



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Energía Renovable

“MODELACIÓN MATEMÁTICA DE LOS PROCESOS
CINÉTICOS PRESENTES EN LA CÁMARA ANÓDICA
DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA
TIPO PEM”

Tesis que presenta

ISAÍAS BEIMAR PERAZA BAEZA

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

Mérida, Yucatán Enero de 2012

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de materiales y métodos experimentales, los resultados y discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó, para desarrollar mi trabajo de tesis, en la Unidad de Energía Renovable, laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C., bajo la dirección de la Dra. Liliana Alzate Gaviria y la codirección del Dr. Antonino Pérez Hernández del Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), S.C., y que dicha información le pertenece en términos de la Ley de la Propiedad Industrial, por lo que no me reservo ningún derecho sobre ello.

Mérida, Yucatán 31 de Enero del 2012

Ing. Isaías Beimar Peraza Baeza

La presente tesis se realizó en los laboratorios de la Unidad de Energía Renovable, del Centro de Investigación de Yucatán, A.C., bajo la dirección de la Dra. Liliana Alzate Gaviria y codirección del Dr. Antonino Pérez Hernández del Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C., departamento de Simulación Computacional y Modelado Molecular.

Dr. Oscar A. Moreno Valenzuela
Director Académico
Centro de Investigación Científica de Yucatán,

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca No. 224387 otorgada durante la realización de este proyecto.

Agradezco al CICY, por brindarme todo el apoyo durante mi estancia.

Agradezco profundamente a mi Directora de tesis, la Dra. Liliana Alzate Gaviria, por sus conocimientos invaluable que me brindó para llevar a cabo esta investigación y sobre todo su gran paciencia para completar este trabajo.

A mi codirector de tesis, el Dr. Antonino Pérez Hernández, por su invaluable apoyo y cálido recibimiento durante mi estancia en (CIMAV).

A los miembros del Comité tutorial, la Dra. Liliana Alzate Gaviria, el Dr. Felipe Barahona Pérez, el Dr. Gerko Oskam y el Dr. Antonino Pérez Hernández.

Agradezco a mis revisores de tesis: el Dr. Erick Ávila y el Dr. Juan Carlos Echavarría.

A mis compañeros de generación, por todos los buenos momentos que viví con ellos.

A la M.C. y colega Diana Sánchez Herrera, por su amistad y compartir su trabajo experimental conmigo, que fue vital para realización de este trabajo.

Al M.C. Jorge Domínguez Maldonado por todas sus enseñanzas y sugerencias.

Al licenciado en matemáticas Luis Blanco Cocom, quien sin ayuda y apoyo habría sido imposible la realización de este trabajo.

A la socióloga Melisa Domínguez por su contribución para la redacción de este trabajo.

A mis padres y mi familia quienes me han heredado el tesoro más valioso, amor.

Agradezco, a mi novia Haley Honeman por su amor, apoyo incondicional, comprensión y todos los momentos de alegría que seguimos compartiendo juntos.

Atte. Ing. Isaías Beimar Peraza Baeza

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres por enseñarme a ser la persona que soy y a quienes les admiro su fortaleza de carácter a pesar de todos los problemas a los que se han enfrentado en su vida, siempre saliendo triunfadores

INDICE

RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
Introducción	1
Objetivo general	2
Objetivos Específicos	2
Hipótesis	3
CAPITULO 1: Antecedentes	4
Celdas de Combustible Microbianas: Características y Modelación Matemática	4
1.1 Celdas de Combustible Microbianas	5
1.1.1 Funcionamiento	5
1.1.2 Exoelectrógenos como catalizadores en CCM	5
1.1.3 Generación de voltaje	6
1.1.3.1 Fuerza electromotriz	7
1.1.3.2 Voltaje total de la CCM	8
1.1.3.3 Reacciones anódicas y catódicas	9
1.1.4 Eficiencia Coulómbica	10
1.2 Pérdidas energéticas en los Sistemas Bioelectroquímicos	11
1.2.1 Pérdidas de potencial intracelulares ($E_{\text{donador}}-E_{\text{PM}}$)	12
1.2.1.1 Tasa de utilización de sustrato	13
1.2.1.2 Tasa de generación de electrones por exoelectrógenos	14
1.2.2 Pérdidas de potencial extracelulares ($E_{\text{PM}}-E_{\text{ánodo}}$)	15
1.2.2.1 Mecanismo de transferencia por contacto directo	16
1.2.2.2 Mecanismo de transferencia por mediadores redox solubles	18
1.2.2.3 Mecanismo de transferencia por matriz de conducción	19
1.2.3 Comparación de los mecanismos de transferencia en CCM	22
1.2.4 Gradiente de sustrato en la biopelícula	23
1.3 Modelación matemática	23
1.3.1 Modelos de biopelículas	24

1.3.1.1 Modelo de biopelícula monodimensional (1-D)	25
1.3.1.2 Transporte de masa	25
1.3.2 Inhibición y pH	26
1.3.3 Modelación matemática de CCM	28
1.3.3.1 Modelo de mediadores redox	28
1.3.3.2 Modelo computacional de biopelícula para CCM	31
1.3.3.3 Modelo de biopelícula conductiva (Nernst-Monod)	36
1.3.3.4 Otros estudios de Modelación	39
1.3.4 Estimación de Parámetros	40
1.3.4.1 Algoritmos Genéticos	41
CAPÍTULO 2	44
Metodología	44
2.1 Descripción del sistema experimental y condiciones de operación	45
2.2 Densidad de corriente	46
2.3 Eficiencia coulombica	47
2.4 pH y DQO	47
2.5 Simulaciones numéricas	47
2.5.1 Consumo de sustrato	47
2.6 Metodología de la modelación matemática	48
2.6.1 Estimación de Parámetros a través de un Algoritmo Genético	51
2.6.1.1 Implementación en Matlab	52
2.7 Modelos matemáticos	53
2.7.1 Modelo 1: $pH_{anódico}$ en función del tiempo	53
2.7.2 Modelo 2: Cinética de consumo de sustrato, producción de biomasa y producción de electricidad	56
2.7.2.1 Formulación del modelo	57
2.7.3 Modelo 3: Espesor de la biopelícula, gradientes de sustrato y biomasa	60
2.7.3.1 Tasa de utilización de sustrato y respiración	61
2.7.3.2 Balance de masa para el sustrato en la biopelícula	62
2.7.3.3 Balance de masa para la biomasa en la biopelícula	63
2.7.3.5 Parámetros del modelo 3	66

2.7.3.6 Solución del modelo de biopelícula empleando AQUASIM	67
CAPITULO 3	68
Resultados y discusiones	68
3.1 Remoción de DQO	69
3.2 Modelo matemático	70
3.2.1 pH en función del tiempo	70
3.2.2 Simulación de la evolución del pH para 150 días	73
3.2.3 Estimación de parámetros	78
3.2.4. Simulación de la densidad de corriente eléctrica en la celda	80
3.2.5. Cinética de consumo de sustrato y crecimiento de bacterias	83
3.2.6 Simulación del crecimiento de la biopelícula en la cámara anódica, perfiles de concentración de sustrato y concentración de biomasa	86
3.2.6.1 Cinética del Crecimiento de la biopelícula	86
3.2.6.2 Perfiles de concentración del sustrato	88
3.2.6.3 Distribución de la biomasa en la biopelícula	90
3.2.6.4 Espesor de la biopelícula a diferentes b_{des}	92
CAPÍTULO 4	94
Conclusiones	94
Perspectivas	97
Apéndice A	98
Apéndice B	102
Referencias	108

Índice de figuras

Página

- Figura 1:** Principio de una CCM de doble cámara [4] 5
- Figura 2** Potenciales de interés en biopelículas exoelectrógenas. El potencial intracelular es igual a $E_{\text{donador}}-E_{\text{PM}}$, las pérdidas de potencial debidas a los mediadores están dadas por $E_{\text{PM}}-E_{\text{interfase}}$, y la pérdida de potencial en la interfase del electrodo debida a la reacción es igual a $E_{\text{interfase}}-E_{\text{ánodo}}$. Las pérdidas totales están dadas por $E_{\text{donador}}-E_{\text{ánodo}}$ [9]. A) Esquema de las pérdidas de energía por transferencia de electrones, B) Diagrama de pérdidas de energía en función de la distancia con el electrodo 11
- Figura 3** Pérdidas de potencial intracelulares en exoelectrógenos. (1), utilización de sustrato-transferencia de electrones desde el portador de electrones intracelular (NADH). (2), Producción extracelular de electrones – el NADH finalmente alcanza a las proteínas PM (E_{PM}), provocando una pérdida de potencial [9] 13
- Figura 4** Resumen de los tres mecanismos empleados por exoelectrógenos para las pérdidas de transferencia extracelulares: (a) transferencia directa, (b) mediadores (c) conducción. Se indican con números los procesos implicados: 1, utilización de sustrato; 2, Producción de electrones; 3a, transporte de electrones por mediadores; 3b, transporte de electrones por conducción 4, reacción de electrodo, [9] 16
- Figura 5** Microscopia Electrónica de barrido de una biopelícula de exoelectrógenos, mostrando la presencia de nanocables [71] 20
- Figura 6** A) Gradientes de sustrato en una biopelícula monodimensional., L_z = Espesor de la biopelícula, L = Espesor de la capa de difusión, z = distancia con el electrodo [143] 23
- Figura 7** Desarrollo histórico de los modelos de biopelículas, **S** es el soporte de la biopelícula, **C_x** y **C_s** son las concentraciones biomasa y sustrato en la biopelícula, **b** es la biopelícula y **L** es la capa externa de difusión. **(a)** Distribución de biomasa y gradiente de sustrato monodimensional, 1970, **(b)** biomasa en una dimensión y estratificación múltiple de sustrato con biopelículas de múltiples especies, 1980, **(c)** modelo multidimensional de la biomasa y los sustratos 1990 [79] 24

