

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A TRAVÉS DE
MICROORGANISMOS EN LOS SEDIMENTOS
DE HUMEDALES, ITE - TACNA**

TESIS

PRESENTADA POR:

M.Sc. CARLOS FRANCISCO TITO VARGAS

Para optar el Grado Académico de:

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

TACNA - PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA
Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD A TRAVÉS DE
MICROORGANISMOS EN LOS SEDIMENTOS
DE HUMEDALES, ITE-TACNA**

Tesis sustentada y aprobada el 29 de diciembre del 2017; estando el jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE :
Dr. Alberto Bacilio Quispe Cohaila

SECRETARIO :
Dr. Benjamín José Davila Flores

MIEMBRO :
P.h.D. Edwin Martín Pino Vargas

ASESOR :
Dr. Daladiér Miguel Castillo Cotrina

Dedicatoria:

A Dios por guiar mis pasos,
a mi familia por haber velado mi bienestar,
a mi gran compañera y esposa Julia, por ser quien me
brinda su apoyo en todo momento de mi vida académica y personal.

Agradecimientos:

Al Dr. Daladier Castillo Cotrina, por orientarme en mi trabajo de tesis, ayudarme en el análisis de los resultados, y brindarme sus valiosos aportes en el proceso de presentación del informe.

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, por haberme brindado una formación correcta. A la Escuela de Posgrado de UNJBG y a la Escuela de Biología Microbiología de la Facultad de Ciencias por haberme brindado los ambientes para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A todas aquellas personas que, de alguna forma, me brindaron su ayuda desinteresada, para la culminación de este trabajo de investigación.

CONTENIDO

	Pág.
Página de jurado.....	<i>ii</i>
Dedicatoria.....	<i>iii</i>
Agradecimientos	<i>iv</i>
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	01
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	03
1.1 Descripción del problema.....	03
1.2 Formulación del problema.....	04
1.3 Objetivos de la investigación	04
1.3.1 Objetivo general.....	04
1.3.2 Objetivos específicos	04
1.4 Hipótesis.....	05
1.5 Justificación e importancia de la investigación.....	05
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	06
2.1 Antecedentes del estudio.....	06
2.2 Bases teóricas	10
Humedales de Ite.....	10

2.2.1 Celdas de combustible microbiana (MFC)	10
2.2.1.1 Componentes de una MFC	13
2.2.1.2 Clasificación de las MFC.....	14
a) De primera generación	14
b) De segunda generación.....	14
c) De tercera generación.....	14
2.2.2 Principales géneros de bacterias anodófilas.....	15
2.2.3 Energía y enzimas en microorganismos	17
2.2.4 Compuestos de alta energía	20
2.2.5 Reacciones estequiométricas en las MFC	22
2.3 Definición de términos	26
2.3.1 Ánodo.....	26
2.3.2 Anolito	26
2.3.3 Bacterias anodófilas.....	26
2.3.4 Cátodo	27
2.3.5 Catolito.....	27
2.3.6 Celdas de combustible microbiana	28
2.3.7 Circuito eléctrico	28
2.3.8 Fuentes de carbono	28
2.3.9 Membrana de intercambio de protones	29
CAPÍTULO III: MARCO FILOSÓFICO	30

CAPÍTULO IV: MARCO METODOLÓGICO	36
4.1 Diseño de la investigación	36
4.2 Materiales y equipos	36
4.3 Procedimiento	37
4.2.1 Diseño y construcción de las MFC.....	37
4.3.1.1 MFC de dos cámaras.....	37
4.3.1.2 MFC de una cámara	38
4.3.2 Muestra y puesta en marcha de las MFC	39
A. Muestra	39
B. En la MFC de dos cámaras y materia orgánica.....	40
C. En la MFC de una cámara y materia orgánica	40
D. En la MFC de una cámara sin materia orgánica	41
4.3.3 Medición de electricidad generada en las MFC	41
4.3.4 Estudio y operacionalización de variables	43
4.3.4.1 Variables dependientes (Y).....	43
4.3.4.2 Variables independientes (X).....	43
4.3.5 Procesamiento y análisis de los datos	44
CAPÍTULO V. RESULTADOS	45
5.1 Reactores o celdas de combustible microbiana (MFC).....	45
5.1.1 MFC de dos cámaras.....	45
5.1.2 MFC de una cámara	47

5.2 Producción de electricidad generada a través de las MFC	49	
5.2.1 Electricidad generada en las MFC	49	
5.2.2 Análisis de regresión de las variables	51	
5.3 Caracterización de la corriente en función del potencial	53	
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN		59
CONCLUSIONES	66	
RECOMENDACIONES.....	68	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69	
ANEXOS.....	79	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Sustratos usados en celdas de combustible microbiana	12
Tabla 2 Componentes de una celda de combustible microbiana	13
Tabla 3 Microorganismos capaces de producir energía eléctrica.....	16
Tabla 4 Operacionalización de variables.....	44
Tabla 5 Electricidad generada en las MFC.....	49
Tabla 6 Grado de relación y correlación entre las variables tiempo y generación de electricidad y su ecuación	51
Tabla 7 Caracterización de la corriente en la MFC de dos cámaras	53
Tabla 8 Caracterización de la corriente en la MFC de una cámara.....	55
Tabla 9 Caracterización de la corriente en la MFC de una cámara sin materia orgánica.	57
Tabla 10 ANOVA para MFC de dos cámaras con materia orgánica	80
Tabla 11 ANOVA para MFC de una cámara con materia orgánica, sin aireación	80
Tabla 12 ANOVA para MFC de una cámara sin materia orgánica y sin aireación.....	80
Tabla 13 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de dos cámaras con materia orgánica en el día 1	81
Tabla 14 Densidad de corriente vs tiempo en FC de dos cámaras en el día 5	82

Tabla 15 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de dos cámaras en el día 9	83
Tabla 16 Densidad de corriente vs tiempo en FC de dos cámaras en los días 1, 5 y 9.....	84
Tabla 17 Densidad de corriente vs tiempo en MFC, una cámara sin materia orgánica en el día 5.....	85
Tabla 18 Densidad de corriente vs tiempo en MFC, una cámara sin materia orgánica en el día 11.....	86
Tabla 19 Densidad de corriente vs tiempo en MFC, una cámara sin materia orgánica en el día 17.....	87
Tabla 20 Densidad de corriente vs tiempo en MFC, una cámara con materia orgánica durante los días 5, 11 y 17	88
Tabla 21 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica en el día	89
Tabla 22 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica en el día 5.....	90
Tabla 23 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica en el día 9.....	91
Tabla 24 Densidad de corriente vs tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica durante los días 1, 5 y 9	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Migración de los electrones a través de citocromos en la membrana celular bacteriana.....	08
Figura 2. Esquema de una celda generadora de bioelectricidad	12
Figura 3. La torre de electrones.	18
Figura 4. Sistema transportador de electrones que media la transferencia de electrones desde el sustrato al O ₂	19
Figura 5. Generación de la fuerza motriz de protones durante la respiración aeróbica.....	20
Figura 6. Obtención de energía en bacterias.	21
Figura 7. Estructura y función de la ATP sintetasa (ATPasa)..	22
Figura 8. Diseño de la celda microbiana de dos cámaras.....	45
Figura 9. Construcción e implementación de la celda microbiana de dos cámaras	46
Figura 10. Diseño de la celda microbiana de una cámara... ..	47
Figura 11. Construcción e implementación de la celda microbiana de una cámara.. ..	48
Figura 12. Electricidad obtenida en las MFCs. CM2C: celda microbiana de dos cámaras con aireación, CM1C: celda microbiana de una cámara sin aireación y CM1Ci: celda microbiana de una cámara sin aireación y sin materia	

orgánica.....	50
Figura 13. Análisis de regresión en las MFCs en la generación de electricidad.....	52
Figura 14. Densidad de corriente vs tiempo en MFC de dos cámaras.....	54
Figura 15. Densidad de corriente vs tiempo en MFC de una cámara.	56
Figura 16. Densidad de corriente vs tiempo con MFC de una cámara. ...	58
Figura 17. Vista panorámica de los humedales de Ite	93
Figura 18. Zonas de estudio en los humedales de Ite.....	93
Figura 19. Recolección de muestras de sedimentos M1 (derecha) y M2 (izquierda) en los humedales de Ite	94
Figura 20. pH-metro que permitió las mediciones de las muestras.....	94
Figura 21. Construcción de la MFC de dos cámaras tipo “H”	95
Figura 22. Membrana de Nafion, antes (derecha) y después (izquierda) de su tratamiento	95
Figura 23. Diseño terminado de la MFC de dos cámaras (derecha) y de una cámara (izquierda).	96
Figura 24. Multímetro digital PRASEK Premium PR-75” (derecha) y resistencias utilizados para las mediciones de voltaje y de polarimetría respectivamente.....	96

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo, la generación de electricidad por los microorganismos presentes en los sedimentos de los humedales de Ite. Diseñándose y construyéndose dos tipos de celdas de combustible microbianas (MFC), la primera de dos cámaras y la segunda de una cámara, en ambos casos fueron biorreactores de alimentación discontinua, tipo batch. Los microorganismos utilizados fueron a través de un consorcio presente en los sedimentos. Los resultados de generación de electricidad fueron de 686 mV para la MFC de dos cámaras con materia orgánica, 442 mV para la MFC de una cámara con materia orgánica y de 202 mV para la MFC de una cámara sin materia orgánica. Se determinó una curva de polarización relacionando la densidad de potencia con la densidad de corriente, comprobándose que a partir del día 11 para la MFC de dos cámaras, del día 12 para la MFC de una cámara con materia orgánica y día 6 para la MFC de una cámara sin materia orgánica, se empezaron a tener pérdidas por disminución de sustrato o transporte de masas.

Palabras clave: bioelectricidad, celdas de combustible microbiana, curva de polarización y consorcio microbiano.

ABSTRACT

The present work had as objective, the generation of electricity by the microorganisms present in the sediments of Ite wetlands. Designing and constructing two types of microbial fuel cells (MFC), the first of two chambers and the second of a chamber, in both cases were discontinuous batch feeding bioreactors. The microorganisms used were through a consortium present in the sediments. The results of electricity generation were 686 mV for the two-chamber MFC with organic matter, 442 mV for the MFC of a chamber with organic matter and of 202 mV for the MFC of a chamber without organic matter. A polarization curve was determined by relating the power density to the current density, showing that from day 11 for the two-chamber MFC, day 12 for the MFC of a chamber with organic matter and day 6 for the MFC of a chamber without organic matter, began to have losses by substrate reduction or mass transport.

Key words: bioelectricity, microbial fuel cells, polarization curve and microbial consortium.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevas fuentes de energía no convencionales, para resolver necesidades como el de la demanda de electricidad. Uno de los argumentos más importantes en la búsqueda de energías alternativas, es la no utilización de los derivados del petróleo, ya que evitan la producción de dióxido de carbono (CO₂) y su emanación a la atmosfera, que dan como resultado el calentamiento global. Una de las energías alternativas es la que se produce por el aprovechamiento del metabolismo realizado por microorganismos, al utilizar los desechos de biomasa como materia prima, transformándola en energía eléctrica, para ser utilizada por el hombre (Saavedra, 2012).

Los microorganismos están presentes en todos los ambientes, y a través de su metabolismo, pueden generar electricidad a partir de sedimentos, para lo cual se requiere el diseño de celdas de combustible microbiana (MFC) que consta de dos compartimentos, una que contenga al ánodo y otra que contenga al cátodo (Alzate-Gaviria & col, 2008). En el compartimento anódico, están los sedimentos que contienen a los microorganismos, los cuales forman una biopelícula sobre el ánodo, que

contribuyen con el flujo de electrones hacia el cátodo y con lo cual se genera electricidad. Estos microorganismos se han identificado y caracterizado, conforman consorcios, que participan en estos procesos. A través de la ecología microbiana se sabe las relaciones entre los miembros de estas comunidades que contribuyen a generar mayor energía que los cultivos puros (Romero & col, 2012).

Los factores imprescindibles para que se lleve a cabo el proceso de generación de electricidad, a través de MFC, es el consorcio de microorganismos, así como el inóculo con el que se va a trabajar proveniente de los sedimentos. La relación de estos microorganismos por asociación o dependencia de dos o más tipos diferentes, combinan sus capacidades metabólicas para catalizar un sustrato que no puede ser degradado por alguno de ellos de manera independiente (Castillo & Tito, 2012).

Dada la importancia de encontrar fuentes alternativas de energía, utilizando los sedimentos a través de microorganismos, fue el motivo para realizar este trabajo de investigación, cuyo objetivo fue determinar el grado de generación de electricidad por los microorganismos de los sedimentos en los humedales de ITE en diferentes celdas microbianas.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción del problema

Los humedales de Ite, que están ubicados a 95 km de la ciudad de Tacna, más preciso en el camino de la costanera de Tacna rumbo al Puerto de Ilo, su principal atractivo es la fauna y flora. Estos humedales contienen sedimentos de la actividad minera.

Se conoce que estos sedimentos de los humedales, presentan una gran cantidad de restos minerales. Sin embargo, éstos albergan gran cantidad de microorganismos que, podrían ser útiles, para la generación a través de ellas, de bioelectricidad a escala de laboratorio.

1.2 Formulación del problema

Para realizar este estudio se planteó la siguiente interrogante:
¿Qué grado de electricidad generan los microorganismos de los sedimentos en los humedales de ITE?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la generación de electricidad por los microorganismos presentes en los sedimentos de los humedales de ITE a través de celdas de combustible microbiana.

1.3.2. Objetivos específicos:

- a) Diseñar y construir las celdas generadoras de bioelectricidad de una cámara y de dos cámaras.
- b) Establecer los parámetros de inicio de la producción de electricidad en las celdas de combustible, utilizando un consorcio microbiano.
- c) Medir la bioelectricidad generada a través de un consorcio microbiano en los tipos de celdas de combustible utilizados.
- d) Caracterizar las curvas de producción de electricidad y de polarización en los diferentes tipos de celdas generadoras de bioelectricidad.

1.4. Hipótesis:

Es posible determinar el grado de electricidad generada por los microorganismos en los sedimentos de los humedales de ITE.

1.5 Justificación e importancia de la investigación

Ante el conocimiento de las emergentes tecnologías para obtener bioenergía que pueden conseguirse a través del uso de consorcios microbianos (presentes en los sedimentos producidos por la actividad humana y los demás seres vivos), usando celdas de combustible, se propuso en este trabajo investigar el grado de bioelectricidad que generan los microorganismos de los sedimentos ubicados en los humedales de ITE, para futuros usos como biosensores, para pequeñas instalaciones y otros.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

El concepto de microorganismos usados como catalizadores en celdas de combustibles microbianas (MFC) fue explorado desde los años 1970 y 1980. La MFC utilizada para tratar agua residual doméstica fue introducida por Habermann y Pommer (1991). Sin embargo, recientemente han vuelto a ser dispositivos atractivos para generar electricidad desarrollando oportunidades para aplicaciones prácticas. Una MFC convierte un sustrato biodegradable directamente a electricidad. Esto se consigue cuando las bacterias, a través de su metabolismo, transfieren electrones desde un donador, tal como la glucosa, a un aceptor de electrones.

En nuestro país es muy poco lo que se ha estudiado hasta el momento, pero en trabajos realizados en el extranjero se están difundiendo con auge. Las bacterias que producen electricidad despiertan una gran curiosidad: en cuanto a su potencial utilización a pequeña escala, que podría representar una nueva fuente de energía amigable con

el ambiente. Sin embargo, se conoce muy poco sobre los mecanismos moleculares de este fenómeno.

Las bacterias que poseen los citocromos del tipo C generan electricidad, estas proteínas ubicadas en su membrana externa, hace que los investigadores señalen que es fundamental comprender, cómo estas moléculas intervienen en la comunicación entre la bacteria y los electrodos (es decir, funciona como un material conductor que "acepta" los electrones), para así optimizar la generación de corriente eléctrica (Busalmen & col, 2008).

Según estudios indican que hay una gran versatilidad de los microorganismos como *Geobacter* para transferir electrones fuera de la célula (flujo extracelular), que está siempre relacionada con la presencia de citocromo C (Esteve-Nuñez, 2008). Estos microorganismos se alimentan y "respiran" metales para producir electricidad que puede utilizarse para la biorremediación. Además estos microorganismos pueden presentar más de cien citocromos en su genoma los cuales transfieren sus electrones, producto de su metabolismo, a través de sus pilis hacia los electrodos, que a su vez pueden ser colonizados por los microorganismos (Juarez & col. 2009) (Pirbadian et al, 2014).

