, 99(3):596–603, 2008.
- [83] Krishnan Vijayaraghavan, Desa Ahmad, and Renny Lesa. Electrolytic treatment of beer brewery wastewater. *Industrial & engineering chemistry research*, 45(20):6854–6859, 2006.
- [84] Xin Wang, Yujie Feng, Heming Wang, Youpeng Qu, Yanling Yu, Nanqi Ren, Nan Li, Elle Wang, He Lee, and Bruce E Logan. Bioaugmentation for electricity generation from corn stover biomass using microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 43(15):6088–6093, 2009.
- [85] Jerrold E Winandy and Patricia K Lebow. Modeling strength loss in wood by chemical composition. part i. an individual component model for southern pine. *Wood and fiber science*, 33(2):239–254, 2001.
- [86] Li Yadan, Hu Lijuan, Xue Gaoshang, Liu Huhu, Yang Hui, Zhu Yunhua, Tian Yun, and Lu Xiangyang. Comparison of bacterial diversity in large intestine of xiangxi yellow cattle (*bos taurus*) associated with different diet: Fresh mis-

canthus sinensis and mixed forage. *African Journal of Microbiology Research*, 6(30):5965–5974, 2012.

- [87] Guo-Long Zang, Guo-Ping Sheng, Zhong-Hua Tong, Xian-Wei Liu, Shao-Xiang Teng, Wen-Wei Li, and Han-Qing Yu. Direct electricity recovery from canna indica by an air-cathode microbial fuel cell inoculated with rumen microorganisms. *Environmental science & technology*, 44(7):2715–2720, 2010.
- [88] J Zhang, Q Zhao, S You, J Jiang, and N Ren. Continuous electricity production from leachate in a novel upflow air-cathode membrane-free microbial fuel cell. 2008.
- [89] Minghua Zhou, Hongyu Wang, Daniel J Hassett, and Tingyue Gu. Recent advances in microbial fuel cells (mfcs) and microbial electrolysis cells (mecs) for wastewater treatment, bioenergy and bioproducts. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88(4):508–518, 2013.
- [90] Yi Zuo, Pin-Ching Maness, and Bruce E Logan. Electricity production from steam-exploded corn stover biomass. *Energy & Fuels*, 20(4):1716–1721, 2006.

Anexos

Anexo 1



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 251210 ANEXO 1168
✉ laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350
AREQUIPA - PERU

INFORME DE ENSAYO
Nº DE INFORME: ANA03I14.001362

Nombre del Cliente	: Karla Pineda Arista
Dirección del Cliente	: Urb Juan XXIII E1 Dpto 402
RUC	: No declara
Condición del Muestreado	: Por el cliente
Descripción	: Rumen Bovino
Tamaño de muestra	: 80 mL
Fecha de Recepción	: 03/09/2014
Fecha de Inicio del Ensayo	: 03/09/2014
Fecha de Emisión de Informe	: 09/09/2014
Página	: 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS (g/L) Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas, NMX-F-312-1978.	1,99

OBSERVACIONES:
Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA.

Q.F. Ricardo A. Abril Ramirez
CQFDA/00624
JEFE DE LABORATORIO LEC

LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOTECNOLOGICAS
UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

Figura 35: Resultados de análisis de azúcares reductores totales para la muestra de rumen pre-tratado. Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM.

Anexo 2



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umachillo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204265 ☎ + 51 84 251210 ANEXO 1196
 ✉ laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Año. 1360
 AREQUIPA - PERU





INFORME DE ENSAYO
Nº DE INFORME: ANA29J14.001448

Nombre del Cliente	: KARLA PINEDA ARISTA
Dirección del Cliente	: URB JUAN XXIII E1 DPTO 402
RUC	: NO DECLARADO
Condición del Muestreo	: POR EL CLIENTE
Descripción	: MUESTRAS VARIAS
Tamaño de muestra	: 100 mL
Fecha de Recepción	: 29/10/2014
Fecha de Inicio del Ensayo	: 29/10/2014
Fecha de Emisión de Informe	: 07/11/2014
Página	: 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

DETERMINACIÓN DE REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS (g/L) Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978.	RESULTADO
MUESTRA 1	Negativo
MUESTRA 2	Negativo
MUESTRA 3	Negativo
MUESTRA 4	Negativo
MUESTRA 5	Negativo

OBSERVACIONES:
 Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA.