Figura 8 Ilustración de la remoción de protones H^+ en una biopelícula por efecto de la alcalinidad, manteniendo pH óptimo para la actividad bacteriana. Las bacterias activas (gris sólido), y las inactivas (gris rayado). a) en condiciones de difusión lenta, el elevado gradiente de concentración de Alk^- decrece el pH en la biopelícula y hace inactivas a las bacterias. b) al incrementar la concentración del buffer, el pH incrementa a través de la biopelícula, especialmente en su interior, lo que la mantiene activa [100]	28
Figura 9 Diagrama de reacción en la CCM; HNQ y $HNQH_2$ son las concentraciones del mediador en forma oxidada y reducida respectivamente, H^+ = concentración de protones, M_{ox} y M_{red} son las concentraciones de los mediadores intracelulares en su forma reducida y oxidada respectivamente, O_2 es la concentración de oxígeno, [16]	29
Figura 10 Simulaciones de la producción de corriente a) y consumo de sustrato b) en función del tiempo obtenidos por Picioreanu [8]	36
Figura 2.1 Diseño de CCM propuesta para este estudio	46
Figura 2.5 Cámara anódica de celda de combustible microbiana, Logan [125]	50
Figura 2.6 Esquema general de modelación modificado de Escalas [126], S = concentración del sustrato ($g L^{-1}$), X = concentración de bacterias ($g L^{-1}$), ϕ_a = fracción de bacterias activas, j = densidad de corriente eléctrica ($A m^{-2}$), L_f = espesor de la biopelícula (μm), $pH = pH_{anódico}$, q = velocidad de consumo de sustrato ($g L^{-1} día^{-1}$), $\mu = (g L^{-1} día^{-1})$	51
Figura 3.1 remoción de carga orgánica expresada en DQO para cada fase	69
Figura 3.2 Evolución del pH anódico promedio en función del tiempo para 12 CCM	70
Figura 3.3 Evolución del pH anódico de una CCM para un periodo experimental de 66 días	71
Figura 3.4 Evolución del pH^* promedio en función del tiempo para la CCM	72
Figura 3.5 Curva de Ajuste para los datos experimentales del pH^* de la celda CCM a partir del modelo propuesto	72
Figura 3.6 Simulación del $pH_{anódico}$ en función del tiempo	73

- Figura 3.7** Simulación de velocidad específica de consumo de sustrato en función del $\text{pH}_{\text{anódico}}$ para la CCM1 77
- Figura 3.8** Comparación de los datos experimentales y el modelo de $\text{pH}_{\text{anódico}}$ para la curva de (q vs $\text{pH}_{\text{anódico}}$) 78
- Figura 3.9** simulación de la producción de densidad de corriente eléctrica, $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$, los datos experimentales son los círculos azules 82
- Figura 3.10** simulación numérica de la eficiencia coulombica (EC) para la CCM1 83
- Figura 3.11** Simulación del consumo del acetato en función del tiempo, con alimentación de $6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Los círculos rojos vacíos son los datos experimentales y la línea degradada azul es la simulación 85
- Figura 3.12** Simulación de la curva de crecimiento de los microorganismos en la cámara anódica, $X_0 = 131 \text{ g L}^{-1}$, con alimentación de $6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Los círculos rojos vacíos son los datos experimentales y la línea degradada azul es la simulación 85
- Figura 3.13 A)** Evolución temporal del espesor de la biopelícula para este estudio, empleando un tiempo de simulación de 150 días, **B)** Simulación de la biomasa suspendida (línea gruesa: concentración de biomasa en la biopelícula; línea delgada: concentración de biomasa suspendida; línea punteada: espesor máximo de biopelícula, Piciooreanu [8], **C)** Evolución del espesor de la biopelícula (L_f) a diferentes velocidades de desprendimiento con ($k_{\text{bio}} = 10^{-4} \text{ mS cm}^{-1}$) y velocidades de desprendimiento (b_{des}) de 0.05, 0.1, y 0.2 día^{-1} [14] 87
- Figura 3.14 A)** Concentración de sustrato en función de la distancia con el electrodo con un tiempo de simulación de 150 días, $b_{\text{des}} = 0.05 \text{ día}^{-1}$. **B)** Concentración de sustrato en función de la distancia con el electrodo, con un tiempo de simulación de 150 días, con $b_{\text{des}} = 0.05, 0.1$ y 0.2 día^{-1} , S_d^* = concentración del sustrato normalizada. **C)** Perfiles de concentración del sustrato promedio en el interior de la biopelícula después de 1 a 8 días 89
- Figura 3.15 A)** Fracción volumétrica de la biomasa activa a lo largo del espesor de la biopelícula anódica para cada fase de análisis, biomasa activa ϕ_a : línea punteada,

biomasa inactiva ϕ_i : línea continua. **B)** Simulación de la distribución de biomasa activa e inerte a lo largo del espesor de la biopelícula después de 250 días [14], **C)** Distribución de biomasa activa con $k_{\text{bio}} = 1 \times 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$ y $b_{\text{des}} = 0.05, 0.1 \text{ y } 0.2 \text{ día}^{-1}$. z = distancia con el electrodo 91

Figura 3.16 Evolución en el espesor de la biopelícula (L_f) a diferentes velocidades de desprendimiento (b_{des})=0.05, 0.1 y 0.2 día^{-1} 93

Índice de tablas	Página
Tabla 2. Comparación de los tres mecanismos principales de transferencia de electrones, que tienen lugar en sistemas bioelectroquímicos, j = densidad de corriente eléctrica del sistema, NM: Modelo Nernst-Monod [9]	22
Tabla 2.1 Fases Y análisis planteadas para el presente estudio, DQO = Demanda Química de Oxígeno	45
Tabla 2.2 Resumen de las ecuaciones empleadas para el modelo de biopelícula, X_a y X_i = concentración de bacterias activas e inactivas respectivamente	66
Tabla 2.3 Parámetros empleados para el modelo de la biopelícula	66
Tabla 3.1 Resultados de la estimación de parámetros para la CCM en semibatch	78
Tabla 3.2 tabla de parámetros de diferentes estudios de modelación en CCM reportados por otros autores	80

RESUMEN

Las Celdas de Combustible Microbianas (CCM) emplean bacterias para degradar los compuestos orgánicos y así producir electricidad. Ya se ha realizado una extensa investigación para entender los aspectos de ingeniería y la microbiología de estos sistemas, pero pocos se enfocan en el estudio de modelación.

En el presente trabajo se monitoreó el desempeño electroquímico de una CCM tipo PEM (Proton Exchange Membrane). El análisis realizado muestra una tendencia de incremento en las densidades de corriente (211 - 347 mA m⁻²) y eficiencia coulombica (34.9 - 60.6 %), vinculada con el aumento en el espesor de la biopelícula.

Con base en estos resultados se desarrollaron tres modelos matemáticos. El primero describe la evolución del pH anódico en función del tiempo, el segundo se construyó empleando una relación entre el pH anódico y la tasa máxima de utilización de sustrato, para predecir la producción de electricidad, consumo de sustrato y producción de biomasa en función del tiempo. Los parámetros de este segundo modelo (q_{max} , K_s , W , $Y_{X/S}$) se estimaron empleando un algoritmo genético modificado, el tercero, fue empleado para predecir la evolución de la biopelícula mixta. En el tercer modelo se emplean los parámetros del segundo modelo, y se elaboró en dos pasos: 1) se formuló una expresión para describir la oxidación del sustrato empleando una cinética de doble saturación. 2) Se vinculó la cinética con un proceso de difusión y velocidad de advección para predecir el espesor de la biopelícula, los gradientes de sustrato y las fracciones volumétricas de biomasa.

Las simulaciones numéricas para el primer modelo, se realizaron en Excel y empleando el software para ajuste de curvas LabFit. Se empleó **MATLAB** y **AQUASIM** para el segundo y tercer modelo, respectivamente. Las simulaciones del primer modelo indican que el pH óptimo se encuentra entre 7.12, y q_{max} de 0.15 g-S g - X⁻¹ día⁻¹.

En el primer modelo, la validación con los datos experimentales muestra un buen ajuste para las curvas del pH como función del tiempo. Para el segundo modelo, el ajuste se hace presente para las curvas de consumo de sustrato, producción de biomasa, generación de corriente eléctrica y eficiencia coulombica.

Las simulaciones del segundo modelo indican que la biopelícula anódica presenta una cinética de crecimiento lenta, por lo cual los gradientes de sustrato fueron importantes hasta las últimas fases de análisis y la biomasa activa pudo persistir más allá de 22 micrómetros lejos del electrodo. Por otro lado, el incremento en el espesor de la

biopelícula y acumulación de biomasa inerte mantienen una relación con la densidad de corriente y con la velocidad de desprendimiento.

ABSTRACT

Microbial Fuel Cells (MFC), use bacteria to degrade organic compounds and thus produce electricity. It has been already done extensive research to understand the engineering aspects and microbiology of these systems, but do not focus to the modeling. In this work we monitor the electrochemical performance of a MFC type (PEM). The analysis shows a trend of increasing current (211-347 mA m⁻²) and coulombic efficiency (34.9- 60%), which are related to the increase in the biofilm thickness.