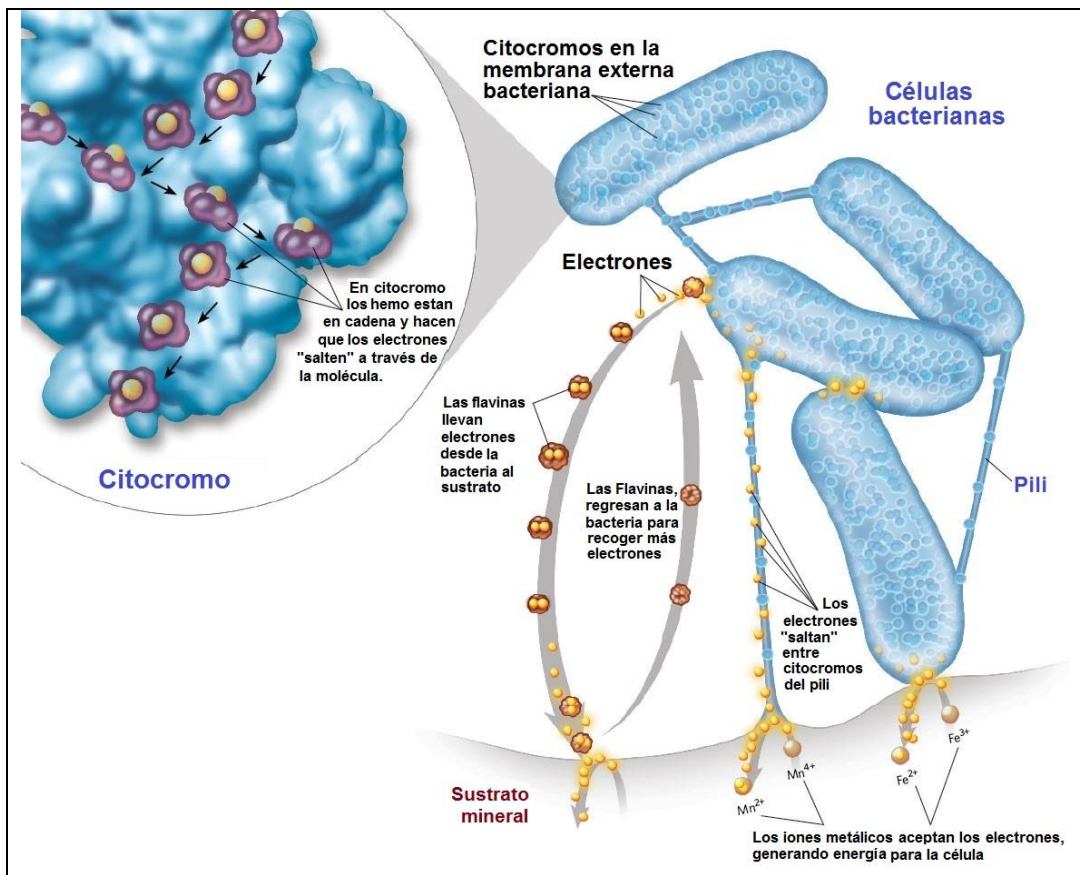


Figura 1. Migración de los electrones a través de citocromos en la membrana celular bacteriana

Fuente: (Pirbadian et al, 2014)

Es posible el reemplazo de combustibles fósiles a fuentes de energía renovable y carbono neutrales. Los microorganismos son capaces de producir energía renovable sin daño del ambiente o la interferencia con suministro de alimentos (Falcón et al, 2009).

Los microorganismos pueden ser aprovechados a través de las células de combustible para convertir los materiales orgánicos en electricidad, hidrógeno o para remediar la contaminación del medio ambiente (Wrighton & Coates, 2009).

La generación de electricidad puede hacerse a través de celdas de combustible microbiana (MFC) equipado con un par de electrodos y con un circuito externo a conexión eléctrica, dichos electrodos, están en recipientes que forman aglomerados estructurados, que se forman en una solución que contiene finas partículas conductoras y los microorganismos, con una transferencia de electrones extracelular de electrones de dichos microorganismos hacia el electrodo negativo (Hashimoto et al, 2014).

Es posible mejorar la conexión de las células hacia el electrodo; esto es importante para la tecnología de la celda de combustible microbiana. En esta comunicación se demuestra que una conexión mejor se puede hacer controlando el estado fisiológico de las bacterias de cosecha de electricidad como *Geobacter sulfurreducens* (Esteve-Nuñez et al, 2001).

2.2 Bases teóricas:

2.2.1 Humedales de Ite

Están ubicados en la Bahía de Ite a 95 km de la ciudad de Tacna, consiste en un grupo de lagunas artificiales, de agua salobre, e interconectadas por estrechos canales de una profundidad de 2 m como máximo, donde existen pastos naturales, zonas de sales hidratadas y zonas sin vegetación. El agua que alimenta los humedales proviene de las filtraciones de la represa de Quebrada Honda, donde se almacenan en la actualidad los relaves mineros que generan las minas de Cuajone y Toquepala (Ibarcena, 2011). Presenta una vegetación natural pantanosa, conformada en su mayoría por fanerógamas (Zegarra 1999).

En la zona de los humedales, sin vegetación, cercanos al litoral, los sedimentos marinos presentan metales traza (mg/Kg) de Cu 608, 063; Zn 39,923; As 8,66; Cd 0,41; Hg 0.01; Pb 8,472 y Fe 33078,63. Y en la arena se presentan (mg/Kg) Cd 1,81; Cu 2189,6; Pb 2,78; Hg 1,5; Zn 6,87 y As 28,01 (Ibárcena, 2011) (La república, 2015).

2.2.2 Celda de combustible microbiana (MFC)

La MFC es un dispositivo que utiliza microorganismos para convertir la energía química contenida en un combustible o materia

orgánica en energía eléctrica (Hernandez et al, 2011). Esto es posible bajo condiciones adecuadas, donde determinadas bacterias electroactivas pasan los electrones producidos en su actividad metabólica a un electrodo en lugar de a un aceptor de electrones (como oxígeno o nitrato tal y como ocurre en los procesos de depuración naturales). La viabilidad técnica de este concepto ha sido demostrada en trabajos recientes de manera que se han creado grandes expectativas en la comunidad científica de poder producir una energía “verde” mediante la explotación de la biomasa contenida en las aguas residuales domésticas, industriales o de sedimentos. Al usar la materia orgánica de las aguas residuales como combustible, paralelamente a la producción de energía se consigue la depuración de las aguas contaminadas (Alzate – Gaviria y col., 2008).

Este proceso requiere ser optimizado para su aplicación a escala industrial, se basa en la generación directa de electricidad a partir de la oxidación de la materia orgánica en condiciones anaerobias cuando el aceptor final de electrones es un electrodo. Los electrones transferidos al ánodo, mediante intermediarios o directamente, se transfieren al cátodo donde junto con el protón liberado en la degradación de la materia orgánica y oxígeno forman agua (Figura 2) (Bonmati y Magri, 2007).

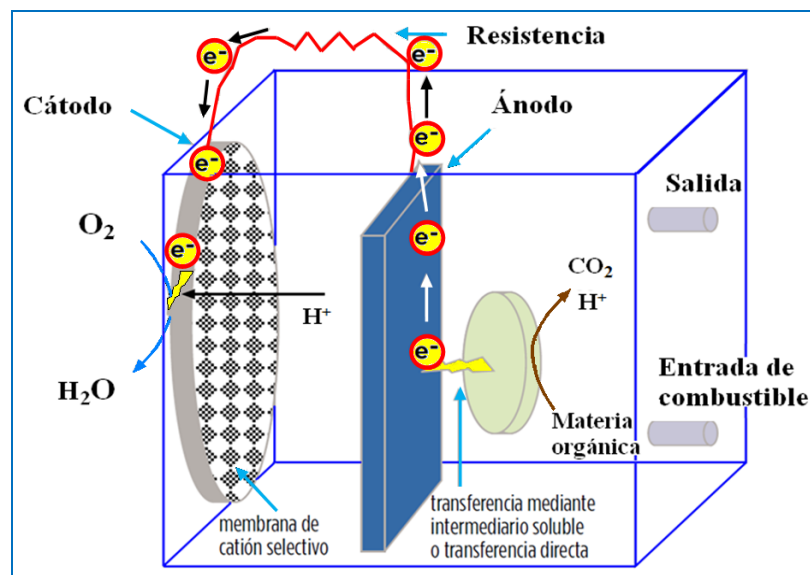


Figura 2. Esquema de una MFC.

Fuente: (Bonmati y Magri, 2007).

Tabla 1

Sustratos usados en una MFC.

Sustrato	Concentración
Acetato	1 g/l
Etanol	10 mM
Glucosa	6,7 mM
Lactato	18 mM
Macroalgas, <i>Ulva lactuca</i>	2500 mg/lCOD
Extracto de malta, extracto de levadura y glucosa	1%
Manitol	1220 mg/l
Fumarato de sodio	25 mM
Almidón	10 g/l
Sucrosa	2, 6 g/l
Xilosa	6,7 mM
Aguas residuales artificiales con glucosa y glutamato	300 mg/l
Aguas residuales domésticas	600 mg/l
Aguas residuales de planta de reciclaje de papel.	2,45 g/l

Fuente: Pant *et al.*, 2010

2.2.1.1 Componentes de una MFC

El dispositivo en el que se convierte energía química en energía eléctrica por la acción biocatalítica de microorganismos que oxidan sustratos biodegradables tales como glucosa, acetatos o materia orgánica presente, por ejemplo, en las aguas residuales, se conoce como Celdas de combustibles microbianas (MFC) (Saavedra, 2012).

Tabla 2

Componentes de una celda de combustible microbiana

Elementos	Materiales	Comentarios
Ánodo	Grafito, tela de grafito, papel de carbón, carbón vítreo, Pt, etc.	Necesario
Cátodo	Grafito, tela de grafito, papel de carbón, carbón vítreo, Pt, etc.	Necesario
Cámara anódico	Vidrio, policarbonato, Plexiglas.	Necesario
Cámara catódica	Vidrio, policarbonato, Plexiglas.	Opcional
PEM	Nafion, Ulterex, puente salino.	Necesario

Fuente: Saavedra, 2012.

2.1.1.2 Clasificación de las MFC

Hay tres tipos diferentes de MFC, que se clasifican de acuerdo a la forma en que transfieren los electrones hacia el ánodo. Estos sistemas se clasifican además en lo que se llama “generaciones” de acuerdo con su desarrollo histórico y cuando han sido descritas en la literatura científica (Leropoulos et al., 2005).

- a) **De primera generación** utilizan mediadores solubles (rojo neutro, azul de metileno, etc.) para transferir electrones desde las bacterias hacia el electrodo. *E. coli* es el modelo estándar de las especies heterótrofas comúnmente empleadas en este tipo de MFC.
- b) **De segunda generación** utilizan sus mediadores endógenos como en el caso de *Desulfovibrio desulfuricans* que utiliza sulfato / sulfuro.
- c) **De tercera generación** la transferencia de electrones se realiza de manera directa a los electrodos. Se basan en especies anodófilas como por ejemplo *Geobacter sulfurreducens*, no requieren mediadores solubles.

2.2.2 Principales géneros de bacterias anodófilas.

A la fecha las bacterias anodófilas incluyen miembros, de diversos filos, como *alpha-*, *beta-*, *gamma-*, y *deltaproteobacterias*, *Firmicutes*, *Acidobacteria*, y *levaduras* (Logan *et al.*, 2006); las más comúnmente conocidas son *Shewanella putrefaciens*, *Gammaproteobacteria*, *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens* y *Desulfuromonas acetoxidans*, todas *Deltaproteobacteria*, y *Rhodospirillum rubrum*, una *Betaproteobacteria* (Rabaey & Verstraete, 2005; Bond *et al.*, 2002).

La mayoría de estas bacterias usan el Fe (III) sólido como aceptor de electrones, ser anaeróbicas, Gramnegativas y oligotróficas. Mediante el estudio de comunidades microbianas en los ánodos, se logró avances en la comprensión de los mecanismos de transferencia de electrones y la generación de corriente por los microorganismos del biofilm (Lovley *et al.*, 2006; Rabaey & Verstraete, 2005; Lovley *et al.*, 2008; Logan, 2009).

Las celdas de combustible microbianas (MFCs) pueden funcionar con un cultivo puro o mixto. Las MFCs con cultivos puros son importantes para determinar la capacidad de las cepas para producir corriente y estudiar los mecanismos de transferencia de electrones hacia el ánodo (Ringeisen *et al.*, 2007).

Tabla 3

Microorganismos capaces de producir energía eléctrica.

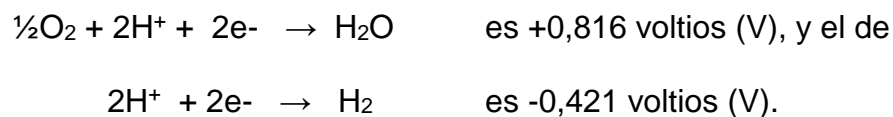
Bacteria	Mayor Nivel taxonómico
<i>Shewanella putrefaciens</i> IR-1	γ -proteobacteria
<i>Proteus vulgaris</i>	γ -proteobacteria
<i>Clostridium butyricum</i>	Firmicutes
<i>Desulfuromonas acetoxidans</i>	γ -proteobacteria
<i>Geobacter metallireducens</i>	γ -proteobacteria
<i>Rhodoferax ferrireducens</i>	γ -proteobacteria
<i>Aeromonas hydrophila</i> A3	γ -proteobacteria
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	γ -proteobacteria
<i>Desulfolobus propionicus</i>	δ -proteobacteria
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	γ -proteobacteria
<i>Geotrix fermentans</i>	Acidobacteria
<i>Geopsychrobacter electrodiphilus</i>	γ -proteobacteria
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fungi
<i>Escherichia coli</i>	γ -proteobacteria
<i>Shewanella oneidensis</i> DSP10	γ -proteobacteria
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	γ -proteobacteria
<i>Desulfitobacterium hafniense</i>	Firmicutes
<i>Acidiphilium</i> sp.3.2Sup5	γ -proteobacteria
<i>Ochrobactrum antropi</i> YZ-1	γ -proteobacteria
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> DX-1	γ -proteobacteria
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	γ -proteobacteria
<i>Therminicola</i> sp. Cepa JR	Firmicutes
<i>Hansenula anomala</i>	Fungi
<i>Klebsiella pneumoniae</i> L17	γ -proteobacteria
<i>Arcobacter butzleri</i>	γ -proteobacteria
<i>Bacillus subtilis</i>	Firmicutes
<i>Therminicola ferriacetica</i> Z-0001	Firmicutes
<i>Enterobacter cloacae</i>	γ -proteobacteria
<i>Corynebacterium</i> sp. Cepa MF03	Firmicutes

Fuente: Cabezas, 2010.

2.2.3 Energía y enzimas en microorganismos

La energía se define como la capacidad de realizar un trabajo. Y esta presenta las unidades de kilojulios (kj), unidad de energía calorífica. En toda reacción química se pierde energía como calor, por lo que es importante la energía libre (G), para realizar trabajo. El cambio de energía libre durante una reacción se expresa como ΔG° , si en una reacción el ΔG° es negativa, entonces es espontánea, libera energía (exotérmica) que la célula conserva como ATP. Si ΔG° es positiva la reacción requiere energía (endergónica) (Madigan et al, 2004; Tortora et al, 2007).

Los compuestos pueden oxidarse o reducirse, y se expresa como el potencial de reducción (E°); se mide eléctricamente en voltios con relación al potencial del H_2 , (forma oxidada +e- \rightarrow forma reducida) (Voet et al, 2007). Y está influenciado por el pH. A pH neutro celular y su (E°) es de:



La transferencia de electrones es de arriba más negativos (dona electrones) hacia abajo más positivo (acepta electrones) (más negativos arriba y más positivos abajo) (figura 3).