Q.F. Juan Carlos Delgado
 CD. 052
 DIRECTOR TÉCNICO-LEEC

Figura 36: Resultados de análisis de azúcares reductores totales para la muestras de celdas después de su operación. Laboratorio de Control de Calidad de la UCSM.

Anexo 3

Gráfico de Temperatura vs Tiempo en horas

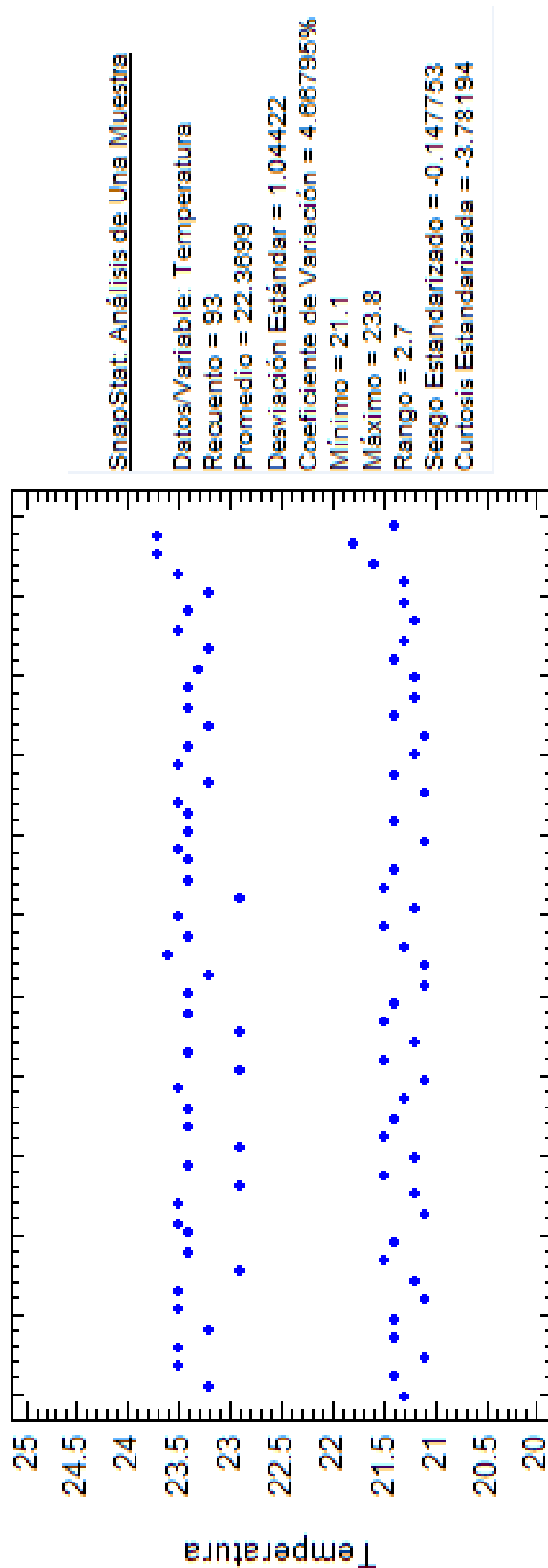


Figura 37: Temperatura de operación de las celdas de combustible

Anexo 4

Table 2. Performance of MFCs based on both axenic (single bacterial species) and mixed culture systems^a