Based on the obtained results, we developed three mathematical models. The first, describe anodic pH evolution over time, the second was constructed using a relationship between the anodic pH and the maximum substrate utilization rate, to predict the electricity production, substrate consumption and biomass production versus time. The parameters of this model (q_{max} , K_s , W , $Y_{X/S}$) were estimated using a modified genetic algorithm, the third model developed belongs to one-dimensional type, and was used to predict the evolution of the mixed biofilm. The third model, uses the parameters of the second one, and was developed in two steps: 1) we formulated an expression to describe substrate oxidation, using double-saturation kinetics. 2) Kinetics was linked with a diffusion process and advection velocity to predict the biofilm thickness, substrate gradients and volumetric fractions of active biomass. The numerical simulations for the first model were made in Excel and the software LabFit. Were performed using Matlab and AQUASIM for the first and second model respectively. The first model simulations indicate that the optimum pH is between (7.12, and q_{max} of 0.15 g-S g⁻¹ day⁻¹).

In the first model validation with experimental data shows a good fit for curves of pH over time. For the second model, the simulations show a good fit for curves of substrate consumption, biomass production, electricity generation and coulombic efficiency. The third model simulations indicate that the biofilm anode had slow growth kinetics, so at this time, the substrate gradients were important to the final stages of analysis and active biomass could persist beyond 22 micrometers away from the electrode. On the other hand, the increase in the biofilm thickness and inert biomass accumulation hold a relationship with the current density and the detachment velocity.

Introducción

Las Celdas de Combustible Microbianas (CCM), ha despertado un gran interés debido a su capacidad para transformar una gran diversidad de compuestos orgánicos a corriente eléctrica [1-4]. En estos sistemas, interactúan múltiples factores físicos, químicos y biológicos, que determinan el desempeño del proceso. Por ello, la gran cantidad de variables de operación tornan el análisis de estos sistemas complejo. Hasta la fecha los trabajos sobre CCM, siguen siendo en su mayoría experimentales, y se orientan hacia el estudio de la microbiología [6] ó de la ingeniería de la CCM [4-7]. A pesar de la intensa investigación, la potencia máxima que es posible extraer de una CCM, se encuentra todavía restringida por muchos parámetros de operación como la geometría de la celda, pH, la velocidad de crecimiento, el área del electrodo, la concentración del sustrato, el tipo de Inóculo y el tipo de catalizador en el cátodo [3, 99]. Aunado a esto, se presentan ciertos fenómenos como la relación entre el pH de la celda con el metabolismo microbiano o el espesor óptimo de biopelícula, que son características que permiten disminuir las pérdidas de potencial y cuya explicación no resulta completamente satisfactoria [100, 102], por lo que su estudio a nivel laboratorio, resulta costoso y consume mucho tiempo. En este contexto, la aplicación de modelos matemáticos para describir dichos procesos, tiene una importancia preponderante ya que pueden emplearse para detectar elementos clave en el proceso, así como el desarrollo de nuevos diseños, que permitirían maximizar la potencia generada [8].

A la fecha, la información experimental se restringe a cálculos de la eficiencia coulombica, y energética, rendimiento de crecimiento total, máxima potencia energética y potencial a circuito abierto [4, 5], debido a la falta de una descripción dinámica del proceso. Por otro lado, existen algunos trabajos que estudian la biopelícula anódica en el desempeño electroquímico de la CCM [8, 11-13, 110]. Debido a la complejidad de las comunidades bacterianas, su interacción con otros organismos y con el mismo electrodo [7, 14, 15, 76]. La importancia de estos trabajos radica en que pueden describir de manera más precisa los datos experimentales en cuanto a la cinética de la biopelícula se refiere.

A partir del primer modelo matemático desarrollado para una CCM en el año de 1995 por Zhang sus colaboradores [16], quienes simularon células suspendidas con adición de mediadores redox, se han publicado a la fecha algunos modelos, que incluyen la biopelícula anódica como elemento de importancia entre estos trabajos se encuentran los

de Piciooreanu y Markus [14, 15]. Bajo este escenario, los objetivos de este trabajo de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general

Desarrollar un modelo matemático, que permita predecir y validar el desempeño electroquímico de una CCM y la evolución de la biopelícula anódica, en relación a las características de la cámara anódica, y de los parámetros: velocidad de consumo de sustrato y pH anódico.

Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de remoción mediante la Demanda Química de Oxígeno (DQO).
- Evaluar el prototipo de CCM, mediante el seguimiento continuo de la corriente, pH anódico y eficiencia coulombica.
- Obtener un modelo matemático unidimensional para explicar la relación del $pH_{\text{anódico}}$ con la velocidad específica de consumo de sustrato (q). producción de electricidad y producción de biomasa
- Modelar la cinética de crecimiento de la biopelícula anódica, los gradientes de sustrato y gradientes de biomasa en el interior de la misma.
- Validar el modelación del pH, en un software de simulación.

Justificación

Actualmente se sabe poco sobre la relación que tiene el pH anódico con el metabolismo microbiano y su relación con el desempeño electroquímico de una CCM. La comprensión y el establecimiento de tales relaciones, es necesaria para poder identificar los elementos que gobiernan el funcionamiento de una CCM. La importancia de la realización del presente estudio reside en la aportación de conocimiento base referente a la modelación matemática de dichos procesos en una CCM.

Hipótesis

Un modelo matemático que considere los procesos cinéticos que intervienen en el desempeño electroquímico de una CCM como son la evolución del pH anódico, permitirá predecir la generación de electricidad, y la velocidad de consumo de sustrato, así como los cambios en el espesor de la biopelícula anódica de manera semejante o mejor a los trabajos reportados en la literatura que consideran enfoques diferentes que no consideran la evolución en el tiempo del pH de la solución.

CAPITULO 1: Antecedentes

Celdas de Combustible Microbianas: Características y Modelación Matemática

1.1 Celdas de Combustible Microbianas

1.1.1 Funcionamiento

Una CCM tipo PEM (Proton Exchange Membrane), es un prototipo de dos cámaras, separadas por una membrana polimérica, la cual es permeable al paso de protones (Figura 1). La cámara del lado izquierdo correspondiente al ánodo y captura los electrones liberados en el medio, como consecuencia del metabolismo bacteriano [17, 18]. Seguidamente, los electrones, fluyen hacia el cátodo a través de un circuito externo, lo que permite la generación de corriente eléctrica mientras que los protones pasan a través de la membrana hacia la cámara catódica, donde reaccionan con los electrones y el oxígeno contenido en el aire, generando agua como subproducto final [19, 33, 74].

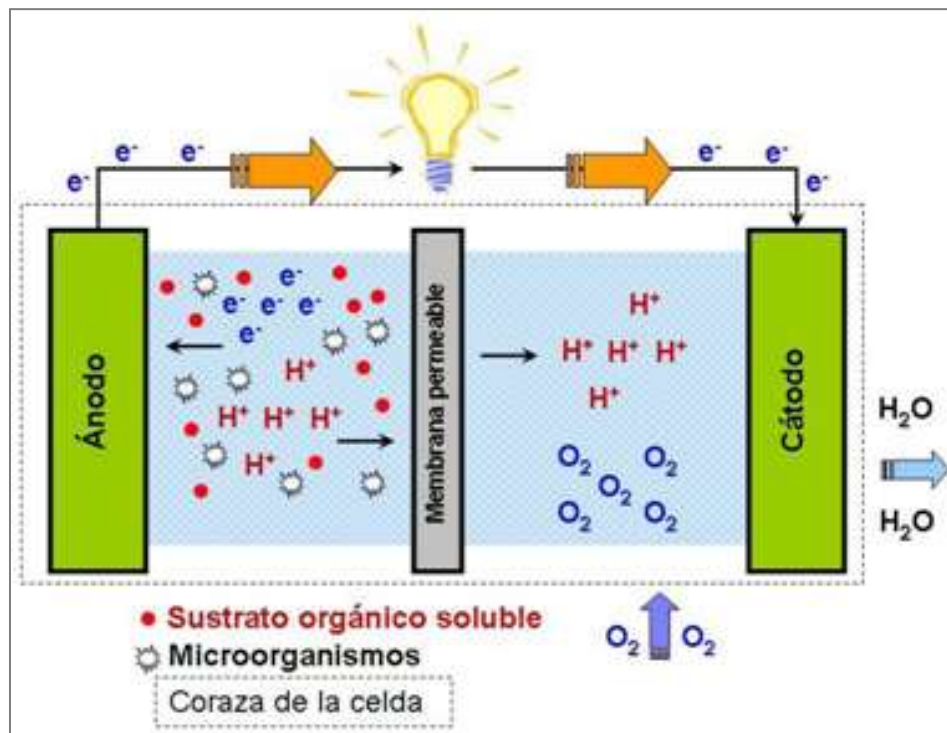


Figura 1 Principio de una CCM de doble cámara [4].

1.1.2 Exoelectrónenos como catalizadores en CCM

Hasta finales de los 80's y principios de los 90's, el estudio de las CCM se limitó a usar un determinado número de organismos, para catalizar las reacciones de oxidación-reducción. El enfoque en la mayoría de las investigaciones fue la oxidación de la glucosa utilizando enzimas como la glucosa oxidasa, organismos como la levadura *Saccharomyces*

cervisiae y bacterias como la *Escherichia coli*, así como otros organismos fermentativos. Sin embargo, estos límites se rompieron con el descubrimiento de bacterias reductoras de metales, (BRM) y bacterias del género *Geobacter* y *Shewanella*, conocidas como exoelectrógenos. Estos singulares organismos, pueden transferir sus electrones directamente a superficies sólidas, a través de proteínas ubicadas en su membrana externa (citocromos) y/o empleando apéndices conductores conocidos como nanocables, cuya presencia se hace notar, bajo condiciones anaeróbicas [11, 20, 21]. La mayoría de los organismos que han sido estudiados y que emplean este mecanismo de transferencia, son BRM y cepas electroquímicamente activas, como los géneros de *Clostridium* [22], *Geobacter* [11] *Aeruginosa* [31], *Rhodofera* [27], *Desulfobulbus* [28] y *Shewanella* [25, 26, 31].