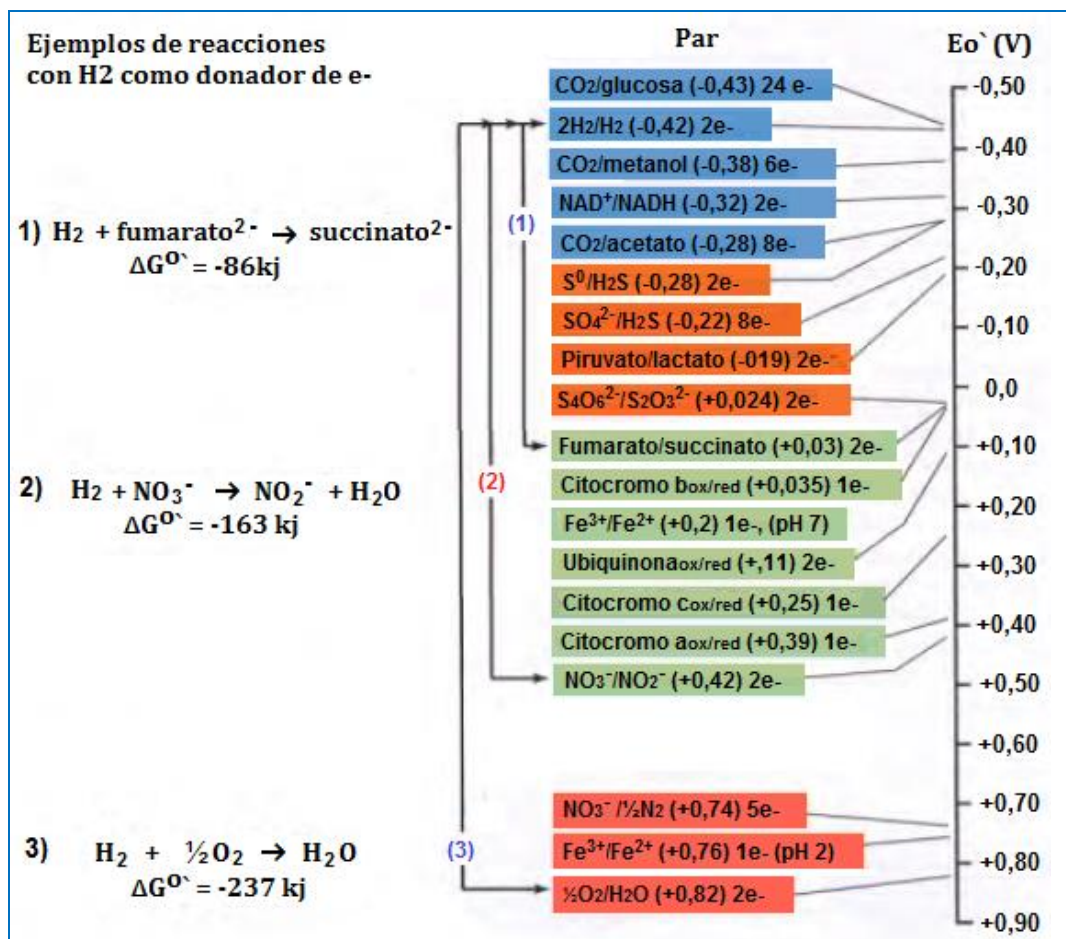


Figura 3. Torre de electrones.

Fuente: (Madigan et al, 2004).

Existen varios tipos de enzimas de oxidación-reducción implicadas en el sistema de transporte de electrones: (1) NADH deshidrogenasas, (2) flavoproteínas (FMN) o (FAD)]; (3) proteínas con hierro y azufre; y (4) citocromos. Además, se conocen transportadores no proteicos: quinonas solubles en lípidos (Madigan et al, 2004; Garrido y Teijón, 2006)

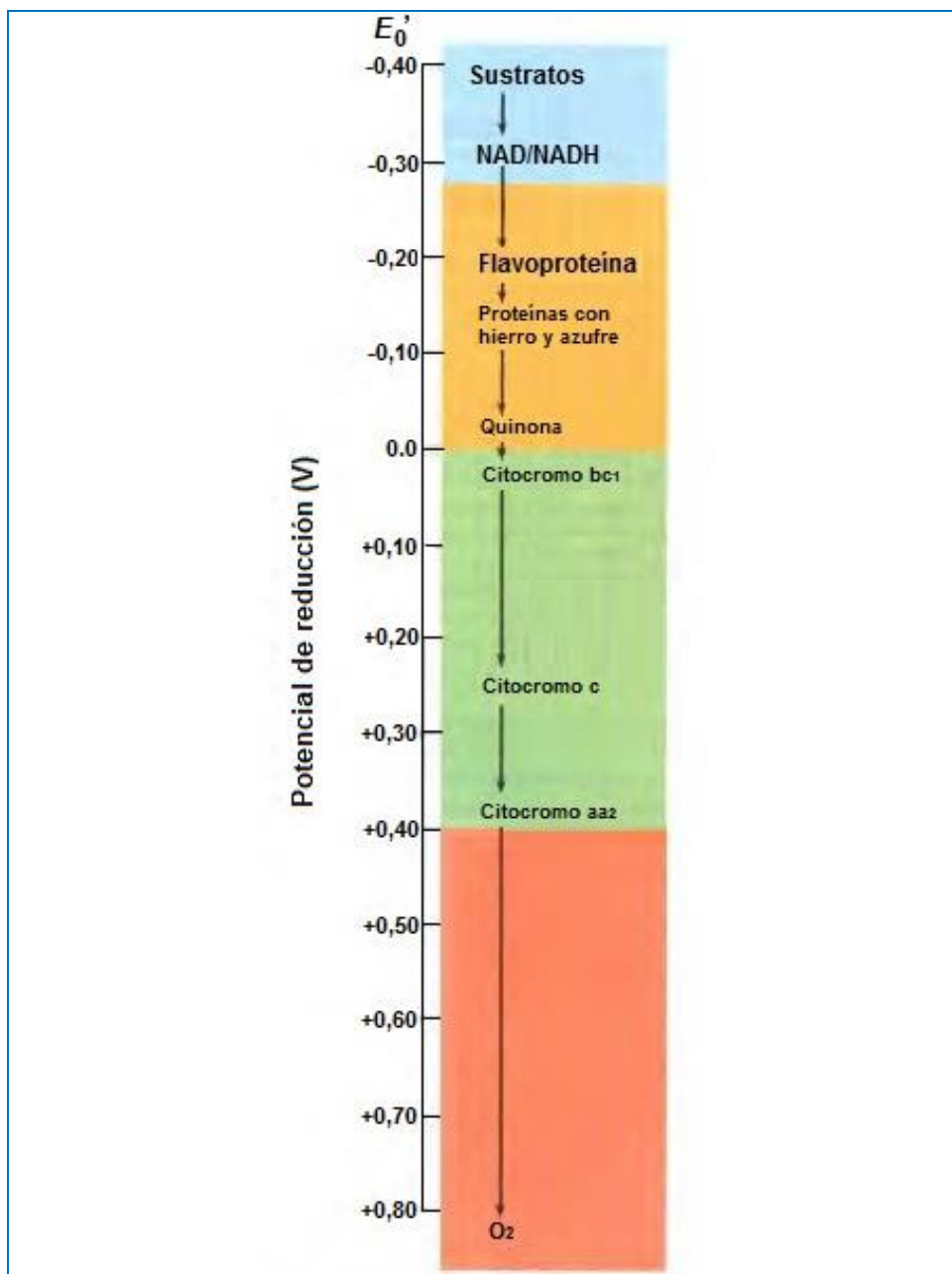


Figura 4. Sistema transportador de electrones que media la transferencia de electrones desde el sustrato al O₂.

Fuente: (Madigan et al, 2004; Tortora et al, 2007),

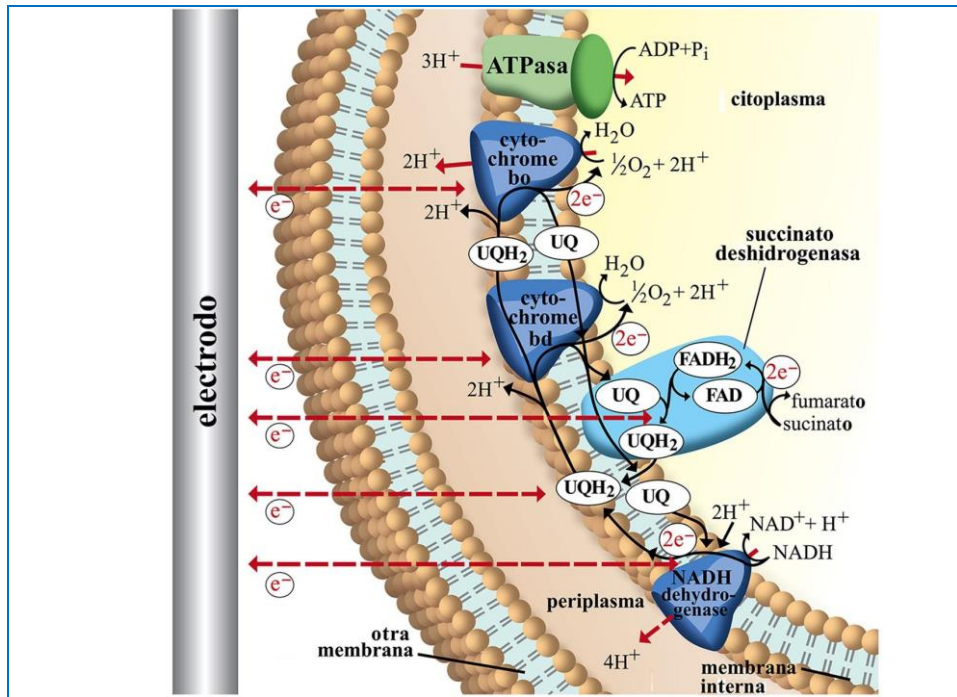


Figura 5. Generación de la fuerza motriz de protones durante la respiración aeróbica.

Fuente: (Madigan y col, 2004)

2.2.4 Compuestos de alta energía

La energía liberada en los seres vivos, las reacciones redox debe conservarse como ATP para el funcionamiento celular. Ejemplo es la glucólisis, aquí se produce ATP por fosforilación a nivel de sustrato, y se da en tres etapas: La I incluye reacciones preparatorias, sin proceso redox, no produce ATP, produce dos moléculas (gliceraldehido-3-fosfato).

La II incluye proceso redox, forma ATP y dos moléculas de piruvato. La III incluye reacción redox, origina etanol y CO₂, o lactato (Voet y col, 2007).

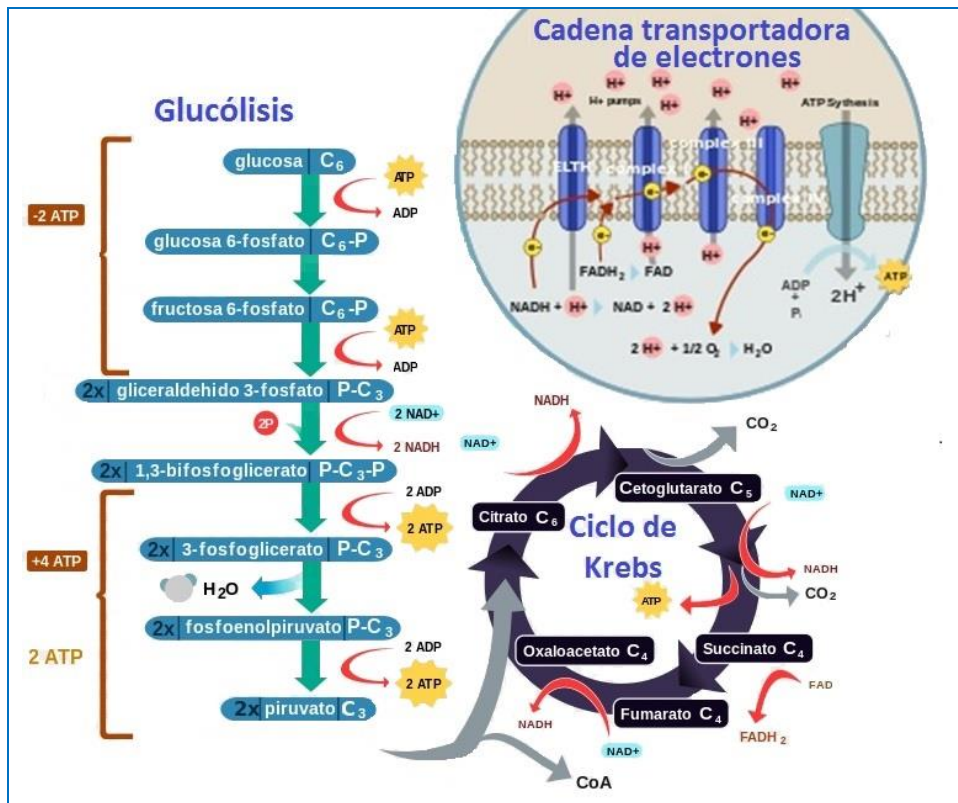


Figura 6. Obtención de energía en bacterias.

Fuente: (Voet y col, 2007).

La ATPasa F₁/F_o es el motor biológico más pequeño que se conoce. Considerando el modelo actual de cómo funciona la ATPasa de *Escheircichia coli*, el movimiento de protones a través de la subunidad F_o induce la rotación de las proteínas c generando una torsión que se transmite a F₁ mediante las subunidades yc. En esencia, la energía se

transmite a F1 a través de la rotación acoplada de las subunidades y que causa cambios conformacionales.

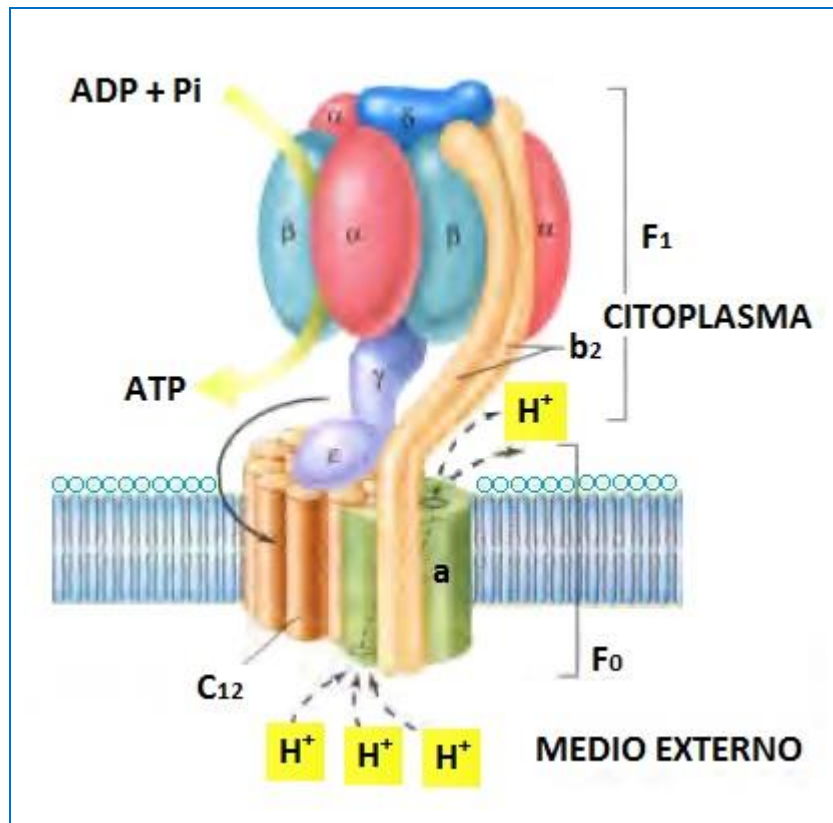


Figura 7. Estructura y función de la ATP sintetasa (ATPasa).

Fuente: (Madigan y col, 2004)

2.2.5 Reacciones estequiométricas en las MFC

Entre las reacciones estequiométricas principales del metabolismo fermentativo microbológico están: resultado de la oxidación de la materia orgánica en condiciones anaeróbicas se produce CO_2 , protones y

electrones, mientras que en condiciones aeróbicas únicamente se produciría CO₂ y agua. Por ello resulta de interés mantener condiciones anaeróbicas para la generación de electrones: (Hernandez y col., 2011).



Los electrones generados son transferidos hacia el electrodo negativo, el ánodo. Esta transferencia puede suceder a través de proteínas conductoras de la membrana celular o a través de mediadores. Los mediadores (lanzadores de electrones) son sustancias con propiedades redox que actúan como intermediarios entre la membrana celular y el ánodo. Pueden ser añadidos externamente o bien ser excretados como resultado del propio metabolismo microbiano. De aquí, los electrones pasan por un circuito eléctrico externo hacia el electrodo positivo, el cátodo, donde son transferidos hacia un aceptor de electrones de alto potencial como puede ser el oxígeno. Una vez reducido el oxígeno, éste se combina con protones procedentes del compartimiento anódico a través de la membrana semipermeable, formando agua.