	Substrate	Electrode type	Redox mediated	I (current, mA)	P (mW/m ²)	P (W/m ³)	Refs
Axenic cultures							
<i>Proteus vulgaris</i>	Glucose	Glassy carbon	X	0.8	4.5	18	[21]
<i>Erwinia dissolvens</i>	Glucose	Woven graphite	X	0.7	0.27 ^b	n.a. ^e	[59]
<i>Proteus vulgaris</i>	Glucose	Glassy carbon	X	0.7	85	9.0	[25]
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Lactate	Woven graphite		0.04	0.00032	0.08	[58]
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetate	Plain graphite		0.4	13	0.35	[61]
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Glucose	Plain graphite		0.2	8	0.25	[14]
		Woven graphite		0.57	17	1.7	[14]
		Graphite foam		0.4514	33	0.96	[14]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucose	Plain graphite		0.1	88	8.8	[31]
<i>Escherichia coli</i>	Lactate	Woven graphite ^e	X	3.3	1.2	7.6	[37]
		Plain graphite ^c	X	2.6	91	3.6	[37]
Mixed cultures							
Mixed, saltwater	Acetate	Plain graphite		0.23	10	n.a. ^e	[63]
	S2-/acetate	Plain graphite		60 ^d	32	n.a. ^e	[64]
Mixed consortium, batch	Glucose	Plain graphite		30	3600	216	[6]
Activated sludge	Wastewater	Woven graphite ^b		0.2	8	1.6	[10]
	Lactate	Woven graphite ^b	X	11	5.3	34	[37]
		Plain graphite ^b	X	2.6	788	32	[37]
	Wastewater	Woven graphite		4.85	26	1.6	[4]
	Glucose	Woven graphite		0.9	494	13	[4]
Mixed consortium, continuous	Sucrose	Granular graphite		6.2	23	47	[43]
	Glucose	Granular graphite		5.4	18	37	[43]
	Acetate	Carbon paper		1.27	506	13	[52]
	Butyrate	Carbon paper		0.46	305	7.6	[52]

^aNo surface data available, value in absolute mW.

^bPower output was calculated as average power output where possible because peak power outputs are less representative.

^cMediator immobilized in/on electrode matrix.

^dData as mA/m² anode surface.

^en.a., insufficient data available, or not applicable.

Tabla 9: Desempeño de diferentes celdas de combustible microbianas basadas en cultivo simple (un solo microorganismo) y mixto [68].