Con el descubrimiento de las BRM, se presenta una alternativa novedosa para el estudio de las CCM. En la última década del siglo 20, diversos grupos de investigación se encuentran enfocados en la aplicación de este tipo de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales, así como la identificación de nuevos organismos exoelectrógenos presentes en las aguas residuales tanto de origen doméstico como industrial [27-33]; De igual manera, estos organismos han comenzado a emplearse también en la producción de biohidrógeno [4, 37, 38] y en biorremediación [39]. Además, ciertas bacterias pueden adherirse físicamente a los electrodos de la CCM y catalizar sus reacciones. Se han realizado estudios recientes que demuestran que el aumento del área superficial de los electrodos, mejorar la conductividad y la eficiencia en la generación de electricidad [40-45].

1.1.3 Generación de voltaje

Logan, 2008, indica que el voltaje (E) generado en una CCM, como en cualquier sistema eléctrico, se relaciona con la resistencia externa (R_{ext}) y la corriente (j) mediante la ley de Ohm [125]

$$E = jR_{ext} \quad (1.1)$$

Rabaey y colaboradores mencionan que en una CCM dicha variable es más complicada de determinar y de predecir que en una celda de combustible química, ya que se requiere un tiempo para que las bacterias colonicen el electrodo y construyan la maquinaria metabólica que les permitirá transferirle los electrones,[5]. A pesar de las dificultades que

representa el cálculo del voltaje en estos sistemas, existen límites termodinámicos que determinan su valor máximo, considerando la concentración de los donadores y aceptores de electrones [125].

1.1.3.1 Fuerza electromotriz

La máxima fuerza electromotriz, E_{fem} , que puede producirse en cualquier sistema electroquímico, se expresa mediante la ecuación de Nernst, según la ecuación (1.2):

$$E_{fem} = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln (\Pi) \quad (1.2)$$

En donde E^0 es la fuerza electromotriz estándar de la celda, R es la constante de los gases cuyo valor es de $8.14 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, T es la temperatura absoluta en K, n es la cantidad de moles de electrones que participan en la reacción y F es la constante de Faraday (96485 C mol^{-1}). El coeficiente de reacción (Π), es el cociente de las actividades de los productos divididos entre las de los reactivos

$$\Pi = \frac{[\text{productos}]^p}{[\text{reactivos}]^r} \quad (1.2a)$$

De acuerdo a la IUPAC, se toman como condiciones estándar una temperatura de 298 K, y concentraciones de 1M para líquidos y presiones de 1 bar para gases (1 bar = 0.9869 atm). Todos los potenciales se calculan con respecto al potencial del electrodo de hidrógeno, que se define como $E^0(\text{H}_2) = 0 \text{ V}$, por lo tanto, los potenciales estándar para todas las especies químicas se obtienen con un valor de $\Pi = 1$. En los sistemas biológicos los potenciales suelen ser pre-ajustados a un pH neutro, esto debido a que el citoplasma de las células posee un pH mayor a 7, Logan [125]. Por ejemplo, en la reacción: $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$, el potencial de reacción a 298 K se calcula con la ecuación (1.3)

$$E^{/0} = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{H_2}{[H^+]^2} \right) \quad (1.3)$$

Donde el superíndice $'$ en E , se utiliza para indicar el pH ajustado a las condiciones estándar. De manera que el potencial del hidrogeno es distinto de cero ya que todas las especies están presentes en la solución a un pH = 7 [125]. Sustituyendo los valores de las constantes en la ecuación 1.3 se obtienen los valores para el potencial ajustado:

$$E^{/0} = 0 - \frac{\left(\frac{8.31J}{molK}\right)(298.15 K)}{\left(2 \cdot 96485 \frac{C}{mol}\right)} \ln \left[\frac{1}{(10^{-7}M)^2} \right] = -0.414 V \quad (1.4)$$

Para el par redox (H⁺/H₂), los compuestos que serán oxidados por H⁺ poseen potenciales más negativos, mientras que aquellos que son reducidos por el H₂ presentan potenciales más positivos. Logan [125], calculó el potencial de oxidación del hidrógeno por el oxígeno para la semireacción: 1/2 O₂ + 2H⁺ + 2e⁻ → H₂O, empleando un valor de E⁰ (O₂) = 1.229 V, pH = 7 y una concentración de O₂ = 0.2 M

$$E^{/0} = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{1}{[O_2]^{1/2}[H^+]^2} \right) \quad (1.5)$$

$$E^{/0} = 1.229 - \frac{\left(\frac{8.14 J}{molK}\right)(298.15 K)}{\left(2 \cdot \frac{9.65 \times 10^4 C}{mol}\right)} \ln \left[\frac{1}{(0.2)^{1/2}(10^{-7}M)^2} \right] = 0.805 V \quad (1.6)$$

Como puede verse el resultado obtenido con la ecuación (1.6) es positivo a diferencia del obtenido con la ecuación (1.4) que es negativo, lo que implica que dicha reacción es no espontánea y que requiere de un catalizador [57].

1.1.3.2 Voltaje total de la CCM

Logan [125], indicó que el potencial total que puede producirse en cualquier celda de combustible resulta de la diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo, $E_{fem} = E_{Cátodo} - E_{Ánodo}$, o para condiciones estándar:

$$E'_{fem} = E^{0/}_{Cátodo} - E^{0/}_{Ánodo} \quad (1.7)$$

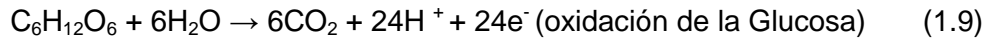
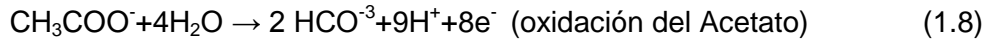
En donde, el signo negativo es el resultado de la definición del potencial anódico como reacción de reducción (a pesar de que esté ocurriendo una reacción de oxidación) [4]. Por ejemplo, asumiendo que se emplea H₂ en el ánodo y O₂ en el cátodo, el voltaje total (E'_{fem}) que puede obtenerse será: $E'_{fem} = 0.805 V - (-0.414 V) = 1.219 V$.

La ecuación (1.7) demuestra que empleando el mismo ánodo en un sistema con diferentes condiciones catódicas se puede producir voltajes de celdas significativamente diferentes y por ende diferentes niveles de densidad de corriente [4].

1.1.3.3 Reacciones anódicas y catódicas

Las reacciones que tienen lugar en la CCM pueden analizarse en términos de las reacciones, o las reacciones separadas que ocurren en el ánodo y en el cátodo como las indicadas en las ecuaciones (1.3 y 1.5).

En la cámara anódica, los microorganismos degradan los sustratos orgánicos presentes como el acetato y la glucosa, dando lugar a la liberación de protones y electrones (Ecuaciones. 1.8 y 1.9) [125].



Empleando la ecuación de Nernst (Ecuación 1.2) y la estequiometría de la reacción de oxidación del acetato (Ecuación 1.8), se puede calcular el potencial de oxidación, Logan calculó el potencial de oxidación del acetato, considerando un potencial estándar de 0.187 V vs (ENH = Electrodo Normal de Hidrógeno) y estableciendo una concentración de 1 g L⁻¹, pH = 7 y una alcalinidad fijada por el bicarbonato HCO₃⁻ = 5 mM, como [125]:

$$E_{An} = E_{An}^0 - \frac{RT}{8F} \ln \left(\frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{HCO}_3^-]^2 [\text{H}^+]^9} \right) \quad (1.10)$$

$$E_{An} = 0.187 - \frac{\left(\frac{8.31\text{J}}{\text{mol K}}\right)(298.15\text{ K})}{\left(8 \cdot \frac{96485\text{ C}}{\text{mol}}\right)} \ln \left[\frac{0.0169}{[(0.005)^2 (10^{-7}\text{ M})^9]} \right] = -0.3\text{ V} \quad (1.11)$$

En una CCM, el ánodo actúa como aceptor terminal de electrones, por lo tanto, la actividad microbiana depende en gran medida de las condiciones electroquímicas del sistema, así como del potencial Redox del ánodo.

En el cátodo tienen lugar las reacciones de reducción; Existen diversas reacciones que pueden emplearse para este propósito, pero la reducción del O₂ resulta ser la opción más factible, no sólo para las celdas de combustible de hidrógeno sino también para las CCM [46]. Algunas de las reacciones más representativas son la formación de agua y peróxido de hidrógeno (Ecuaciones. 1.12 y 1.13) indicadas a continuación



Sin embargo dichos potenciales difícilmente son alcanzados ya que para conseguir la reducción completa del O_2 en agua, es necesaria la transferencia de $4e^-$. Por ejemplo en una CCM que utiliza oxígeno como agente reductor en el cátodo, el potencial estándar es $E^{o'}_{Cát} = 0.805 \text{ V}$ (Ec. 1.6) y tomando el resultado obtenido en la Ec. 1.11, el potencial máximo que puede entregar la celda es $E^{o'}_{fem} = 0.805\text{V} - (-0.300 \text{ V}) = 1.105 \text{ V}$ [46].