Los componentes de la celda de combustible microbiana son: ánodos, que son conductores biocompatibles y químicamente estables en

el medio con que se alimenten que podrían ser de acero inoxidable o carbón; cátodo, se usan materiales de platino como catalizador para aumentar la tasa de reducción de oxígeno; membrana de intercambio protónico, material más usado es el Nafion, que separa los compartimentos del ánodo y el cátodo.

La determinación del rendimiento de una pila de combustible microbiana, puede evaluarse por la producción de energía o por la depuración simultánea de las aguas residuales empleadas. Para ello se llevan a cabo medidas periódicas de voltaje y de demanda bioquímica de oxígeno DQO. A partir del voltaje (E_{pila}) se puede determinar la intensidad, la potencia y la eficiencia coulombica de las pilas.

La potencia normalizada para el volumen del reactor se obtiene según la siguiente expresión:

$$Pv = \frac{E^2_{pila}}{VR_{ext}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde: Pv es la potencia volumétrica (W/m^3), y V es el volumen total del reactor.

La eficiencia coulombica, $\mathcal{C}\mathcal{C}$, es la relación entre el número de coulombios realmente transferidos al ánodo desde el sustrato y el número máximo posible de coulombios transferidos si todo el sustrato fuera capaz de producir corriente, es decir:

$$Y_Q = \frac{\text{coulombios totales producidos}}{\text{coulombios totales teóricos producibles}} \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

El total de coulombios obtenidos se determina integrando la corriente frente al tiempo, para poder obtener la eficiencia coulombica de una MFC alimentada en modo por lotes, C_b , evaluada durante un período de tiempo t_b , que se calcula como:

$$Y_Q = \frac{Mm \int_0^t i(t) dt}{F \cdot \Delta DQO \cdot b \cdot V} \times 100 \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde: Mm = masa molecular de oxígeno); $i(t)$ = intensidad de corriente (A = C/s); F = constante de Farafay (96485 C/mol de e-), ΔDQO = variación de DQO en el tiempo transcurrido t_b ($DQO_{\text{inicial}} - DQO_t$); b = moles de electrones producidos por mol de oxígeno ($b=4$) y V = volumen de líquido en el ánodo (0,25 l). La integral del numerador, que equivale a la carga acumulada, se calcula por el método de los trapecios.

2.3 Definición de términos

2.3.1 Ánodo

Electrodo en el cual se produce la reacción de oxidación. El término fue utilizado por primera vez por Faraday. Este cumple dos funciones importantes dentro de la MFC, debe aceptar los electrones cedidos por las bacterias, generados a través de su metabolismo, y transmite al circuito externo. El ánodo debe ser adecuado para el crecimiento bacteriano y, para la colonización de los microorganismos formadores de biopelículas (Martinez y Hernandez, 2004).

2.3.2 Anólito

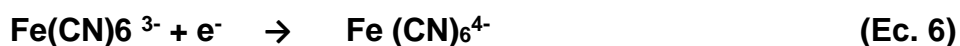
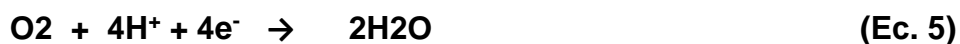
Solución de electrolito que rodea al cátodo. En la mayoría el anólito está compuesto por un porcentaje de un cultivo del microorganismo y un medio de cultivo fresco con o sin algún agregado extra. Y Como mediadores solubles se utilizaron azul de metileno (MB) o rojo neutro (NR) en una concentración 0,1 mM. (Martinez y Hernandez, 2004).

2.3.3 Bacterias anodófilas

Son microorganismos capaces de transferir electrones fuera de la célula. Estas bacterias han sido llamadas exoelectrogénicas , "Exo-" por exocelulares y "electrogénicas", basada en la capacidad de transferir electrones directamente a un producto químico o material que no es el aceptor de electrones inmediato (Chang, et al., 2006; Logan, 2009). Estas bacterias también son conocidas en diferentes literaturas activas electroquímicamente ó anodófilas (Leropoulos, et al., 2005; Lovley, 2006).

2.3.4 Cátodo

Polo negativo de un generador de electricidad o batería. Lugar en la electrolisis donde los cationes en disolución son neutralizados por electrodos que permanecen fuera de la superficie o produce una reacción secundaria con el agua. En la mayoría de las MFC la reacción catódica es abiótica, con reducción del oxígeno o ferricianuro (Logan et al., 2006). Las reacciones de estos compuestos son las siguientes:



2.3.5 Católito

Solución de electrolito que rodea al cátodo. En la mayoría de casos, el Católito que se usa es buffer fosfato 100 mM, pH 7.0, con 4, 5 g/l de NaCl y 8,4 g/l de ferricianuro.(Arriagada, 2006).

2.3.6 Celdas de combustible microbiana (MFC)

Según la configuración o diseño experimental de una MFC, consiste en un compartimiento anódico anaeróbico y biótico, se encuentra separado, por una membrana, de un compartimiento catódico abiótico y aeróbico, en ambos se colocan electrodos, posibilitando la transferencia de electrones entre ambos. Los procesos de oxidación ocurren en el ánodo (ejemplo: oxidación de acetato) y los de reducción en el cátodo (ejemplo: reducción de O₂) (Logan, 2006).

2.3.7 Circuito eléctrico

Situado entre el ánodo y el cátodo consiste en una carga que introduce una resistencia al sistema. Hay que ser muy cuidadoso cuando se realizan las conexiones que formaran parte del circuito eléctrico, estas deben estar bien aisladas del entorno y asegurar una correcta conexión entre los electrodos, ya que de este sistema dependerán las mediciones del sistema (Martinez y Hernandez, 2004).

2.3.8 Fuentes de carbono

En la MFC la fuente de carbono (sustrato) es uno de los factores biológicos más importantes por su influencia en la generación de electricidad. Una gran variedad de sustratos es utilizada en las MFCs, pueden ser compuestos puros o mezclas complejas de materia orgánica presente en aguas residuales, sedimentos, etc. (Pant et al., 2010).

2.3.9 Membrana de intercambio de protones

Material permeable que permita la transferencia de carga través de dos celdas que contienen soluciones. Estas membranas se usan sobre todo en las MFC de dos cámaras como barrera física entre las soluciones que se encuentran en el ánodo y el cátodo, impidiendo que el católito del cátodo se mezcle con la solución de la cámara anódica. Las membranas deben ser permeables a los protones producidos en el ánodo, manteniendo la electroneutralidad del sistema. (Liu y Logan, 2004).

CAPÍTULO III

MARCO FILOSÓFICO

Las necesidades energéticas 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 %. De acuerdo a las estadísticas presentadas por el ministerio de energía y minas, el consumo total de electricidad en el Perú fue de 712 072 TJ.

La producción de energética en el Perú es a través de fuentes de energía hidroeléctrica y termoeléctrica, con lo cual se cubre las necesidades energéticas de los sectores de transporte (40%), residencial (28%), industrial y minero (25%) y agropecuario, agroindustrial, y pesquero (3%).

Sin embargo las energías renovables y biocombustibles en la actualidad tienen un desarrollando prometedor basándose en energía

solar a través de celdas fotovoltaicas (paneles solares domésticos y comunales), energía eólica a través del movimiento de turbinas. La Dirección General de Electrificación Rural (DGER) se dentro de sus funciones de implementación de proyectos para producción de energía eólica.

En cuanto a las celdas de combustible microbiana (MFC) en el Perú, es muy limitado su conocimiento y desarrollo. El término de celdas de combustible microbianas es un bioreactor diseñado para convertir energía, disponible en un sustrato biodegradable o bioconvertible, de forma directa 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. Esta transferencia puede ocurrir vía componentes asociados a la membrana lipídica de las bacterias, o lanzaderas electrónicas insolubles. 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 CO₂, no CH₄. 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.

La historia de las celdas de combustibles se remonta al siglo XIX, siendo más exacto en el año 1838 con el catedrático de la Universidad de Basilea, Christian F. Schoenbein, quien descubrió un electrolito capaz de generar corriente eléctrica a partir de hidrógeno y oxígeno o cloro sin alterar los electrodos de platino. En el siglo XX, en el año 1839 la primera pila de combustible fue inventada por el científico galés William R. Grove que determinó que el “efecto Schoenbein” era el proceso inverso de la electrólisis del agua. En el año 1898 W. Nernst indicó que el sistema de celda combustible, se basaba en una reacción tipo REDOX (oxidación-reducción), por ser más flexible para la utilización de reactivos.

En el año 1932, Francis Thomas Bacon, nuevamente hacía uso, en sus proyectos de investigación, de las celdas de combustible, con ligeros

cambios, que incluían platino por níquel como catalizador y del ácido sulfúrico en vez de potasa, 27 años más tarde conseguía que su pila alcalina produjera; 5 kW. En el año 1950 El profesor Posner de la Universidad de Florida, diseñó un sistema de oxidación - reducción, en base al modelo de Nernst, usando soluciones de bromuro de estaño. Este sistema desarrollado no fue adecuado para los viajes espaciales de esa época por la dificultad del bombeo de las soluciones químicas en estado de gravedad cero.

En el año 1959, El doctor Harry Irigh en Milwaukee, Wisconsin, introdujo el primer tractor impulsado por celdas de combustible tipo alcalino. Ya en los años 1960, el interés por las pilas de combustible se impuso definitivamente en esta década, cuando la NASA promovió su desarrollo para abastecer de electricidad y agua a las naves de los programas espaciales Géminis y Apolo. Una década más tarde la crisis del petróleo haría despegar definitivamente la investigación y el desarrollo de esta nueva tecnología

En el año 1965, El Géminis; fue la primera nave espacial en usar una pila de combustible de membrana polimérica para reemplazar la

batería como fuente de energía, y también fueron desarrolladas en las misiones Apolo, en el primer viaje tripulado a la Luna en 1969.

En el año 1973, la primera crisis del petróleo producido en esta época, condujo al segundo renacimiento de las pilas de combustible, centrándose el interés en grandes plantas basadas en pilas de alta temperatura. El profesor Karl Kordesch de la Universidad de Graz (Austria) fue uno de los pioneros en el campo de las pilas de combustible. Junto con sus colaboradores desarrolló en los años 1970 una motocicleta y un automóvil propulsado por una pila de combustible alcalina.

En el siglo XXI, en la actualidad, las pilas de combustible han experimentado un interés creciente por parte de los gobiernos y de las industrias ya que las emisiones de CO₂ y su influencia en el calentamiento global han forzado a la industria del automóvil a buscar alternativas para reemplazar los motores de combustión interna.

Durante más de dos décadas los países desarrollados han tratado de desarrollar fuentes más limpias de energía eléctrica. Actualmente se está tratando de hacer uso de las celdas de combustible en la generación de potencia tanto a gran escala como a pequeñas aplicaciones, ya que

ellas solo se usan en los dispositivos espaciales como fuente de generación de potencia debido a su alto costo, sin embargo, se podrían adecuar para ser empleadas en aplicaciones comerciales ordinarias.

Las MFCs tienen potenciales ventajas operacionales y funcionales sobre las tecnologías actualmente utilizadas para generar energía a partir de materia orgánica. Primero la conversión directa de la energía del sustrato a electricidad permitiría una alta eficiencia de conversión. Segundo, las MFCs pueden operar a temperatura ambiente, por lo que se reducen costos de termostatos. Tercero, una MFC no requiere el tratamiento de efluentes gaseosos, siendo el único gas de salida el CO₂. Además, no requiere aireación artificial. Y, por último, tienen potencial aplicación en áreas rurales no electrificadas y pueden servir como complemento para satisfacer la demanda en las ciudades grandes.

CAPÍTULO IV

MARCO METODOLÓGICO

4.1 Diseño de la investigación

El diseño para estimar cuanto de electricidad se genera a través de los microorganismos en una Celda de combustible microbiana MFC es de tipo transeccional causal.

4.3 Materiales y equipos

- Consorcio microbiano
- Materiales de uso común en microbiología
- Medio de cultivo
- Solución amortiguadora
- Microscopio compuesto
- Multímetro
- Celdas de combustible microbiano (de una y de dos cámaras)
- Electrodo de grafito
- Cooler para el traslado de muestras
- Incubadora
- Termómetro
- Motor aireador

- Resistencias (10, 20, 50, 200, 500, 1 000, 2 000, 10 000, 40 000 y 100 000 ohmios)

4.2 Procedimiento

4.2.1 Diseño y construcción de las MFC

Se diseñaron dos tipos de celdas una de material de PVC y otra de material de vidrio, donde ambos tipos contienen los electrodos uno catódico y otro anódico, en la primera contiene dos cámaras las cuales se separaron por una membrana de intercambio de protones (MIP) este diseño fue adaptado a partir del modelo de (Saavedra, 2012, pag. 10) y en la segunda celda de una sola cámara fue adaptado de (Logroño y col, 2015, pag. 63).

4.2.1.1 MFC de dos cámaras

- Este tipo de celda estuvo constituido por dos cámaras, de material de PVC, una anódica y la otra catódica, las cuales contuvieron los electrodos anódicos y catódicos respectivamente, separadas por una membrana de intercambio de protones.
- Los electrodos ánodos y cátodos que se utilizaron fueron de materiales conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del

reactor, como es el carbón, disponible como placas de grafito compacto en barras cilíndricas.

- Ambas cámaras, tanto el ánodo como el cátodo se separaron por una membrana de intercambio protónico, Nafion de 0,127 mm de espesor, que estuvo fijo a través de una unión universal en la base de ambas.
- Ambos compartimientos o cámaras se cerraron con una tapa, de material de PVC, los cuales tuvieron aberturas para el paso de alambres conductores, estos conductores, en la parte interna (dentro de los compartimientos y sumergidos en líquidos) estuvieron fijadas a barras de carbón y en la parte externa permitieron el paso de electrones y las mediciones con el multímetro.
- Ambas cámaras tuvieron medios líquidos, el ánodo tuvo 250 ml medio de cultivo propio de la zona de estudio y el cátodo estuvo constituido por 250 ml de agua destilada; a este último, en la base de la cámara, se le insufló aire a través del motor aireador.

4.3.1.2 MFC de una cámara

- Este tipo de celda estuvo constituido por un solo compartimiento de forma cilíndrica y fue de material de vidrio. Y los electrodos tanto anódicos y catódicos estuvieron contenidos en la misma celda y donde

el ánodo estuvo sumergido en el fondo y el cátodo estuvo sumergido a nivel de la superficie del líquido.

- Los electrodos ánodos y cátodos utilizados, fueron de materiales conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del reactor, (carbón, en placas cilíndricas de grafito).
- Este tipo de celda fue de dos gradientes de densidad, el de mayor densidad estuvo en el fondo (constituido por la muestra diluida a investigar) y el de menor densidad estuvo en la superficie de la columna del líquido. Y se colocó el ánodo y el cátodo respectivo.

4.3.2 Muestra y puesta en marcha de las MFC

A. Muestra

- Las muestras de sedimentos de los humedales de las zonas M1 y M2, se recolectaron en frascos de vidrio de boca ancha y estériles, por triplicado, a una profundidad de 80 cm alejados a la vegetación (zona M2) y por triplicado a una superficie de 10 cm en lugares alejados a la arena de playa (M1). según (DIGESA, 2007),
- La toma de muestra fue directa llenando los 2/3 del frasco, se rotularon los envases (fecha y hora, punto de muestreo, pH, etc.). y se conservaron en cajas térmicas “coolers” a temperatura de 4°C.

- El tiempo de traslado de las muestras hacia el laboratorio para la experimentación fue de 2 h, en la cual se homogenizaron las muestras se diluyeron con agua destilada estéril en una proporción de (1:1), para las muestras de ambas zonas, M1 y M2.

B. En la MFC de dos cámaras y materia orgánica

- A la cámara anódica, se le agregó 250 ml de muestra líquida extraído de la zona M2 de estudio, (con nutrientes y consorcio microbiano, pH de 6), esta cámara contiene el electrodo ánodo.<
- A la cámara catódica se le agregó 250 ml de agua destilada (conectado a un motor aireador que incorporó 1 VVM de aire para alimentar de oxígeno, a esta cámara se le colocó el electrodo cátodo.
- Las cámaras se unieron a nivel de la base, pero los líquidos se separaron con la membrana de Nafion, haciendo migrar H⁺.
- La MFC trabajó a 26°C, conectándose los conductores, externamente, de ambas cámaras, generando electricidad.