Anexo 5A

Type of substrate	Concentration	Source inoculum	Type of MFC (with electrode surface area and/or cell volume)	Current density (mA/cm ²) at maximum power	Reference
Acetate	1 g/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	Cube shaped one-chamber MFC with graphite fiber brush anode (7170 m ² /m ³ brush volume)	0.8	Logan et al. (2007)
Arabitol	1220 mg/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.68	Catal et al. (2008b)
Azo dye with glucose	300 mg/L	Mixture of aerobic and anaerobic sludge	One-chamber air-cathode MFC with carbon paper anode (36 cm ²)	0.09	Sun et al. (2009a)
Carboxymethyl cellulose (CMC)	1 g/L	Co-culture of <i>Clostridium cellulolyticum</i> and <i>G. sulfurreducens</i>	Two-chambered MFC with graphite plates as electrodes (16 cm ²) and ferricyanide catholyte	0.05	Ren et al. (2008)
Cellulose particles	4 g/L	Pure culture of <i>Enterobacter cloacae</i>	U-tube MFC with carbon cloth anode (1.13 cm ²) and carbon fibers as cathode	0.02	Rezaei et al. (2009b)
Corn stover biomass	1 g/L COD	Domestic wastewater	One-chamber membrane-less air-cathode MFC with carbon paper anode (7.1 cm ²) and carbon cloth cathode	0.15	Zuo et al. (2006)
Cysteine	385 mg/L	Sediment sample from 30 cm depth	Two-chambered MFC with carbon paper as electrodes (11.25 cm ²)	0.0186	Logan et al. (2005)
1,2-Dichloroethane	99 mg/L	Microbial consortia from acetate enriched MFC	Two-chambered MFC with graphite plate anode (20 cm ²) and graphite granules cathode	0.008	Pham et al. (2009a)
Ethanol	10 mM	Anaerobic sludge from wastewater plant	Two-chambered aqueous cathode MFC with carbon paper electrodes (22.5 cm ²)	0.025	Kim et al. (2007)
Farm manure	3 kg in water (20% w/v)	Self build up of anaerobic environment	One reactor vessel of manure with anode at the bottom and cathode above the manure; carbon cloth electrodes (256 cm ²)	0.004	Scott and Murano (2007)
Furfural	6.8 mM	Pre-acclimated bacteria from anode of a ferricyanide-cathode MFC	One-chamber air-cathode MFC with carbon paper anode and cathode (7 cm ²)	0.17	Luo et al. (2010)
Galactitol	1220 mg/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.78	Catal et al. (2008b)
Glucose	6.7 mM	Mixed bacterial culture maintained on sodium acetate for 1 year (<i>Rhodococcus</i> and <i>Paracoccus</i>)	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.70	Catal et al. (2008a)
Glucuronic acid	6.7 mM	Mixed bacterial culture	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	1.18	Catal et al. (2008a)
Lactate	18 mM	Pure culture of <i>S. oneidensis</i> MR-1	Two-chambered MFC with graphite felt electrode (20 cm ²)	0.005	Manohar and Mansfeld (2009)
Landfill leachate	6000 mg/L	Leachate and sludge	Two-chambered MFC with carbon veil electrode (30 cm ²)	0.0004	Greenman et al. (2009)
Macroalgae, <i>Ulva lactuca</i>	2500 mg/L COD	Primary clarifier overflow of wastewater plant	One-chamber air-cathode MFC (25 mL) with graphite brush anodes and platinized cathode	0.25	Velasquez-Orta et al. (2009)
Malt extract, yeast extract and glucose	1%	Pure culture of <i>E. cloacae</i>	Two-chambered salt bridge MFC with mediators and graphite plate as electrode (15 cm ²)	0.067	Mohan et al. (2008)
Mannitol	1220 mg/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.58	Catal et al. (2008b)
Microalgae, <i>Chlorella vulgaris</i>	2500 mg/L COD	Primary clarifier overflow of wastewater plant	One-chamber air-cathode MFC (25 mL) with graphite brush anodes and platinized cathode	0.20	Velasquez-Orta et al. (2009)
Microcrystalline cellulose	7.5 g/L	Rumen microorganism from rumen of a cow	Two-chambered MFC with graphite plates as electrodes (84 cm ²)	0.02	Rismani-Yazdi et al. (2007)
Nitritoltriacetic acid (NTA)	48.5 mg/L	Oligotrophic consortium enriched with river water	Two-chambered MFC with graphite felt as electrodes (24 cm ²)	0.0005	Jang et al. (2006)
Phenol	400 mg/L	Mixed aerobic activated sludge and anaerobic sludge (1:1, v/v)	Two-chambered MFC with aqueous air cathode, carbon paper electrode (25 cm ²)	0.1	Luo et al. (2009)

Tabla 10: Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbianas y su máxima densidad de corriente producida [59]. Parte 1 de 2.