1.1.4 Eficiencia Coulómbica

Logan y colaboradores indican que si bien la generación de energía es uno de los objetivos principales de una CCM, también se pretende obtener la mayor cantidad de energía posible del sistema, por ello se define la eficiencia Coulómbica (EC) como la relación entre la fracción de los electrones recuperados como corriente eléctrica y los que son aportados por el sustrato [4, 125]

$$EC = \frac{\text{coulombs totales recuperados}}{\text{coulombs aportados por el sustrato}} \quad (1.14)$$

Recordando la definición de un Amperio como la transferencia de 1 Coulombio de carga eléctrica por segundo ($1\text{A} = 1\text{C s}^{-1}$), tenemos que integrando la corriente obtenida a través del tiempo, obtendremos los Coulombios totales, de acuerdo con Cheng y Logan [1, 4]:

$$EC = \frac{M_s \int_0^{tb} I dt}{F b_{es} v_{An} \Delta c} \quad (1.15)$$

Donde M_s es el peso molecular del sustrato (g mol^{-1}), tb = tiempo experimental, I = densidad de corriente en función del tiempo (A), F es la constante de Faraday, b_{es} = son los electrones producidos por el sustrato, el término dentro de la integral indica los Coulombios producidos en el tiempo, v_{an} representa el volumen del reactor y Δc es el cambio en la concentración del sustrato ($C_{inicial} - C_{final}$) (g L^{-1}) [4].

1.2 Pérdidas energéticas en los Sistemas Bioelectroquímicos

La Figura 2 muestra las pérdidas de potencial anódico más significativas presentes en una CCM, considerando que las bacterias se encuentran a cierta distancia del electrodo. El sobrepotencial anódico ($\eta_{\text{Ánodo}}$), definido como la diferencia entre el potencial del donador de electrones y el potencial anódico ($\eta_{\text{Ánodo}} = E_{\text{donador}} - E_{\text{Ánodo}}$) incluye las diferentes pérdidas asociadas tanto a los procesos intracelulares como a los extracelulares. Este parámetro determina la energía a la cual los electrones son liberados, desde las proteínas de membrana (PM) y cómo posteriormente, son conducidos hacia el electrodo. Ya que son liberados, éstos pierden energía adicional principalmente a través de dos procesos cinéticos [9].

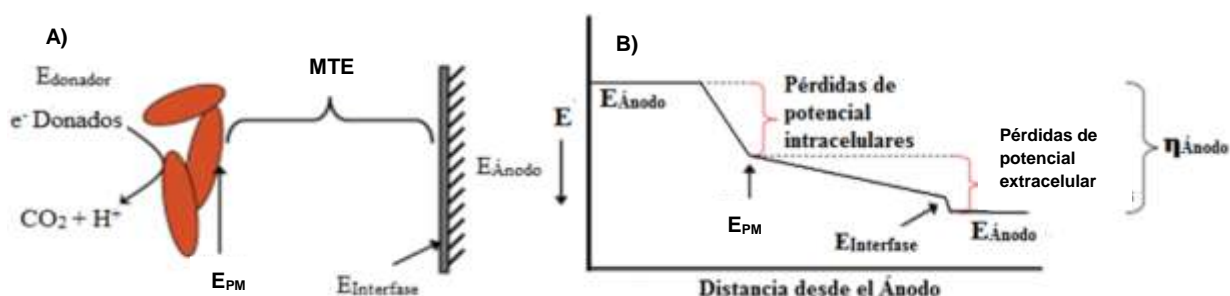


Figura 2. Potenciales de interés en biopelículas exoelectrógenas. El potencial intracelular es igual a $E_{\text{donador}} - E_{\text{PM}}$, las pérdidas de potencial debidas a los mediadores están dadas por $E_{\text{PM}} - E_{\text{interfase}}$, y la pérdida de potencial en la interfase del electrodo debida a la reacción es igual a $E_{\text{interfase}} - E_{\text{ánodo}}$. Las pérdidas totales están dadas por $E_{\text{donador}} - E_{\text{ánodo}}$ [9]. A) Esquema de las pérdidas de energía por transferencia de electrones, B) Diagrama de pérdidas de energía en función de la distancia con el electrodo.

El primer proceso se asocia con el mecanismo de transferencia de electrones que los transporta a la interfase anódica, lo que provoca una pérdida energética ya que deben pasar desde las proteínas de membrana a la interfase del electrodo.

El segundo proceso se relaciona con la reacción en el electrodo, que disminuye el potencial, al llevar los electrones desde la interfase electrodo-solución hasta la superficie del mismo.

Los exoelectrógenos obtienen energía únicamente a partir de procesos intracelulares ($E_{\text{donador}} - E_{\text{PM}}$), ya que las pérdidas de energía extracelulares ($E_{\text{PM}} - E_{\text{ánodo}}$) son disipadas principalmente como calor [9, 10].

Las CCM son operadas con la finalidad de disminuir las pérdidas de potencial anódico (E_{Anodo}), ya que de esto depende que las bacterias obtengan la energía necesaria para realizar sus procesos intracelulares y extracelulares [9].

Bard, 2001 y Bamford, indican que la corriente eléctrica generada por una CCM puede medirse directamente, con cierto nivel de aproximación, pero una adecuada comprensión sobre la cinética en el electrodo, puede revelar la velocidad a la cual esta es transferida entre las bacterias y el electrodo y permite identificar cual es el mecanismo más adecuado que permite obtener elevadas densidades de corriente con pérdidas de potencial mínimas (η_{Anodo}) [59, 127].

1.2.1 Pérdidas de potencial intracelulares ($E_{\text{donador}}-E_{\text{PM}}$)

Dos procesos cinéticos están involucrados en las pérdidas de potencial intracelular desde E_{donador} a E_{PM} . Estos procesos son comunes en todas las bacterias, y se muestran en la figura 3. Inicialmente, las bacterias oxidan el donador de electrones, generando un poder de reducción intracelular mediante un portador de electrones como el NADH (Nicotin-Adenin-Dinucleotido) [9]. Para generar energía para las células, el NADH es oxidado transfiriendo sus electrones a las proteínas (PM) ubicadas en la cadena de transporte de electrones, la cual finalmente lo entrega a un aceptor de electrones externo. En el caso de bacterias exoelectrógenas, los electrones son transferidos a proteínas (PM) que inician los procesos de transferencia (Figura 3). Weber, Newman y Lovley, realizaron estudios previos donde indican la naturaleza y los mecanismos implicados en la transferencia de electrones mediante estas estructuras [47-49].

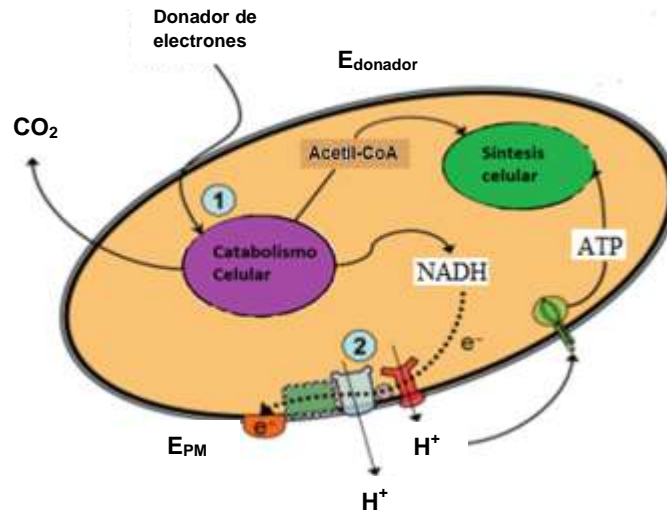


Figura. 3 Pérdidas de potencial intracelulares en exoelectrógénos. (1), utilización de sustrato-transferencia de electrones desde el portador de electrones intracelular (NADH). (2), Producción extracelular de electrones – el NADH finalmente alcanza a las proteínas PM (E_{PM}), provocando una pérdida de potencial [9].

1.2.1.1 Tasa de utilización de sustrato

La tasa de utilización de sustrato en los procesos microbianos se expresa frecuentemente empleando las ecuaciones de Monod [50-53]. Esta relación indica explícitamente la velocidad a la cual las bacterias oxidan el sustrato y generan un portador de electrones intracelular. Cuando el consumo del sustrato se debe a la actividad de los exoelectrógénos y al mecanismo de transferencia de electrones, la densidad de corriente generada puede escribirse como sigue [64]:

$$j = j_{max} \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad (1.16)$$

Donde

j = Densidad de corriente global generada por exoelectrógénos ($A\ m^{-2}$).

j_{max} = Densidad de corriente máxima generada por exoelectrógénos ($A\ m^{-2}$).

S = Concentración del sustrato en el compartimento anódico ($g\ L^{-1}$).

K_S = Constante de saturación media para el sustrato ($g\ L^{-1}$).

En algunos experimentos se mantiene elevada la concentración de sustrato en el reactor para alcanzar el nivel de saturación. En particular en los enfocados a la cinética de transferencia de electrones [54-56].

1.2.1.2 Tasa de generación de electrones por exoelectrógenos

A partir de que se generan los portadores de electrones intracelulares, estos comienzan a fluir a través de la cadena de transporte de electrones, hasta los citocromos que se encuentran ubicados en la membrana celular, que inician la transferencia de electrones hacia el electrodo [21, 57].