C. En la MFC de una cámara con materia orgánica

- En el único compartimento se colocaron 500 ml de muestra del líquido extraído de la zona M2 de estudio, que contuvo los nutrientes y el consorcio microbiano a pH 6, este líquido por diferencia de densidad

formó un gradiente zonal, donde en la zona de mayor densidad se ubicó en el fondo del recipiente y la zona de menor densidad se ubicó en la superficie del líquido.

- Los electrodos se colocaron de acuerdo al gradiente de densidad, el ánodo se colocó en la zona de mayor densidad y el cátodo en la zona de menor densidad y se puso en marcha la generación de electricidad, a una temperatura 26 °C.

D. En la MFC de una cámara sin materia orgánica

- Las condiciones de trabajo fueron similares que en el procedimiento anterior 3.3.1.2 excepto que el sedimento extraído fue de la zona M1 de estudio sin nutrientes y sin materia orgánica ya un pH de 3,4.

4.3.3 Medición de electricidad generada en las MFC

- Se midió diariamente el potencial “E” (voltaje) de corriente discontinua “DC” diariamente durante 19 días, utilizando un multímetro digital PRASEK Premium PR-75”. Estas mediciones se hicieron de mayor a menor voltaje, para evitar dañar el equipo de medición,
- En la medición de voltaje, se colocó una punta del cable del multímetro (color negro, negativo, COM) sobre el alambre que provino del ánodo y

la otra punta (color rojo, positivo) sobre el alambre que provino del cátodo. Permitiendo un registro de potencial en milivoltios (mV).

- Para la medición de la polarimetría, se registró datos usando resistencias, colocados a ambos cables, y fueron las siguientes: sin colocar resistencia (0) y con resistencias de 10, 20, 50, 200, 500, 1 000, 2 000, 10 000, 40 000 y 100 000 ohmios, realizándose diariamente.
- Para el cálculo de la intensidad de la corriente, I (Amperios), se utilizó la fórmula de la ley de Ohms ($I=V.R^{-1}$), donde V = voltaje, y R =resistencia. Para cada valor de potencia obtenida en la evaluación y de resistencia utilizada se obtuvo un valor I .
- Para la determinación de la densidad de corriente, j ($A .m^{-2}$), se empleó la fórmula $j=IS^{-1}$; donde S (área en m^2 del electrodo del ánodo) para cada valor de I , calculada con los datos anteriores.
- Se estableció la densidad de potencia, **Pd ($mW.m^{-2}$)**, empleando la fórmula **$Pd =IVS^{-1}$** .para cada valor de intensidad de corriente y de potencia obtenida.
- La curva de polarización se logró graficando la densidad de potencia versus la densidad de corriente para cada día.

4.3.4 Estudio y operacionalización de variables

4.3.4.1 Variable dependiente (Y)

La variable dependiente fue la cantidad de energía eléctrica Potencial de voltaje, generada por el consorcio microbiano en la MFC, (en mV registrada a través del multítester) durante el tiempo que duró el experimento en cada una de las celdas de combustible microbiana (MFC) ya sea de dos cámaras o de una cámara.

4.3.4.2 Variables independientes (X)

Las variables independientes fueron los tres tipos de celdas de combustible microbiana (la primera MFC con dos celdas "CM2C con sustrato orgánico, consorcio microbiano y aireación, la segunda MFC con una celda CM1C con sustrato orgánico, consorcio microbiano y sin aireación y la tercera MFC con una celda CM1Ci sin sustrato inorgánico, sin consorcio microbiano y sin aireación).

Tabla 4

Operacionalización de variables

Variable	Indicador	Unidad/ Categoría	Escala
<u>Independiente</u>	Compartimientos		
Tipos de Celda de combustible microbiana	o cámaras	Número	Nominal
<u>Dependiente</u>	Corriente		
Generación de electricidad	eléctrica	Amperio	Razón

Fuente: Elaboración propia

4.6 Procesamiento y análisis de los datos

Se utilizó el análisis de regresión y análisis de varianza a fin de establecer el grado de intensidad de asociación de las variables de estudio, es decir entre el tipo de celda utilizada y la cantidad de energía generada. El coeficiente de correlación simple (R), permitió señalar la correlación existente entre ambas variables.

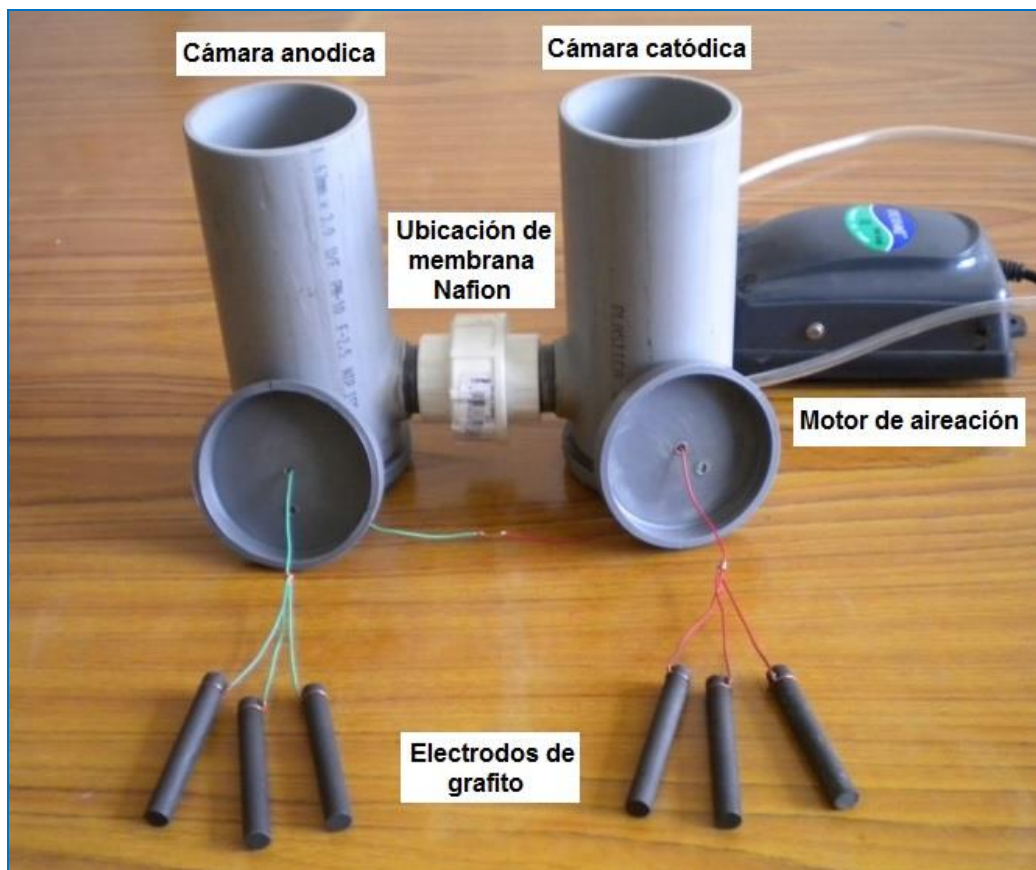


Figura 9. Construcción e implementación de la celda microbiana de dos cámaras.

Fuente: Elaboración propia

5.1.2 MFC de una cámara

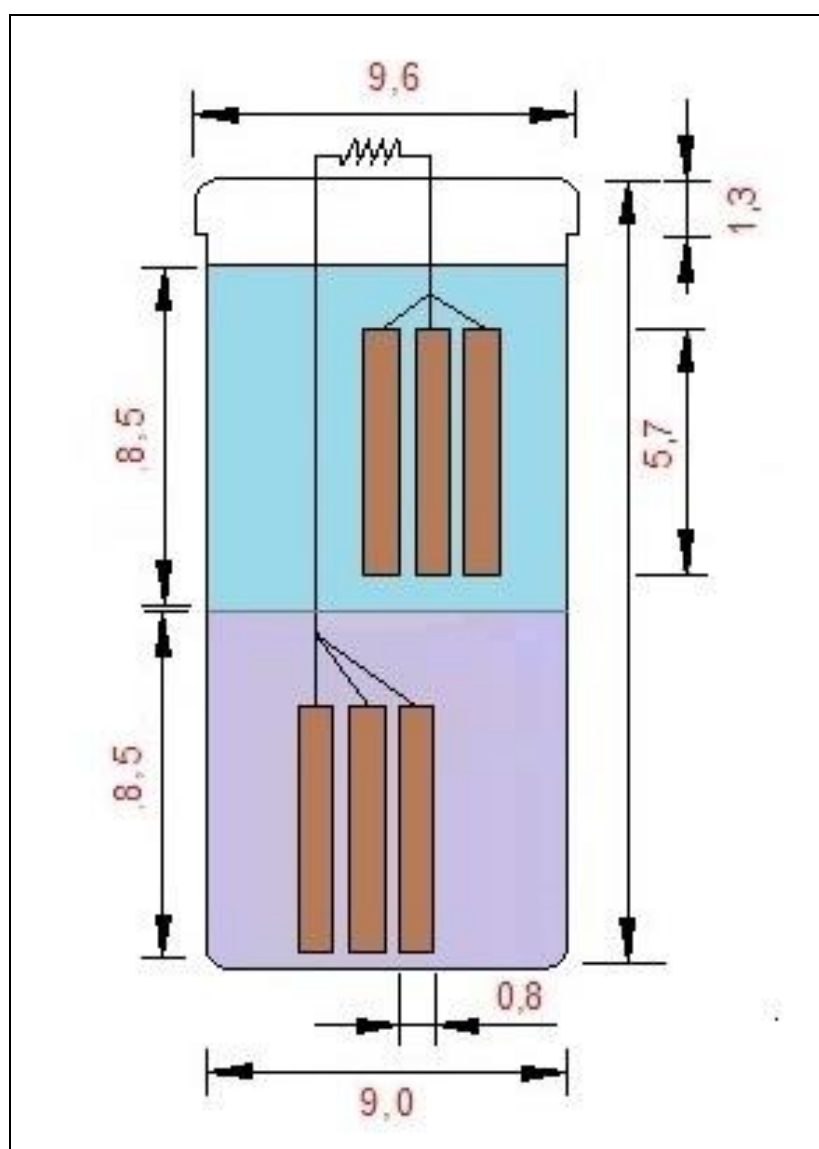


Figura 10. Diseño de la celda microbiana de una cámara.

Fuente: Elaboración propia



Figura 11. Construcción e implementación de la celda microbiana de una cámara.

Fuente: Elaboración propia

5.2 Producción de electricidad generada a través de las MFC

5.2.1 Electricidad generada en las MFC.

Tabla 5

Electricidad generada por las MFC

Tiempo (día)	MMO2 mV	MO mV	MI mV
1	400	15	142
2	535	112	145
3	584	261	164
4	626	332	186
5	638	394	202
6	651	406	184
7	655	392	125
8	667	410	93
9	674	434	84
10	686	441	77
11	656	442	61
12	682	400	60
13	640	426	48
14	603	387	41
15	645	412	38
16	619	363	35
17	602	352	32
18	593	366	35
19	554	340	30

Fuente: Elaboración propia.

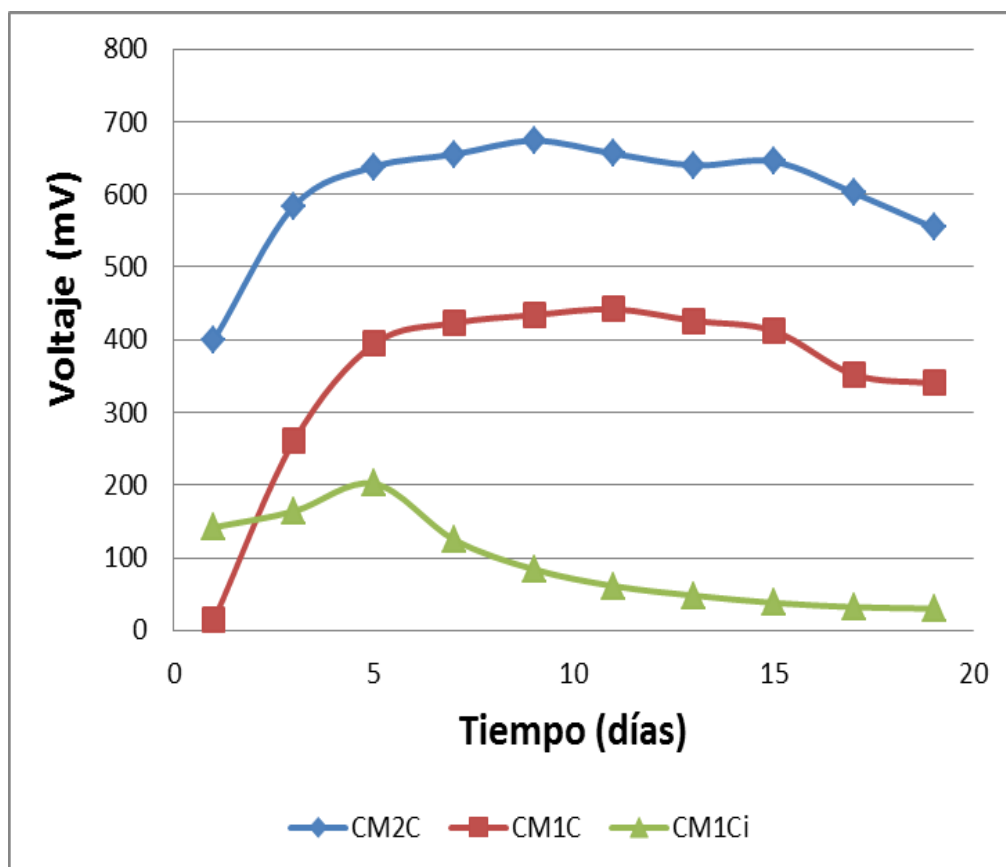


Figura 12. Electricidad obtenida en las MFCs. CM2C: celda microbiana de dos cámaras con aireación, CM1C: celda microbiana de una cámara sin aireación y CM1Ci: celda microbiana de una cámara sin aireación y sin materia orgánica.

Fuente: Elaboración propia

5.2.2 Análisis de regresión de las variables

Tabla 6

Grado de relación y correlación entre las variables tiempo y generación de electricidad y su ecuación.

Tipos de MFC	R	R ²	Ecuación
M2C	0,994	0,988	$Y = -18,071x^2 + 165,13x + 260$
CM1C	0,995	0,990	$Y = -10,571x^2 + 161,23x - 144,6$
CM1Ci	0,991	0,982	$Y = 2,0714x^2 + 3,6714x + 134$

Fuente: Elaboración propia

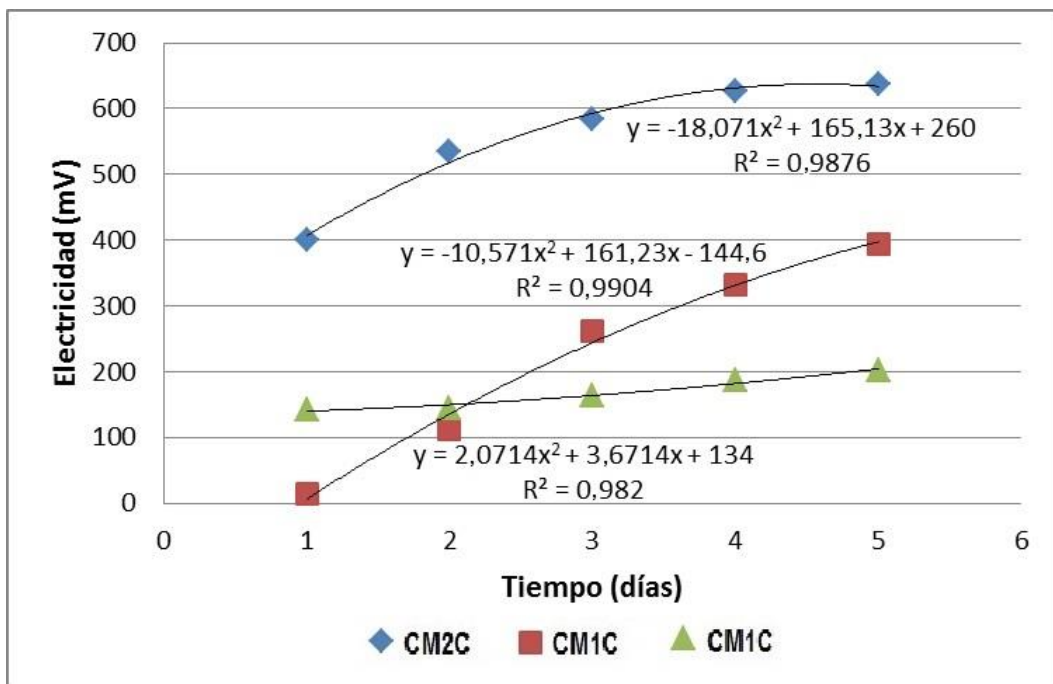


Figura 13. Análisis de regresión de las MFCs en la generación de electricidad.