Anexo 5B

Type of substrate	Concentration	Source inoculum	Type of MFC (with electrode surface area and/or cell volume)	Current density (mA/cm ²) at maximum power	Reference
Sodium fumarate	25 mM	Pure culture of <i>G. sulfurreducens</i>	Stainless steel cathode (2.5 cm ²) half cells poised at -600 mV versus Ag/AgCl	2.05	Dumas et al. (2008)
Sorbitol	1220 mg/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.62	Catal et al. (2008b)
Starch	10 g/L	Pure culture of <i>Clostridium butyricum</i>	Two-chambered MFC with woven graphite anode (7 cm ²) and ferricyanide catholyte	1.3	Niessen et al. (2004)
Sucrose	2674 mg/L	Anaerobic sludge from septic tank	Two-chambered mediator-less MFC with stainless steel mesh as anode (213.29 cm ²) and cathode (176.45 cm ²); KMnO ₄ (0.2 g/L) as catholyte	0.19	Behera and Ghangrekar (2009)
Xylitol	1220 mg/L	Pre-acclimated bacteria from MFC	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.71	Catal et al. (2008b)
Xylose	6.7 mM	Mixed bacterial culture	One-chamber air-cathode MFC (12 mL) with non-wet proofed carbon cloth as anode (2 cm ²) and wet proofed carbon cloth as cathode (7 cm ²)	0.74	Catal et al. (2008a)
Xylose and humic acid	10 mM	Domestic wastewater	Two-chambered MFC with plain carbon paper as electrode (76.5 cm ²)	0.06	Huang and Angelidaki (2008)
Wastewaters					
Artificial wastewater with glucose and glutamate	300 mg/L	Anaerobic sludge	Membrane-less MFC with anode (465 cm ²) at bottom and cathode (89 cm ²) at top of cylinder; graphite felt as both electrode	0.02	Jang et al. (2004)
Brewery wastewater	2240 mg/L	Full strength brewery wastewater	One-chamber air-cathode MFC with non-wet proofed carbon cloth as anode (7 cm ²) and wet proofed carbon cloth containing Pt as cathode	0.2	Feng et al. (2008)
Beer brewery wastewater	600 mg/L	Anaerobic mixed consortia	One-chamber air-cathode MFC with carbon fibers as anode	0.18	Wen et al. (2009)
Chocolate industry wastewater	1459 mg/L COD	Activated sludge	Two-chambered MFC with graphite rods as electrodes (16.485 cm ²) and ferricyanide as catholyte	0.302	Patil et al. (2009)
Domestic wastewater	600 mg/L	Anaerobic sludge	Two-chambered mediator-less MFC with plain graphite electrode (50 cm ²)	0.06	Wang et al. (2009a)
Food processing wastewater	1672 mg/L COD	Anaerobic sludge	Two-chambered MFC with carbon paper as electrodes (22.5 cm ²)	0.05	Oh and Logan (2005)
Meat processing wastewater	1420 mg/L	Domestic wastewater	One-chamber (28 mL) MFC with carbon paper electrodes (25 m ² /m ³)	0.115	Heilmann and Logan (2006)
Paper recycling wastewater	2.452 g/L	Diluted paper recycling wastewater	One-chamber MFC with graphite fiber-brush anode (5418 m ² /m ³ brush volume)	0.25	Huang and Logan (2008)
Protein-rich wastewater	1.75 g/L COD	Mesophilic anaerobic sludge	Two-chambered MFC with graphite rods as electrode (65 cm ²)	0.008	Liu et al. (2009)
Real urban wastewater	330 mg/L	Domestic wastewater	Separate anolyte (1000 cm ³) and catholyte chambers (100 cm ³) connected with a salt bridge; graphite cylinder anode (20 cm ²)	0.018	Rodrigo et al. (2007)
Starch processing wastewater	4852 mg/L COD	Starch processing wastewater	One-chamber air-cathode MFC with carbon paper anode (25 cm ²)	0.09	Lu et al. (2009)
Swine wastewater	8320 mg/L COD	Full-strength swine wastewater	One-chamber MFC (28 mL) with Toray carbon paper as anode (25 m ² /m ³) and carbon cloth as cathode	0.015	Min et al. (2005)
Synthetic acid-mine drainage water	0.007 M Fe ²⁺	Medium with NaCl and NaHCO ₃ sparged with N ₂ and CO ₂	Two-chambered MFC with carbon cloth anode (7 cm ²) and platinized carbon cloth cathode	0.064	Cheng et al. (2007)
Synthetic wastewater	12.1 g/L COD	Anaerobic mixed consortia producing hydrogen	Dual chamber MFC with graphite plate electrode (83.56 cm ²)	0.086	Venkata Mohan et al. (2008a)
Synthetic wastewater	16 g COD/day	Granular sludge from a upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor	Membrane-less, mediator-less MFC with glassy carbon electrodes (160 cm ²)	0.017	Aldrovandi et al. (2009)
Synthetic wastewater	510 mg/L	Anaerobic culture from a pre-existing MFC	Dual chamber MFC with stainless tell as anode (170 cm ²) and graphite rods as cathode (150 cm ²)	0.008	Jadhav and Ghangrekar (2009)
Synthetic wastewater with molasses and urea	1000 mg/L	Anaerobic mixture from wastewater plant	Two-chambered MFC with copper wires as anode (20.1 cm ²) and gold covered copper wires as	0.005	Kargi and Eker (2007)

Tabla 11: Diferentes sustratos usados en celdas de combustible microbianas y su máxima densidad de corriente producida [59]. Parte 2 de 2.