Bae y Rittmann [58], emplearon la ecuación de Monod para modelar la cinética de las bacterias que emplean mediadores redox, En este modelo se asume que los electrones son transferidos al mediador el cual a su vez los conduce al electrodo, de manera que la densidad de corriente generada se expresa en función de la concentración de los mediadores.

Para los exoelectrógenos que emplean contacto directo o nanocables como mecanismo de transferencia de electrones, no puede emplearse la relación de Monod para describir la cinética ya que únicamente considera concentraciones de donador y de aceptor de electrones, sin embargo, el electrodo anódico que trabaja como aceptor es un material sólido y por lo tanto no puede definirse una concentración del mismo. Por lo que se reemplaza la concentración del aceptor por un potencial eléctrico, empleando la relación Nernst-Monod (NM), desarrollada por Marcus y sus colaboradores [14], ecuación 1.17:

$$j = j_{max} \left(\frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}(E - E_{KA})\right]} \right) \quad (1.17)$$

Donde

j = Densidad de corriente generada por exoelectrógenos ($A\ m^{-2}$).

j_{max} = Densidad de corriente máxima generada por exoelectrógenos ($A\ m^{-2}$).

R = constante de los gases ($8.314\ J\ mol^{-1}\ K^{-1}$).

T = temperatura absoluta en K.

F = constante de Faraday ($C \text{ mol}^{-1}$).

E_{KA} : es el potencial al cual la $j = \frac{1}{2} j_{max}$ ($A \text{ m}^{-2}$).

1.2.2 Pérdidas de potencial extracelulares ($E_{PM}-E_{\text{ánodo}}$)

En este tipo de pérdidas, están involucrados dos procesos cinéticos. En el primero de ellos los electrones son transportados desde las proteínas PM (Ej. citocromos) a la superficie del ánodo ya sea por mediadores o por nanocables (Figura 4) Esto reduce la energía de los electrones desde E_{PM} hasta $E_{\text{interfase}}$ (Figura 2b). En el segundo proceso, los electrones son transferidos al electrodo mediante una transferencia electrodo-interfase (Figura 4), reduciendo la energía de los electrones desde $E_{\text{interfase}}$ a $E_{\text{ánodo}}$ (Figura 2b).

Dado que esas pérdidas ocurren fuera de la célula, se encuentran asociadas con la conservación de energía de las bacterias y con su crecimiento [60]. Los mecanismos subyacentes implicados en estos procesos cinéticos (transporte difusivo, conducción y reacciones electroquímicas) son conocidos por disipar la energía en forma de calor.

Para disminuir las pérdidas de potencial, las bacterias exoelectrógenas emplean diversos mecanismos de transferencia: contacto directo, mediadores de electrones y matriz de conducción. La figura 4 resume los diferentes procesos cinéticos que se encuentran asociados con las pérdidas de potencial. Dependiendo del mecanismo de transferencia empleado por las bacterias, se consideran diferentes procesos cinéticos [9].

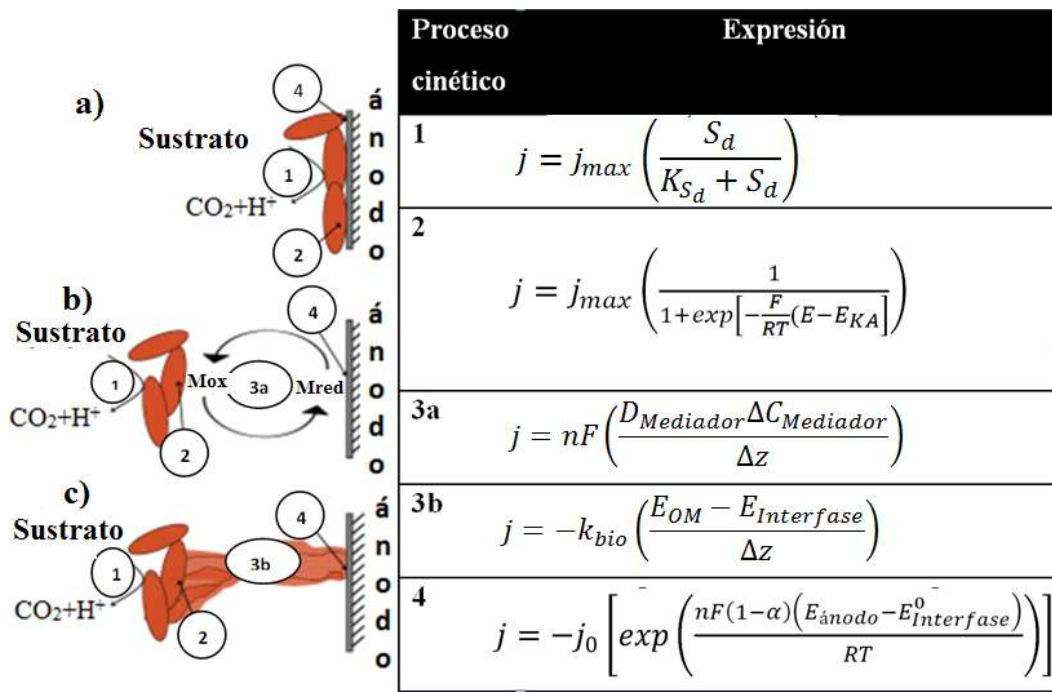


Figura 4. Resumen de los tres mecanismos empleados por exoelectrógenos para las pérdidas de transferencia extracelulares: (a) transferencia directa, (b) mediadores (c) conducción. Se indican con números los procesos implicados: 1, utilización de sustrato; 2, Producción de electrones; 3a, transporte de electrones por mediadores; 3b, transporte de electrones por conducción; 4, reacción de electrodo [9].

1.2.2.1 Mecanismo de transferencia por contacto directo

En el mecanismo de transferencia por contacto directo, una monocapa de bacterias coloniza el ánodo y transfiere sus electrones mediante citocromos. Una mínima pérdida de potencial se debe a que los electrones no necesitan recorrer una distancia significativa para alcanzar el electrodo donde tiene lugar la reacción electroquímica de transferencia (figura 4). Bard, 2001, describe la velocidad a la cual tiene lugar esta reacción, se describe por la ecuación de Butler–Volmer (ecuación 1.18), escrita aquí únicamente para la reacción anódica [59]

$$j = -j_0 \left[e^{\left(\frac{nF(1-\alpha)(E_{ánodo} - E_{Interfase}^0)}{RT} \right)} \right] \quad (1.18)$$

Donde

j = densidad de corriente ($A m^{-2}$).

j_0 = densidad de corriente de intercambio en el equilibrio ($A m^{-2}$).

α = coeficiente de simetría para las reacciones anódica y catódicas.(adimensional)

$E_{ánodo}$ = potencial anódico (V),.

$E_{Interfase}^0$ = potencial estándar de la reacción que ocurre en la interfase (V).

La ecuación de Butler–Volmer, describe la pérdida de potencial final en todos los mecanismos de transferencia de electrones. Esta reacción puede ocurrir entre una proteína de membrana y el ánodo o entre un compuesto mediador y el ánodo [59].

Torres, menciona que a pesar de que en el contacto directo se tienen pérdidas de potencial minimas, la cantidad de biomasa que está en contacto con el ánodo es un factor limitante para incrementar la densidad de corriente [9]. Si los exoelectrógenos, están en contacto directo con el electrodo, únicamente podría formarse una monocapa de bacterias; lo que equivale a un espesor de $\approx 2 \mu m$ [9] y dado que la j puede expresarse en función del espesor de la biopelícula alcanzaria este nivel limite. Dicha relacion, puede escribirse como sigue, ecuacion (1.19) [64].

$$j_{max} = \gamma_s q_{max} X_f L_f \quad (1.19)$$

Donde

j_{max} = densidad de corriente máxima por la biopelícula ($A m^{-2}$).

γ_s = factor de conversion de sustrato a coulombs.

q_{max} = tasa máxima específica de utilización de sustrato ($mol \cdot e^- \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$).

X_f = concentracion de la biomasa activa en la biopelícula ($g L^{-1}$).

L_f = espesor de la biopelícula electroactiva (μm).

Por otro lado, Paalme [128 y Xu [129], estudiaron la generación de corriente en una monocapa de exoelectrógenos ($L_f = 2 \mu m$ y $X_f = 2.8 \times 10^5 g m^{-3}$) y concluyeron que para poder generar una corriente de $15 A m^{-2}$, q_{max} debería ser $\sim 1 mol g^{-1} h^{-1}$, más de un orden de magnitud mayor que los valores reportados para *E. coli* respirando oxígeno ($18 mmol O_2 g^{-1} h^{-1}$ o $72 mmol e^- g^{-1} h^{-1}$).

. Cálculos previos realizados por Torres [119] para exoelectrógenos en CCM, estiman un valor de $q_{max}X_f = 860 \text{ g m}^{-3} \text{ día}^{-1}$. Asumiendo este valor y $L_f = 2 \text{ }\mu\text{m}$, la densidad de corriente máxima obtenida sería de 0.24 A m^{-2} , casi dos órdenes de magnitud más pequeña que lo reportado para CCM, que es del orden de 10 A m^{-2} [55]. Los cálculos realizados por Torres [9] y Rozendal [72], son consistentes con estudios previos de Reguera [83], donde se relacionó el espesor de la biopelícula con la corriente producida por *Geobacter sulfurreducens*. Reguera demostró que una cepa mutante deficiente de nanocables sólo produjo una biopelícula de $3 \text{ }\mu\text{m}$, y 0.16 A m^{-2} . Esos resultados, muestran que a pesar de que el contacto directo es un mecanismo viable para exoelectrógenos, no puede considerarse para obtener elevadas densidades de corriente. Por lo tanto, para alcanzar elevadas densidades de corriente en CCM, es esencial que los exoelectrógenos empleen otro mecanismo que les permita formar una biopelícula de múltiples capas de células [9].