Fuente: Elaboración propia.

5.3 Caracterización de corriente en función de potencial

Tabla 7

Caracterización de la corriente en la MFC de dos cámaras.

RESISTENCIA	Día 1		Día 5		Día 9	
	J	Pd	J	Pd	J	Pd
	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	1,460	0,9167	1,2357	0,6611	1,3096	0,7426
40000	2,310	0,9239	2,3732	0,9754	2,6562	1,2218
10000	2,150	0,2011	2,0002	0,1732	1,9933	0,1720
2000	2,240	0,0433	2,1284	0,0392	1,9875	0,0342
1000	2,060	0,0184	2,0418	0,0180	1,9748	0,0169
500	2,280	0,0112	2,2820	0,0112	2,2682	0,0111
200	2,270	0,0045	2,3086	0,0046	2,2855	0,0045
50	2,300	0,0011	2,4206	0,0013	2,3328	0,0012
20	2,330	0,0005	2,5984	0,0006	2,3675	0,0005
10	2,400	0,0002	2,8872	0,0004	2,4483	0,0003

Fuente: Elaboración propia.

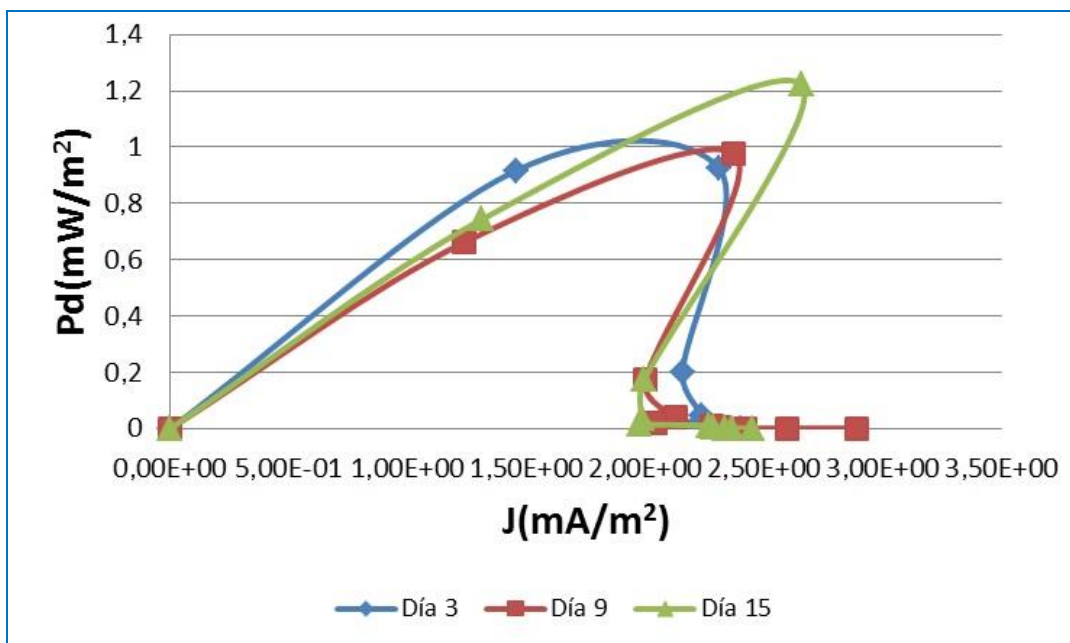


Figura 14. Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de dos cámaras.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8*Caracterización de la corriente en la MFC de una cámara.*

RESISTENCIA	Día 5		Día 11		Día 17	
	J	Pd	J	Pd	J	Pd
	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	0,67675	0,1983	0,76221	0,2515	0,00243	6,16E-04
40000	1,47245	0,3755	1,73229	0,5197	0,00553	12,7E-04
10000	1,20106	0,0625	1,65607	0,1187	0,00441	2,02E-04
2000	0,90772	0,0071	0,95854	0,0080	0,00218	9,87E-06
1000	1,28190	0,0071	1,40200	0,0085	0,00416	1,80E-05
500	1,70920	0,0063	1,84316	0,0074	0,00689	2,47E-05
200	1,99676	0,0035	2,11224	0,0039	0,00745	1,15E-05
50	2,20810	0,0011	2,24967	0,0011	0,00904	4,25E-06
20	2,33282	0,0005	2,33282	0,0005	0,00957	1,91E-06
10	2,74857	0,0003	2,37902	0,0002	0,01001	1,04E-06

Fuente: Elaboración propia.

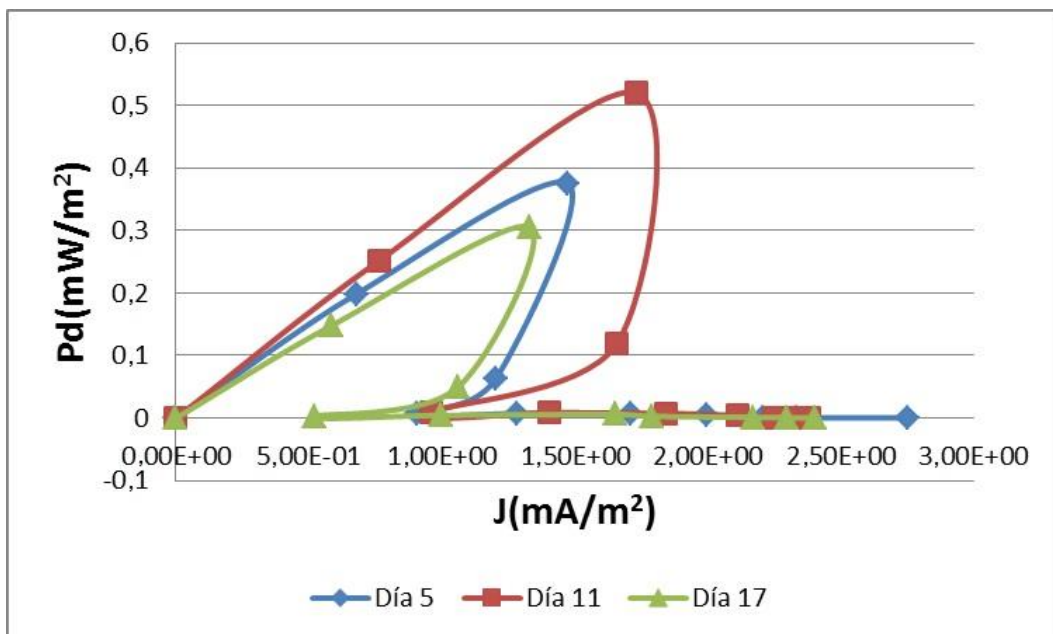


Figura 15. Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9

Caracterización de corriente en la MFC de una cámara sin materia orgánica.

RESISTENCIA	Día 1		Día 5		Día 9	
	J	Pd	J	Pd	J	Pd
	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)	(mA/m ²)	(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	0,27717	0,0333	0,35339	0,0541	0,30026	0,0390
40000	0,54856	0,0521	0,75644	0,0991	0,34646	0,0208
10000	0,91927	0,0366	1,42048	0,0874	1,55676	0,1049
2000	0,40536	0,0014	0,65481	0,0037	0,70793	0,0043
1000	0,66289	0,0019	1,12484	0,0055	1,15024	0,0057
500	1,03938	0,0023	1,61681	0,0057	1,55214	0,0052
200	1,51287	0,0020	1,90321	0,0031	1,88474	0,0031
50	1,91707	0,0008	2,14343	0,0010	2,09261	0,0009
20	2,10185	0,0004	2,21734	0,0004	2,28663	0,0005
10	2,24043	0,0002	2,42521	0,0002	2,37902	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

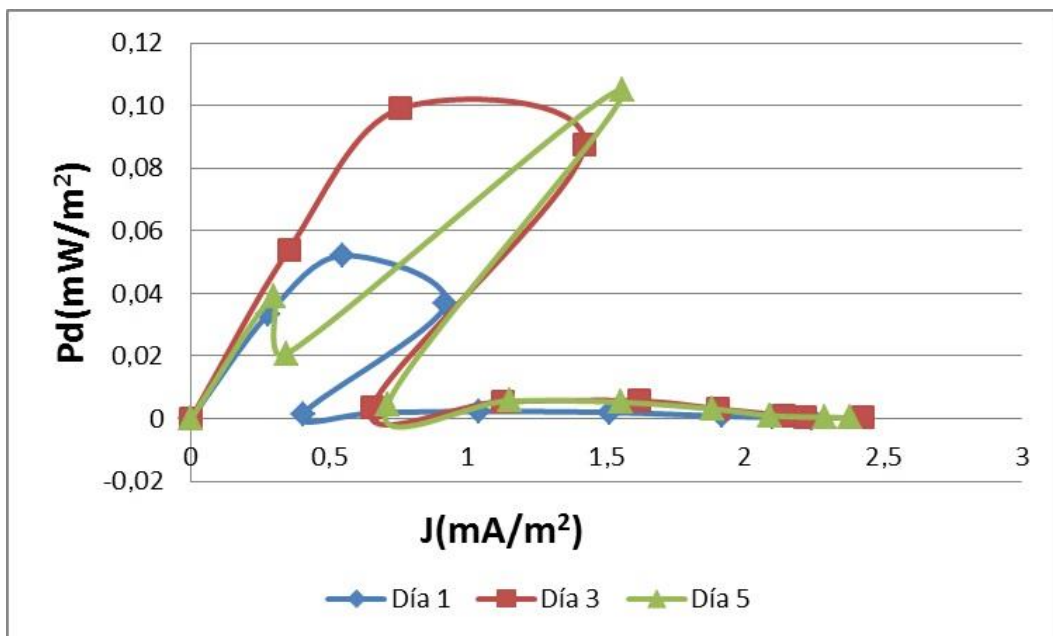


Figura 16. Densidad de corriente vs. tiempo con MFC de una cámara.

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN

El uso de las celdas de combustible microbiana es una tecnología que busca nuevas fuentes de energía, utilizando el metabolismo de los microorganismos, por procesos catalíticos de oxidación – reducción. El diseño y su posterior construcción de las celdas de combustible microbiana se basaron en los principios de electroquímica y su diferencia con una pila o batería es por la alimentación de combustible.

La celda de combustible está compuesta básicamente de un sistema de dos electrodos, el ánodo y el cátodo en las celdas separadas de dos cámaras y a la vez estos dos electrodos en una sola cámara. En el caso de la primera celda de dos cámaras, el combustible (o materia orgánica) es alimentado en forma discontinua o batch a la cámara que contiene el ánodo, el cual es oxidado biocatalíticamente por los microorganismos, mediante el proceso denominado metabolismo, donde finalmente los electrones producidos en esta cámara son transferidos al ánodo. Estos electrones que están en este electrodo, migran hacia la segunda cámara que contiene el cátodo, por la existencia de una

diferencia de potencial. En la cámara catódica se produce una reducción bioquímica con la formación de agua.

Los componentes de estas celdas de generación eléctrica microbiana se han seleccionado basándose en sus propiedades y función que deben desempeñar. El ánodo, debe tener gran área superficial, estabilidad química, biocompatibilidad y buena conductividad. Aquí se produce la reacción de oxidación. El ánodo cumple dos funciones importantes dentro de la celda de combustible microbiana, por un lado, debe aceptar los electrones cedidos por las bacterias, generados a través de su metabolismo, y por otro lado deben transmitirlos al circuito externo. Esto implica que tiene que ser adecuado para el crecimiento bacteriano y, sobre todo para la colonización por parte de los microorganismos formadores de biopelículas (biofilm). En cuanto al cátodo, este debe ser el mismo material que el ánodo, como es el carbono, en la cámara que lo contiene se realiza una reacción abiótica, que consiste en una reducción del oxígeno y como consecuencia la formación de agua.

En la celda de dos cámaras, las cuales están separadas por una membrana que permite la transferencia de carga (protones o H^+). Es una barrera que impide la mezcla de ambas soluciones (entre el combustible o

anolito, que contiene medio de cultivo, de la cámara anódica y el comburente o catolito, que contiene agua destilada, en la cámara catódica). Esta membrana de intercambio de protones, actúa como barrera física, entre las soluciones y es permeable para que solamente los protones producidos en el ánodo puedan migrar hacia el cátodo y de esta manera mantener la electroneutralidad del sistema como lo reportan (Liu y Logan, 2004).

Este tipo de diseño presenta un circuito eléctrico externo situado entre el ánodo y el cátodo consiste en una carga que introduce una resistencia al sistema. Este circuito debe estar bien aislado del entorno y asegurar una correcta conexión entre los electrodos, para tener buenas mediciones del sistema.

En la celda de una cámara o un solo compartimiento, esta hace las veces de zona anódica (en el fondo) y zona catódica (en la superficie). En este tipo de generador no existe una barrera física que permite una separación entre ambas zonas y los protones y electrones no tienen una eficiente migración de la zona anódica a la catódica, disminuyendo la producción de electricidad. En cuanto a los mecanismos de medición de voltaje, son los mismos a las utilizadas en la celda de dos cámaras, por lo

que las lecturas se hicieron externamente con el multímetro en las terminaciones de los cables conductores ubicados en la única tapa del biorreactor.

El proceso de generación de electricidad se realizó durante 29 días, durante los cuales el “voltaje máximo” del circuito externo de la celda de combustible microbiana, expresado en potencial, en este trabajo de investigación fue de 686 mV generada en la celda de dos cámaras con sedimento y aireación; de 442 mV generada en la celda de una cámara con sedimento y sin aireación y de 202 mV generada en la celda de una cámara sin sedimento y sin aireación. Estos resultados fueron mayores a los encontrados por Romero & col, 2012, Sharma & Bulchandani, 2011, y Castillo & Tito, 2012, en la cual obtuvieron valores de 200 a 300 mV, 307 mV y 151 mV respectivamente. Valores cercanos se encontraron en los trabajos de Buitron & y col, 2011 en donde registraron desde 532 mV a 660 mV. Sin embargo, en todos los casos los valores, obtenidos en la generación de bioelectricidad, son relativamente bajos, los cuales pudieron deberse a diferentes aspectos como son las pérdidas óhmicas, por activación y por concentración según trabajos de (Saavedra, 2012), (Logan, 2009).

Según el análisis de regresión, se obtuvo una mayor relación o asociación entre las variables dependientes e independientes, cantidad de electricidad generada y tipo de celda utilizada respectivamente. Según los resultados presentados en el Tabla 6 y figura 13, en la MFC (CM1C) con una cámara, sin aireación y con materia orgánica, se presenta un coeficiente de correlación de r^2 de 0,9904; seguido de la MFC (CM2C) con dos cámaras, con aireación y con materia orgánica con un r^2 de 0,9876 y por último se tuvo a la MFC (CM1C) con una cámara sin aireación y sin materia orgánica con un r^2 de 0,865. Por lo que se puede afirmar que en todos los casos existe un alto grado de correlación entre las variables siendo la MFC (CM1C) la que presentó la más alta asociación entre las variables. Además, las ecuaciones que se señalan, figura 13, representan los mejores modelos para cada proceso de los tres experimentos. Este resultado es apoyado por el análisis de varianza obtenido, que permiten comparar los valores medios que toma la variable dependiente (electricidad generada) en las que los niveles de factores (tipos de MFC) son distintos, con la finalidad de determinar si existen diferencias significativas según dichos niveles o si, por el contrario, la respuesta en cada población es independiente de los niveles de factores. Observándose en este trabajo que en los tres tipos de MFC para generar electricidad el p-valor es menor a 0,05 por lo que se afirma que las

variables están linealmente relacionadas, similares comportamientos fueron encontrados en los trabajos de Romero & col, 2012, Sharma & Bulchandani, 2011, y Castillo & Tito, 2012.