Anexo 6

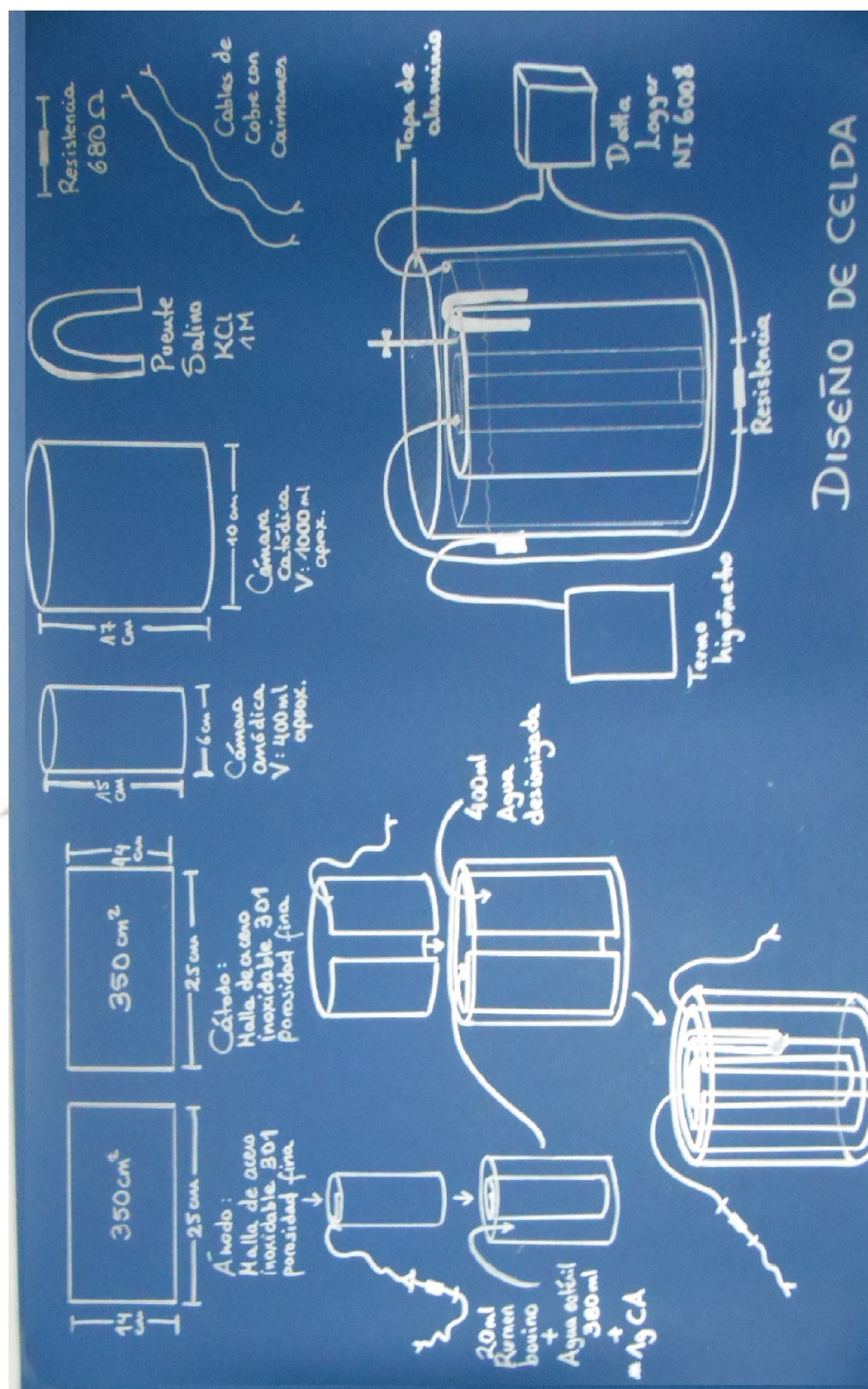


Figura 38: Plano de diseño de la unidad experimental