1.2.2.2 Mecanismo de transferencia por mediadores redox solubles

Algunas bacterias son conocidas por producir compuestos que actúan como mediadores entre los sólidos (Ej. óxidos metálicos) [47, 49, 65]. Entre los organismos incluidos se encuentran miembros de *Shewanella*, *Pseudomonas* y *Escherichia* [3, 54, 66, 67]. El empleo de mediadores permite a las bacterias ubicarse a cierta distancia del electrodo y acumular más de una monocapa, pero manteniendo un contacto mayor con el mismo, ya que la distancia entre las bacterias y el ánodo, llega a ser un factor limitante en la difusión de estos compuestos [8].

La concentración de mediadores reportados en CCM, están en el orden de mM ó nM [54, 82, 85], Mientras que muchos otros iones (Ej. Sodio, Potasio, Cloro, Fosfato, y bicarbonato) están presentes en concentraciones de mM. Torres y colaboradores [156], indican que la densidad de corriente como función del transporte de mediadores hacia el electrodo se expresa principalmente, mediante la ley de difusión de Fick, ecuación 1.20

$$j = nF \left(\frac{D_{\text{Mediador}} \Delta C_{\text{Mediador}}}{\Delta z} \right) \quad (1.20)$$

Donde;

j = Densidad de corriente por la biopelícula (A m^{-2}).

nF = factor de conversión de moles a coulombs

$D_{Mediador}$ = coeficiente de difusión de los mediadores de electrones ($m^2 s^{-1}$)

$\Delta C_{Mediador}$ = gradiente de concentración de los mediadores ($g L^{-1}$)

Δz = Diferencial de distancia de los mediadores con el electrodo (μm)

Piciooreanu y colaboradores [8], desarrollaron un modelo matemático donde emplea la ecuación (1.20, concluyendo que el gradiente de concentración de los mediadores está limitado por la concentración de los mismos en la biopelícula. Sin embargo, Marsili [54] y Canstein [66], demostraron que la cantidad de flavinas acumuladas por una cepa de *S. oneidensis* sólo alcanzó niveles superiores a 0.5 mM, de igual manera otros trabajos revelan niveles menores a 1 mM en estos compuestos [85, 131].

Asumiendo un $D_{Mediador} = 6.7 \times 10^{-10} m^2 s^{-1}$, considerando un cambio de concentración de mediador $\Delta C_{Mediador} = 1$ mM, y $n = 2$, el flujo de electrones a través de 1 μm de biopelícula es solamente $0.13 A m^{-2}$, valor que es 100 veces menor a lo reportado por otros autores que no emplean estos compuestos en sus experimentos [55].

Para alcanzar elevadas densidades de corriente elevadas empleando este mecanismo, $\Delta C_{Mediador}$, debería ser de 100 μM por 1 μm de biopelícula, [9]; de tal manera que la concentraciones de mediadores en zonas mayores a 10 μm deberían estar en el intervalo de mM [9].

Marsili y colaboradores [133] obtuvieron una densidad de corriente máxima de $0.16 A m^{-2}$ empleando *S. oneidensis* que produce flavinas como mediadores; observaron un incremento en la j_{max} a $0.25 A m^{-2}$ cuando se adicionó flavinas (0.25 mM). Piciooreanu *et al.*, [8], emplearon su modelo matemático basado en mediadores para también calcular la densidad de corriente máxima resultado de la difusión de estos compuestos, encontrando que incluso a concentraciones elevadas de mediadores (1 mM), la j_{max} fue $0.57 A m^{-2}$. Así, la j_{max} experimental y la estimada empleando mediadores, es 20 veces menor que los valores máximos reportados para experimentos realizados sin la adición de compuestos mediadores ($10 - 15 A m^{-2}$) [55, 56, 105, 134].

1.2.2.3 Mecanismo de transferencia por matriz de conducción

En estudios realizados por Gorby y Reguera [34, 54], se ha descubierto la presencia de *nanocables* en algunos microorganismos exoelectrógenos, *estas estructuras*, se han

identificado en bacterias como *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella oneidensis*, una cianobacteria fototrófica *Synechocystis* y un microorganismo fermentador termofílico *Pelotomaculum thermopropionicum* [71].

El término 'conductor eléctrico' se emplea para designar un material que posee gran cantidad de electrones libres y puede transferirlos con pérdidas de potenciales mínimas. Dadas las características de posibles sustancias exopoliméricas producidas por exoelectrógenos, la matriz sólida de conducción actuará como un semiconductor cuyo valor de conductividad (k), se encuentra entre ($10^{-6} \text{ mS cm}^{-1}$ y 10^6 mS cm^{-1}). La figura 5 muestra una microscopia electrónica de una biopelícula produciendo elevadas densidades de corriente (10 A m^{-2}) [70]; donde se observa la presencia de nanocables que conectan a las bacterias con otras secciones de la biopelícula. Es posible que otros sólidos presentes en la matriz extracelular sean conductivos; como uniones débiles con citocromos [69] y uniones con mediadores, como responsables de la conductividad de la matriz [133].

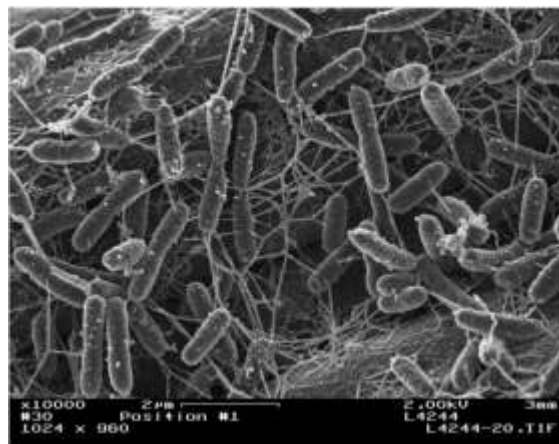


Figura 5 Microscopia electrónica de barrido de una biopelícula de exoelectrógenos, mostrando la presencia de nanocables [71].

A diferencia de los mediadores, el mecanismo de matriz de conducción no se encuentra restringido por la ley de Fick, pero sí por la velocidad a la cual la matriz conductiva es capaz de conducir electrones, ecuación (1.21)

$$j = -k_{bio} \left(\frac{E_{OM} - E_{Interface}}{\Delta z} \right) \quad (1.21)$$

Donde;

j = Densidad de corriente generada por la biopelícula (mA m^{-2})

k_{bio} = conductividad de la biopelícula (mS cm^{-1}).

En la ecuación, (1.21) k_{bio} determina las pérdidas de potencial extracelulares, una elevada k_{bio} (Ej. $1 \times 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$) resulta apropiada, ya que minimiza las pérdidas de potencial entre E_{PM} y $E_{Interfase}$ al mismo tiempo que incrementa la densidad de corriente [15].

No existen estudios que reporten la conductividad de la biopelícula de manera directa; Sin embargo, se han realizado algunos intentos por caracterizar esta propiedad. Reguera y El-Naggar [72, 135] cuantificaron la conductividad de nanocables bacterianos en función de su longitud confirmando las propiedades eléctricas de dichas estructuras. También se desconoce cuáles nanocables son conductivos y cuales son estructuras empleadas como soporte con el electrodo [72]. Estudios realizados por diversos autores sugieren que los citocromos probablemente se adhieren a los nanocables y que son de alguna manera responsables de la conductividad de la biopelícula [71, 104, 135, 136].

Obteniendo la conductividad de los nanocables y la cantidad de los mismos en el interior de la biopelícula es posible calcular la k_{bio} del sistema. Los estudios de modelación de Marcus [14] estiman que un valor de $k_{bio} = 4 \times 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$ permite obtener una densidad de corriente de 8 A m^{-2} , ya que esto permite despreciar las pérdidas de potencial debidas al mecanismo de transferencia.

Si las bacterias son capaces de incrementar el valor de k_{bio} , sus pérdidas de potencial extracelulares serían mínimas y los exoelectrógenos serían capaces de producir elevadas densidades de corriente, ya que dicho proceso, estaría determinado por la actividad metabólica y no por su mecanismo de transferencia [15]. Estudios realizados por Torres y colaboradores [55] reportan valores superiores a 10 A m^{-2} en un cultivo mixto enriquecido con *G. sulfurreducens* en el que se confirmó la presencia de nanocables por medio de imágenes de Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). De igual manera, Dumas y colaboradores, obtuvieron densidades de corriente de 8 A m^{-2} empleando *G. sulfurreducens* en grafito, que producen nanocables [137].

1.2.3 Comparación de los mecanismos de transferencia en CCM

Torres *et al.* [9], indican las características de cada mecanismo de transferencia considerando como objetivo principal la producción de elevadas densidades de corriente con mínimas pérdidas de potencial. La tabla 1.1 resume los puntos mencionados previamente en este capítulo. Con el contacto directo, la densidad de corriente se encuentra fuertemente limitada por la mínima cantidad de biomasa activa adherida a la superficie del electrodo.