La curva de polarización se utilizó para caracterizar la corriente en función del potencial, en la que se determinó que para este trabajo fue que el día 8 se obtuvo $0,02179 \text{ Pd(mW/m}^2\text{)}$ como la mayor potencia, que en teoría debe alcanzarse alrededor de 1,1. Esta “máxima potencia” pudo verse afectada por diversos factores como son: una serie de pérdidas que ocurren en el sistema bioelectroquímico de la celda de combustible microbiana. Estas pérdidas al igual que en el resultado anterior de voltaje máximo, probablemente se debieron a pérdidas o polarización óhmica que incluye la resistencia al flujo de electrones por parte del electrodo, también a las conexiones que se realizaron y a la distancia que hay entre los electrodos. Otro motivo pudo deberse a la pérdida de energía de activación necesaria para que se de las reacciones de óxido-reducción, que se producen durante la transferencia de electrones desde o hacia los compuestos en los electrodos, este compuesto puede estar en la superficie microbiana del consorcio. Otro de los motivos por el cual se disminuyó la generación de electricidad fue por que el proceso es denominado discontinuo o proceso en “batch”, en la cual se trabajó con

una cantidad fija de sustrato, por lo tanto, las células microbianas consumieron los compuestos orgánicos aumentando su concentración en unidades celulares. Como otra causa de pérdida es por el metabolismo microbiano, que estos microorganismos transportan los electrones desde el sustrato, medio de cultivo o compuestos orgánicos, a través de la cadena del transporte de electrones, hasta el aceptor final de electrones como es el oxígeno u otro compuesto, con potencial de reducción más alto. Cuanto mayor sea la diferencia del potencial redox entre el sustrato y el potencial del ánodo mayor será la ganancia de energía metabólica de las bacterias, pero menor será el potencial máximo en la celda de combustible microbiana como se reporta en los trabajos de (Sacco, 2012) y (Logan y col, 2006).

Al determinarse la curva de polarización relacionando gráficamente la densidad de potencia versus la densidad de corriente, se comprobó que a partir de del día 11 para la MFC de dos cámaras, a partir del día 12 para la MFC de una cámara con materia orgánica y a partir del día 6 para la MFC de una cámara sin materia orgánica respectivamente, estas empiezan a tener pérdidas por disminución de sustrato o transporte de masas.

CONCLUSIONES

1. Se diseñó y construyó dos tipos de celdas de combustible microbiana la primera de dos cámaras cilíndricas tipo "H" unidas por un conducto circular pequeño, y que separan ambos contenidos por una membrana de intercambio de H^+ , y la segunda fue diseñada de una cámara, de forma cilíndrica, en ambos casos de construcción de las cámaras fue de material no conductora de electricidad.
2. Los parámetros de inicio de la generación de electricidad en las celdas microbianas fueron: pH ácido de 6; temperatura de $26^{\circ}C$; aireación de 1VVM (volumen de aire por volumen de medio de la celda por minuto) en la primera celda (CM2C) y materia orgánica en las celdas (CM2C) y (CM1C).
3. En la producción de electricidad, se obtuvo un alto grado de generación de electricidad con un valor máximo de electricidad de 686 mV para la celda de combustible microbiana de dos cámaras (CM2C), de 442 mV para la celda de una cámara con materia orgánica, sin aireación

(CM2C) y de 202 mV para la celda de una cámara sin materia orgánica y sin aireación (CM1C).

4. Se determinó una curva de polarización comprobándose que a partir del día 15, se empieza a tener pérdidas por disminución de sustrato o transporte de masas en las celdas que contienen materia orgánica tanto en la celda microbiana de dos cámaras (CM2C) como en la celda microbiana de una cámara (CM1C).

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda aplicar los sistemas de celdas generadoras de bioelectricidad utilizando consorcios microbianos y a la vez sedimentos presentes en aguas residuales de la EPS Tacna como energía para la iluminación de pequeñas áreas contiguas a las plantas de tratamiento.
2. Se recomienda utilizar diferentes materiales en la construcción de las celdas generadoras de bioelectricidad como ser: electrodos, cámaras de vidrio, PVC u otros materiales para optimizar el rendimiento de energía eléctrica, al ser buenos conductores y aislantes de la electricidad respectivamente, para los investigadores que deseen profundizar en este tipo de trabajos.
3. Se recomienda aplicar estos dispositivos como son las celdas generadoras de bioelectricidad, en biosensores para monitorear la calidad de agua a través de microorganismos bioindicadores para las instituciones encargadas de monitorear la calidad de agua en cuerpos de agua natural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZATE-GAVIRIA, L., FUENTES-ALABARRÁN, C., ÁLVAREZ-GALLEGOS, A. & SEBASTIAN, P. 2008. Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo PEM. *Interciencia*. Vol. 33 N° 7. México.

ARRIAGADA, P. 2006. Diseño, construcción y optimización de una celda de electro obtención de cobre con cátodo particulado móvil basada en electro diálisis reactiva. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. ESPG. Santiago de Chile.

BOND, D., HOLMES, D., TENDER, L., & LOVLEY, D. 2002. Electrode-reducing microorganisms harvesting energy from marine sediments. *Science* 295, 483– 485.

BONMATI, A. Y MAGRÍ, A. 2007. Tecnologías aplicables en el tratamiento de las deyecciones ganaderas: un elemento clave para mejorar su gestión. *Residuos* (2007), pp 46-69.

BUITRÓN, G. & PEREZ, J. 2011. Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos.

BUSALMEN, J., ESTEVE-NEÑEZ, A. & FELIU J. 2008. Whole cell electrochemistry of electricity – producing microorganisms evidence an adapttation for optimal exocellular electron transport. *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 2445–2450. Alicante, Spain.

CABEZAS, A. 2010. Diversity and Function of the Microbial Community on Anodes of Sediment Microbial Fuel Cells fueled by Root Exudates. Doctoral Thesis. Montevideo, Uruguay.

CASTILLO D., & TITO, C. 2012. Bioelectricidad generada en celdas de combustible microbiana a partir de diferentes substratos fermentados. RFN° 7369-2013-FACI-UN/JBG. Tacna, Perú.

DIGESA. 2007. Protocolo de monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos superficiales dirección de ecología y protección

del ambiente área de protección de los recursos hídricos. Lima, Perú.

ESTEVE-NUÑEZ, A. 2008. Bacterias productoras de electricidad. Del sustrato a la pila de combustible. Laboratorio de Ecología Molecular. Madrid, España. Junio 2008.

ESTEVE-NUÑEZ, A., BUSALMEN, J., BERNÁ, A., GUTIERREZ-GARRÁN, C. & FELIU, J. 2011. Opportunities behind the unusual ability of *geobacter sulfurreducens* for exocellular respiration and electricity production. This journal is The Royal Society of Chemistry 2011. *Energy Environ. Sci.*, 2011, 4, 2066–2069.

FALCON, A., LOZANO, J. & JUAREZ, K. 2009. Bioelectricidad. *Biotecnología*, Año 2009, Vol. 13 No. 3. Pag. 62-78.

GARRIDO A. & TEIJÓN, J. 2006. *Fundamentos de Bioquímica estructural*. Segunda edición Editorial TEBAR. Madrid España.

HABERMANN W., & POMMER E-H. 1991. Biological fuel cells with sulphide storage capacity. Applied Microbiology and Biotechnology. 35: 128-133.

HASHIMOTO, K.; WATANABE, K. & ZHAO, Y. 2013. Electrode for microbial fuel cell and microbial fuel cell using the same. Japan Science and technology Agency. Japan.

HERNANDEZ, F., PEREZ DE LOS RIOS, A., LARROSA, A., SANCHEZ, S., LOZANO, L. & GODINEZ C. 2011. Montaje y estudio de una pila de combustible microbiana para la producción de electricidad con depuración simultánea de aguas residuales. Jornadas sobre la enseñanza de las ciencias y las ingenierías. Pag. 8. 2011.

IBÁRCENA, L. 2011. Estudio de la contaminación por metales ecotóxicos en sedimentos en la Bahía de Ite, Tacna. Ciencia y Desarrollo. Volumen 13, 2011, Tacna, Perú.

JUAREZ, K. KIM, C. NEVIN, K. OLVERA, L. REGUERA, G. LOVLEY, D. R. & METHE, B. A. 2009. PilR, a Transcriptional Regulator for

Pilin and Other Genes Required for Fe(III) Reduction in *Geobacter sulfurreducens* *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 16, 146-158.

LA REPÚBLICA. 2015. Publicidad Minera Southern no dice toda la verdad sobre los humedales de Ite. Recuperado el 21 de 04 de 2017. Diario La República versión digital: <http://larepublica.pe/en-portada/884236-publicidad-de-minera-southern-no-dice-toda-la-verdad-sobre-los-humedales-de-ite>

LEROPOULOS, I., GREENMAN, J., MELHUIISH, C., & HART, J., 2005. Energy accumulation and improved performance in microbial fuel cells. *J. Power Sources*. 145, 253-256.

LIU, H.; & LOGAN, B. E. 2004. Electricity Generation Using an Air Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in the Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4040–4046. Canada.

LOGAN, B. 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 375–381.

LOGAN, B., CHENG, S., WATSON, V. & ESTADT, G., 2007. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3341–3346. United States of America.

LOGAN, B., HAMELERS, B., ROZENDAL, R., SCHRODER, U., KELLER, J., FREGUIA, S., AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W. & RABAEY, K., 2006. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5181–5192. United States of America.

LOGROÑO, W., ECHEVARRÍA, M., RECALDE, C. & GRAZIANI, P. 2015. Bioconversión de suelos de la región Amazónica y Alto Andina del Ecuador en celdas de combustible microbiano de cámara simple. *Información tecnológica*. Vol. 26(2), 61-68. Ecuador.

LOVLEY, D. 2006. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nature Reviews Microbiology* 4: 497-508.

LOVLEY, D. 2008. The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current Opinion in Biotech.* 2008, 19:1–8. COBIOT-578.

MADIGAN, M., MARTINKO & PARKER. 2004. *Biología de los Microorganismos*. Editorial Pearson Prentice Hall. Madrid, España.

MARTINEZ, Y. & HERNANDEZ, R. 2004. *Electroquímica energía y Ambiente*. VII escuela venezolana para la Enseñanza de la Química. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.

PANT, D, VAN BOGAERT G, DIELS L & VANBROEKHOVEN K 2010. A review of the substrates used in microbial fuel cells for sustainable energy production. Edit. ELSEVIER. *Bioresource Technology*. Belgium.

PIRBADIAN; S., BARCHINGER, S., LEUNG, K; BYUN H.; JANGIR, Y.; BOUHENNI, R.; REED, S.; MARGARET F. ROMINE, M.; SAFFARINI, D.; LIANG SHI L.; YURI A. GORBY, Y. GOLBECK, J. & EL-NAGGAR, M. 2014. *Shewanella oneidensis* MR-1

nanowires are outer membrane and periplasmic extensions of the extracellular electron transport components. Proceedings of the National California Institute of Technology. vol. 111 no. 35. Academy of Sciences of the United States of America.

RABAEY K & VERSTRAETE W. 2005. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology* 23: 291-298.

RINGEISEN, B., RAY R, & LITTLE B. 2007. A miniature microbial fuel cell operating with an aerobic anode chamber. *J Power Sources* 165(2):591–597.

ROMERO, A., VASQUEZ, J. & LUGO. A. 2012. Bacterias, fuente de energía del futuro. *Tecnura*. Vol. 16. N° 32. Pp. 118-143. Bogotá, Colombia.

SAAVEDRA, I. 2012. Diseño de una celda de combustible microbiológica con uso de bacterias oxidantes de azufre y hierro. Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Universidad de Chile.

SACCO, N. 2012. Estudios electroquímicos y microbiológicos de celdas de combustible microbianas. Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

SHARMA, S. AND BULCHANDANI B. D. 2011. Comparative Study of Various Substrates and Microorganisms in a Laboratory Designed Microbial Fuel Cell. Res. Chem. Environ. Vol.2 Issue 3 July 2012(168-174). India.

TORTORA, G. FUNKE, B. Y CASE, C. 2007. Introducción a la Microbiología. Novena edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina.

VOET, D., VOET, J. Y PRATT, C. 2007. Fundamentos de bioquímica, la vida a nivel molecular. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.

WRIGHTON, K. & COATES, J. 2009. Microbial Fuel Cells: Plug-in and Power-on Microbiology. *Microbe* / Volume 4, Number 6, 2009. Pag. 281-287.

ZEGARRA, R. 1999. La Vegetación Pantanosa de Ite. *Revista Ciencia y Desarrollo*. UNJBG (1):12:15. Tacna, Perú.

ANEXOS

ANÁLISIS DE VARIANZA (SPSS)

(a. Variable dependiente: Electricidad (mV); b. Predictores: (Constante), Tiempo (días))

Tabla 10

ANOVA^a para MFC de dos cámaras con materia orgánica.

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
1	Regresión	32 148,900	1	32 148,900	19,158	0,022 ^b
	Residuo	5 034,300	3	1 678,100		
	Total	37 183,200	4			

Fuente: elaboración propia con SPSS

Tabla 11

ANOVA^a para MFC de una cámara con materia orgánica sin aireación.

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
1	Regresión	60 500,000	1	60 500,000	119,329	0,008 ^b
	Residuo	1 014,000	2	507,000		
	Total	61 514,000	3			

Fuente: elaboración propia con SPSS

Tabla 12

ANOVA^a para MFC de una cámara sin materia orgánica y sin aireación.

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
1	Regresión	2 592,100	1	2 592,100	71,539	0,003 ^b
	Residuo	108,700	3	36,233		
	Total	2 700,800	4			

Fuente: elaboración propia con SPSS

Tabla 13*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de dos cámaras en el día 1.*

RESISTENCIA	1	E(V)	I(A)	J(mA/m²)	P(W)	P(W/m²)	Pd(mW/m²)
C.A	462,00	0,0046					
100000	63000,0	0,6300	6,30E-06	1,46	3,97E-06	9,17E-04	0,9167
40000	40000,0	0,4000	1,00E-05	2,31	4,00E-06	9,24E-04	0,9239
10000	9330,0	0,0933	9,33E-06	2,15	8,71E-07	2,01E-04	0,2011
2000	1936,0	0,0194	9,68E-06	2,24	1,87E-07	4,33E-05	0,0433
1000	893,0	0,0089	8,93E-06	2,06	7,97E-08	1,84E-05	0,0184
500	493,0	0,0049	9,86E-06	2,28	4,86E-08	1,12E-05	0,0112
200	196,8	0,0020	9,84E-06	2,27	1,94E-08	4,47E-06	0,0045
50	49,8	0,0005	9,96E-06	2,30	4,96E-09	1,15E-06	0,0011
20	20,2	0,0002	1,01E-05	2,33	2,04E-09	4,71E-07	0,0005
10	10,4	0,0001	1,04E-05	2,40	1,08E-09	2,50E-07	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de dos cámaras en el día 5.*

RESISTENCIA	5	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C.A	488,0	0,0049	-	-	-	-	-
100000	53500,0	0,5350	5,35E-06	1,2357	2,86E-06	6,61E-04	0,6611
40000	41100,0	0,4110	10,28E-06	2,3732	4,22E-06	9,75E-04	0,9754
10000	8660,0	0,0866	8,66E-06	2,0002	7,50E-07	1,73E-04	0,1732
2000	1843,0	0,0184	9,22E-06	2,1284	1,70E-07	3,92E-05	0,0392
1000	884,0	0,0088	8,84E-06	2,0418	7,81E-08	1,81E-05	0,0180
500	494,0	0,0049	9,88E-06	2,2820	4,88E-08	1,13E-05	0,0112
200	199,9	0,0020	9,99E-06	2,3086	1,99E-08	4,62E-06	0,0046
50	52,4	0,0005	10,48E-06	2,4206	5,49E-09	1,27E-06	0,0013
20	22,5	0,0002	11,25E-06	2,5984	2,53E-09	5,85E-07	0,0006
10	12,5	0,0001	12,50E-06	2,8872	1,56E-09	3,61E-07	0,0004

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 15*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de dos cámaras en el día 9.*

RESISTENCIA	9	E(V)	I(A)	J(mA/m²)	P(W)	P(W/m²)	Pd(mW/m²)
C.A	391,0	0,0039	-	-	-	-	-
100000	56700,0	0,5670	5,67E-06	1,3096	3,21E-06	0,74E-03	0,7426
40000	46000,0	0,4600	1,15E-05	2,6562	5,29E-06	1,22E-03	1,2218
10000	8630,0	0,0863	8,63E-06	1,9933	7,45E-07	2,72E-04	0,1720
2000	1721,0	0,0172	8,61E-06	1,9875	1,48E-07	3,42E-05	0,0342
1000	855,0	0,0086	8,55E-06	1,9748	7,31E-08	1,69E-05	0,0169
500	491,0	0,0049	9,82E-06	2,2682	4,82E-08	1,11E-05	0,0111
200	197,9	0,0020	9,89E-06	2,2855	1,96E-08	4,52E-06	0,0045
50	50,5	0,0005	1,01E-05	2,3328	5,10E-09	1,18E-06	0,0012
20	20,5	0,0002	1,03E-05	2,3675	2,10E-09	4,85E-07	0,0005
10	10,6	0,0001	1,06E-05	2,4483	1,12E-09	2,60E-07	0,0003

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 16*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de dos cámaras durante los días 1, 5 y 9.*

RESISTENCIA	Día 1		Día 5		Día 9	
	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	1,460	0,9167	1,2357	0,6611	1,3096	0,7426
40000	2,310	0,9239	2,3732	0,9754	2,6562	1,2218
10000	2,150	0,2011	2,0002	0,1732	1,9933	0,1720
2000	2,240	0,0433	2,1284	0,0392	1,9875	0,0342
1000	2,060	0,0184	2,0418	0,0180	1,9748	0,0169
500	2,280	0,0112	2,2820	0,0112	2,2682	0,0111
200	2,270	0,0045	2,3086	0,0046	2,2855	0,0045
50	2,300	0,0011	2,4206	0,0013	2,3328	0,0012
20	2,330	0,0005	2,5984	0,0006	2,3675	0,0005
10	2,400	0,0002	2,8872	0,0004	2,4483	0,0003

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 17

Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara con materia orgánica en el día 5.

RESISTENCIA	5	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	394,0	0,0039	-	-	-	-	-
100000	29300,0	0,2930	2,93E-06	0,67675	8,58E-07	1,98E-04	0,1983
40000	25500,0	0,2550	6,38E-06	1,47245	1,63E-06	3,76E-04	0,3755
10000	5200,0	0,0520	5,20E-06	1,20106	2,70E-07	6,25E-05	0,0625
2000	786,0	0,0079	3,93E-06	0,90772	3,09E-08	7,14E-06	0,0071
1000	555,0	0,0056	5,55E-06	1,28190	3,08E-08	7,12E-06	0,0071
500	370,0	0,0037	7,40E-06	1,70920	2,7E-08	6,32E-06	0,0063
200	172,9	0,0017	8,65E-06	1,99676	1,49E-08	3,45E-06	0,0035
50	47,8	0,0005	9,56E-06	2,20810	4,57E-09	1,06E-06	0,0011
20	20,2	0,0002	10,1E-06	2,33282	2,04E-09	4,71E-07	0,0005
10	11,9	0,0001	11,9E-06	2,74857	1,42E-09	3,27E-07	0,0003

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 18*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara con materia orgánica en el día 11.*

RESISTENCIA	11	E(V)	I(A)	J(mA/m²)	P(W)	P(W/m²)	Pd(mW/m²)
C,A	442,0	0,00442	-	-	-	-	-
100000	33000,0	0,33	3,30E-06	0,76221	1,09E-06	2,52E-04	0,2515
40000	30000,0	0,3	7,50E-06	1,73229	2,25E-06	5,20E-04	0,5197
10000	7170,0	0,0717	7,17E-06	1,65607	5,14E-07	1,19E-04	0,1187
2000	830,0	0,0083	4,15E-06	0,95854	3,44E-08	7,96E-06	0,0080
1000	607,0	0,00607	6,07E-06	1,40200	3,68E-08	8,51E-06	0,0085
500	399,0	0,00399	7,98E-06	1,84316	3,18E-08	7,35E-06	0,0074
200	182,9	0,00183	9,15E-06	2,11224	1,67E-08	3,86E-06	0,0039
50	48,7	0,00049	9,74E-06	2,24967	4,74E-09	1,10E-06	0,0011
20	20,2	0,00020	10,1E-06	2,33282	2,04E-09	4,71E-07	0,0005
10	10,3	0,00010	10,3E-06	2,37902	1,06E-09	2,45E-07	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 19*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara con materia orgánica en el día 17.*

RESISTENCIA	17	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	352,0	0,00352	-	-	-	-	-
100000	25300,0	0,253	2,53E-06	0,00243	6,40E-07	6,16E-07	6,16E-04
40000	23000,0	0,23	5,75E-06	0,00553	1,32E-06	1,27E-06	12,7E-04
10000	4580,0	0,0458	4,58E-06	0,00441	2,10E-07	2,02E-07	2,02E-04
2000	453,0	0,00453	2,27E-06	0,00218	1,03E-08	9,87E-09	9,87E-06
1000	432,0	0,00432	4,32E-06	0,00416	1,87E-08	1,80E-08	1,80E-05
500	358,0	0,00358	7,16E-06	0,00689	2,56E-08	2,47E-08	2,47E-05
200	154,8	0,00155	7,74E-06	0,00745	1,20E-08	1,15E-08	1,15E-05
50	47,0	0,00047	9,40E-06	0,00904	4,42E-09	4,25E-09	4,25E-06
20	19,9	0,00020	9,95E-06	0,00957	1,98E-09	1,91E-09	1,91E-06
10	10,4	0,00010	10,4E-06	0,01001	1,08E-09	1,04E-09	1,04E-06

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 20*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara con materia orgánica, días 5, 11 y 17.*

RESISTENCIA	Día 5		Día 11		Día 17	
	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	0,67675	0,1983	0,76221	0,2515	0,00243	6,16E-04
40000	1,47245	0,3755	1,73229	0,5197	0,00553	12,7E-04
10000	1,20106	0,0625	1,65607	0,1187	0,00441	2,02E-04
2000	0,90772	0,0071	0,95854	0,0080	0,00218	9,87E-06
1000	1,28190	0,0071	1,40200	0,0085	0,00416	1,80E-05
500	1,70920	0,0063	1,84316	0,0074	0,00689	2,47E-05
200	1,99676	0,0035	2,11224	0,0039	0,00745	1,15E-05
50	2,20810	0,0011	2,24967	0,0011	0,00904	4,25E-06
20	2,33282	0,0005	2,33282	0,0005	0,00957	1,91E-06
10	2,74857	0,0003	2,37902	0,0002	0,01001	1,04E-06

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 21*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica, día 1.*

RESISTENCIA	1	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	142,0	0,00142	-	-	-	-	-
100000	12000,0	0,12	1,20E-06	0,27717	1,44E-07	3,33E-05	0,0333
40000	9500,0	0,095	2,38E-06	0,54856	2,26E-07	5,21E-05	0,0521
10000	3980,0	0,0398	3,98E-06	0,91927	1,58E-07	3,66E-05	0,0366
2000	351,0	0,00351	1,76E-06	0,40536	6,16E-09	1,42E-06	0,0014
1000	287,0	0,00287	2,87E-06	0,66289	8,24E-09	1,90E-06	0,0019
500	225,0	0,00225	4,50E-06	1,03938	1,01E-08	2,34E-06	0,0023
200	131,0	0,00131	6,55E-06	1,51287	8,58E-09	1,98E-06	0,0020
50	41,5	0,00042	8,30E-06	1,91707	3,44E-09	7,96E-07	0,0008
20	18,2	0,00018	9,10E-06	2,10185	1,66E-09	3,83E-07	0,0004
10	9,7	0,00010	9,70E-06	2,24043	9,41E-10	2,17E-07	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 22*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica en el día 5.*

RESISTENCIA	5	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	202,0	0,00202	-	-	-	-	-
100000	15300,0	0,153	1,53E-06	0,35339	2,34E-07	5,41E-05	0,0541
40000	13100,0	0,131	3,28E-06	0,75644	4,29E-07	9,91E-05	0,0991
10000	6150,0	0,0615	6,15E-06	1,42048	3,78E-07	8,74E-05	0,0874
2000	567,0	0,00567	2,84E-06	0,65481	1,61E-08	3,71E-06	0,0037
1000	487,0	0,00487	4,87E-06	1,12484	2,37E-08	5,48E-06	0,0055
500	350,0	0,0035	7,00E-06	1,61681	2,45E-08	5,66E-06	0,0057
200	164,8	0,00165	8,24E-06	1,90321	1,36E-08	3,14E-06	0,0031
50	46,4	0,00046	9,28E-06	2,14343	4,31E-09	9,95E-07	0,0010
20	19,2	0,00019	9,60E-06	2,21734	1,84E-09	4,26E-07	0,0004
10	10,5	0,00011	10,5E-06	2,42521	1,10E-09	2,55E-07	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 23*Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica en el día 9.*

RESISTENCIA	9	E(V)	I(A)	J(mA/m ²)	P(W)	P(W/m ²)	Pd(mW/m ²)
C.A	84,00	0,00084	-	-	-	-	-
100000	13000,0	0,1300	1,30E-06	0,30026	1,69E-07	3,90E-05	0,0390
40000	6000,0	0,0600	1,50E-06	0,34646	0,90E-07	2,08E-05	0,0208
10000	6740,0	0,0674	6,74E-06	1,55676	4,54E-07	1,04E-05	0,1049
2000	613,0	0,0061	3,07E-06	0,70793	1,88E-08	4,34E-06	0,0043
1000	498,0	0,0050	4,98E-06	1,15024	2,48E-08	5,73E-06	0,0057
500	336,0	0,0034	6,72E-06	1,55214	2,26E-08	5,22E-06	0,0052
200	163,2	0,0016	8,16E-06	1,88474	1,33E-08	3,08E-06	0,0031
50	45,3	0,0005	9,06E-06	2,09261	4,10E-09	9,48E-07	0,0009
20	19,8	0,0002	9,90E-06	2,28663	1,96E-09	4,53E-07	0,0005
10	10,3	0,0001	10,3E-06	2,37902	1,06E-09	2,45E-07	0,0002

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 24

Densidad de corriente vs. tiempo en MFC de una cámara sin materia orgánica, días 1, 5 y 9.

RESISTENCIA	Día 1		Día 5		Día 9	
	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)	J(mA/m ²)	Pd(mW/m ²)
C,A	-	-	-	-	-	-
100000	0,27717	0,0333	0,35339	0,0541	0,30026	0,0390
40000	0,54856	0,0521	0,75644	0,0991	0,34646	0,0208
10000	0,91927	0,0366	1,42048	0,0874	1,55676	0,1049
2000	0,40536	0,0014	0,65481	0,0037	0,70793	0,0043
1000	0,66289	0,0019	1,12484	0,0055	1,15024	0,0057
500	1,03938	0,0023	1,61681	0,0057	1,55214	0,0052
200	1,51287	0,0020	1,90321	0,0031	1,88474	0,0031
50	1,91707	0,0008	2,14343	0,0010	2,09261	0,0009
20	2,10185	0,0004	2,21734	0,0004	2,28663	0,0005
10	2,24043	0,0002	2,42521	0,0002	2,37902	0,0002

Fuente: Elaboración propia.



Figura 17. Vista panorámica de los humedales de Ite.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 18. Zonas de estudio en los humedales de Ite.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 19. Recolección de muestras de sedimentos M1 (derecha, pH 3,48) y M2 (izquierda, pH 6) en Los Humedales de Ite.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 20. pH-metro que permitió las mediciones de las muestras.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 21. Construcción de la MFC de dos cámaras tipo "H".

Fuente: Elaboración propia.

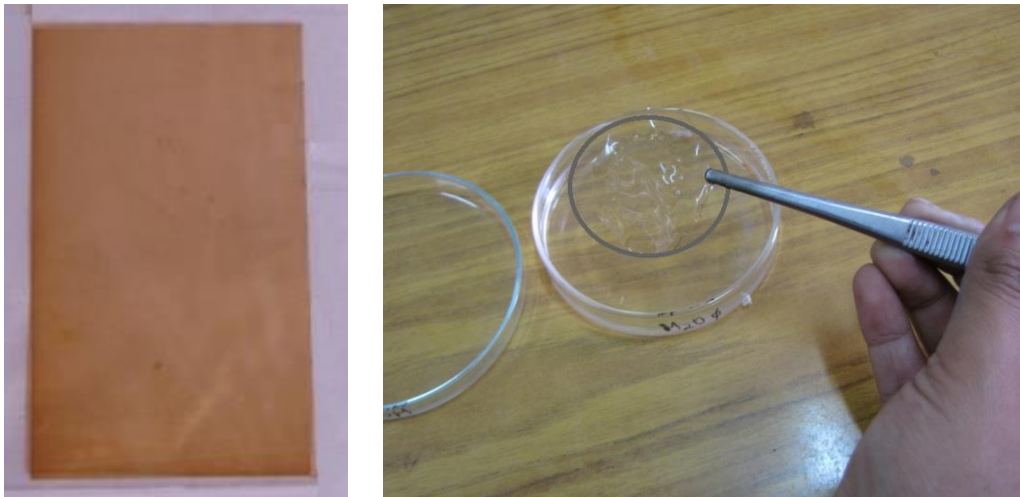


Figura 22. Membrana de Nafion, antes (der) y despues (izq) de su tratamiento.

Fuente: Elaboración propia.

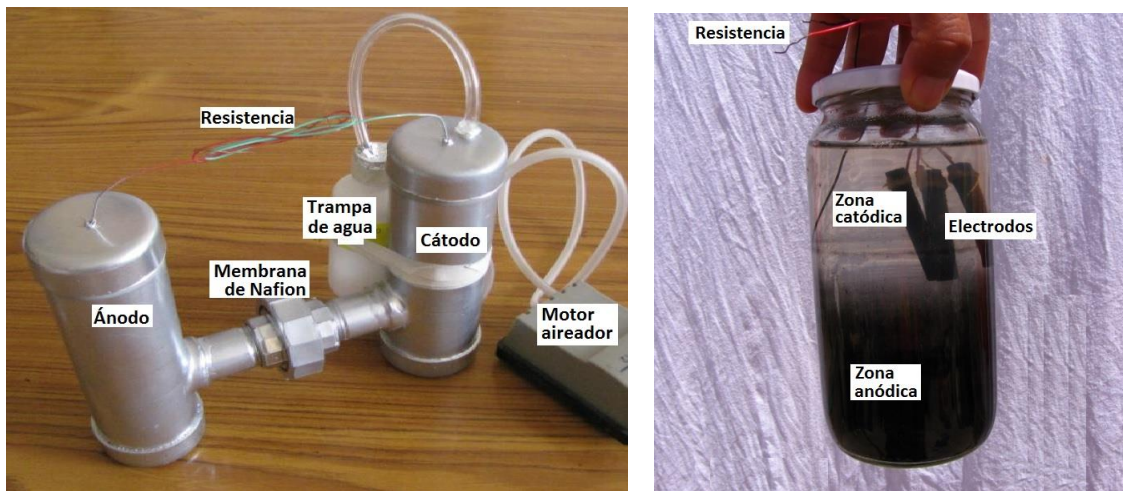


Figura 23. Diseño terminado de la MFC de dos cámaras (derecha) y de una cámara (izquierda).

Fuente: Elaboración propia.

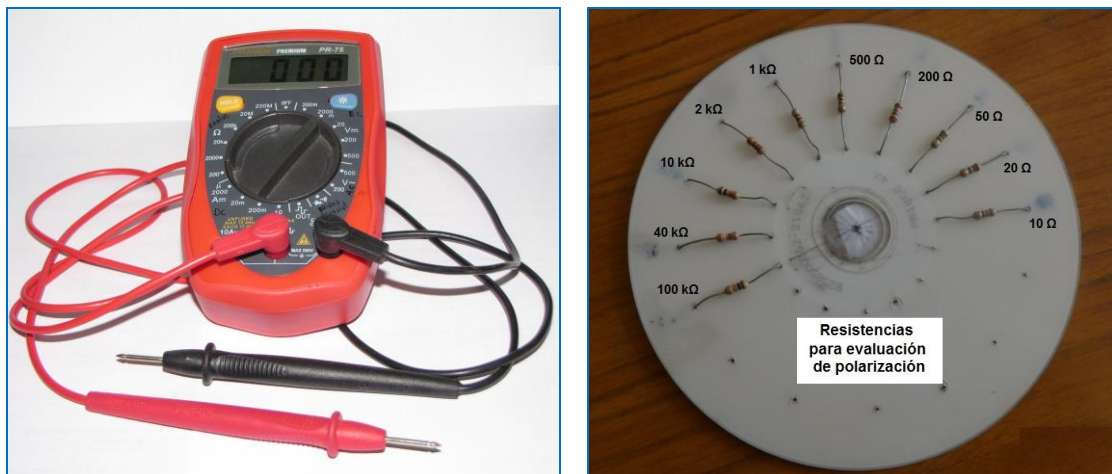


Figura 24. Multímetro digital PRASEK Premium PR-75” (derecha) y resistencias colocados en un CD, utilizados para las mediciones de voltaje en (mV) y de polarimetría respectivamente.

Fuente: Elaboración propia.