Mecanismos de transferencia	Pérdidas de potencial anódico ($\eta_{anódico}$)	Densidad de corriente máxima (j_{max})	Referencias
Contacto directo	Pérdidas mínimas, proximidad con el electrodo. Anódico determinado por la relación NM	j limitada, $j_{max} < 0.3 \text{ A m}^{-2}$ Inhabilidad de formar biopelícula con el electrodo,	[55, 72, 119]
Mediadores	Gradientes difusivos de mediadores, mayores pérdidas de potencial 100 mV, desviaciones de la relación NM.	j_{max} limitada por difusión, j_{max} de 0.25 A m^{-2} Mayor acumulación de biomasa activa, Pérdida de los mediadores en el efluente.	[3, 8, 131, 133]
Matriz de Conducción	Pérdidas mínimas, con $k_{bio} > 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$. potencial anódico depende de la relación NM	Elevada, j_{max} alta $> 10 \text{ A m}^{-2}$. El electrodo no se pierde en el reactor.	[55, 72, 119, 135,]

Tabla 1.1 Comparación de los tres mecanismos principales de transferencia de electrones, que tienen lugar en sistemas bioelectroquímicos-, j = densidad de corriente eléctrica del sistema, NM: Modelo Nernst-Monod [9].

1.2.4 Gradiente de sustrato en la biopelícula

Las bacterias exoelectrógenas proliferan como biopelícula, es decir, una comunidad de microorganismos alojados en el ánodo de una CCM, adheridos y encapsulados en una matriz exopolimérica. En una biopelícula los microorganismos pueden ubicarse cerca del sustrato, para protegerse de la desecación [76]. Sin embargo se presentan fenómenos como la difusión que generan gradientes de concentración del sustrato. La figura (6) ilustra el gradiente de S para una biopelícula monodimensional. [S] decrece debido su utilización del sustrato, la resistencia al transporte de masa en la capa externa de difusión (L) y por resistencia al transporte de masa interno. Los diferentes perfiles de S dependen de la magnitud relativa del transporte de masa y el consumo del sustrato [94]. La palabra ‘**penetrada**’ describe un perfil de sustrato plano y tiene lugar cuando la velocidad de transporte de masa domina la tasa de consumo del sustrato. El caso ‘**intermedia**’, describe una situación en donde los gradientes de sustrato son importantes debido a que las bacterias en la parte interna de la estructura, experimentan una concentración de sustrato menor que la estructura bidimensional [143]. Una estructura ‘**profunda**’ describe la concentración del sustrato alcanzando cero en algún lugar en la biopelícula y ocurre cuando la tasa de consumo de sustrato domina sobre la tasa de transporte de masa.

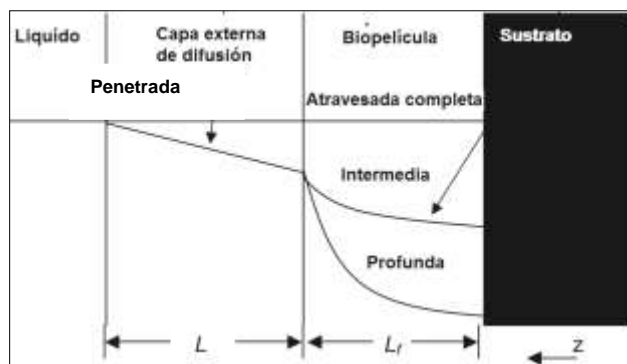


Figura 6 A) Gradientes de sustrato en una biopelícula monodimensional., L_f = Espesor de la biopelícula, L = Espesor de la capa de difusión, z = distancia con el electrodo [143].

1.3 Modelación matemática

La modelación matemática juega un papel importante en los sistemas bioelectroquímicos, debido a que los experimentos pueden tomar un tiempo relativamente largo, por lo tanto, la modelación de procesos biológicos es un instrumento para describir y verificar los

procesos cinéticos que intervienen en este tipo de sistemas y es una herramienta aplicable al diseño, evaluación y control de los procesos de tratamiento propuestos.

1.3.1 Modelos de biopelículas

Los modelos matemáticos para biopelículas proveen un procedimiento sistemático para vincular la interrelación entre termodinámica, cinética, pH y equilibrio químico, ecología microbiana, y la arquitectura de la biopelícula [76].

Los modelos monodimensionales desarrollados durante los 80s e inicios de los 90s emplearon capas planas para representar la difusión y la biopelícula (Figura 7). La estructura heterogénea de la biopelícula revela que las propiedades físicas como la viscosidad, elasticidad, densidad, porosidad y rugosidad pueden cambiar significativamente. La biopelícula monodimensional (1-D) no puede predecir esas propiedades, por ello, se han desarrollado modelos más sofisticados en dos y tres dimensiones [89, 91, 143, 147].

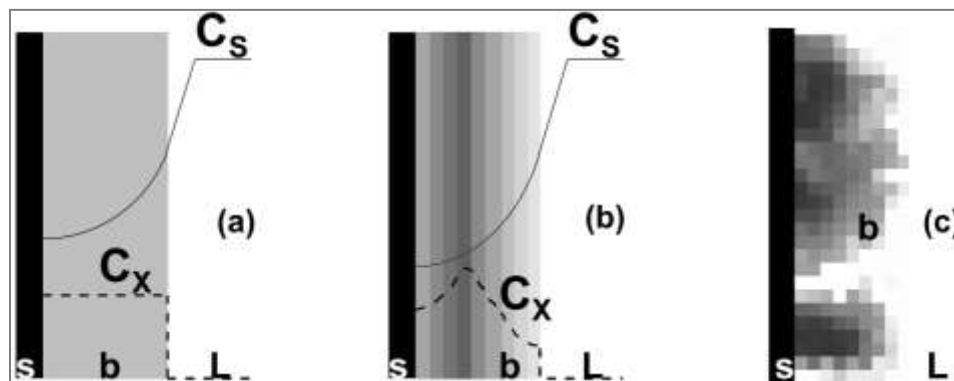


Figura 7 Desarrollo histórico de los modelos de biopelículas, **S** es el soporte de la biopelícula, C_x y C_s son las concentraciones de biomasa y sustrato en la biopelícula, **b** es la biopelícula y **L** es la capa externa de difusión. **(a)** Distribución de biomasa y gradiente de sustrato monodimensional, 1970, **(b)** biomasa en una dimensión y estratificación múltiple de sustrato con biopelículas de multiespecies, 1980, **(c)** modelo multidimensional de la biomasa y los sustratos 1990 [79, 89, 91].

A pesar de algunas limitaciones de los modelos monodimensionales (1-D), éstos explican generalmente las observaciones experimentales y los resultados de los modelos en 2 y 3 dimensiones [76, 142, 143, 144].

1.3.1.1 Modelo de biopelícula monodimensional (1-D)

Un modelo de biopelícula mono-dimensional puede describir ya sea un solo tipo o múltiples tipos de biomasa ocupando la misma biopelícula. La biomasa puede ser una cepa específica de bacterias o un grupo de bacterias clasificadas en base a una actividad fisiológica.

En el desarrollo del modelo de biopelícula en estado estable, Rittmann y McCarty, 1980 [148] asumen una comunidad de multiespecies ocupada únicamente por biomasa activa. Además dicho modelo puede incluir la presencia de otros tipos de biomasa (como biomasa inerte) [143]. Una suposición usual en este tipo de modelos es que los diferentes tipos de biomasa no compiten por el espacio y los nutrientes.

Este tipo de comunidades, pueden representarse en un sistema 1-D con "capas difusas" en el cual diferentes tipos de biomasa ocupan una cierta fracción del espacio. Para la biomasa heterogénea el crecimiento de la biomasa y los gradientes de nutrientes en el interior de la biopelícula describen la evolución dinámica de distribución de la biomasa bacteriana [148].

1.3.1.2 Transporte de masa

El transporte de masa juega un rol significativo en las CCM mediante el flujo de sustratos y buffers en la biopelícula, mientras se transportan los ácidos al exterior de la biopelícula. Los mecanismos de transporte de masa de mayor interés en CCM son la velocidad de desprendimiento o advección, difusión y migración [56].

El fenómeno de advección se refiere al transporte de solutos llevados por el movimiento del líquido en el solvente, usualmente agua para una CCM. Una solución numérica al problema de Navier-Stokes para describir la advección en un sistema de biopelícula requiere de un intenso trabajo computacional. Así, a menudo se considera el impacto promedio de la advección en el transporte de masa con respecto al espacio y al tiempo. Los procesos hidrodinámicos ocurren en el orden de microsegundos a segundos, mientras que muchos de los procesos de crecimiento de biopelículas ocurren en minutos ó días [121]. La diferencia significativa en las escalas de tiempo, permite considerar tiempos promedio de impacto debido al cambio en la viscosidad entre el líquido y la biopelícula, ya que de este modo el impacto de la advección es mínimo. Así, un modelo 1-D asume dos capas, la capa externa de difusión y la biopelícula.

El mecanismo de difusión es un mecanismo regido por un gradiente de concentración de masa, el cual transporta los solutos desde regiones con concentraciones elevadas a bajas hasta que en las dos regiones, este se iguala. La primera ley de Fick de la difusión describe el flujo del sustrato J_{dif} ($\text{cm}^2 \text{ día}^{-1}$) como

$$J_{dif} = D \frac{dS}{dz} \quad (1.22)$$

Donde

J_{dif} es el flujo de difusión del sustrato S y D es el coeficiente de difusión de Fick del sustrato.

La migración es un transporte de masa de iones bajo la influencia de un campo eléctrico. Ha sido poco considerada en los modelos tradicionales de biopelícula, pero ha llegado a ser importante en los sistemas bioelectroquímicos debido a que el campo eléctrico conduce el movimiento de cargas entre el ánodo y el cátodo [101]. El campo eléctrico en una CCM conduce a los cationes desde el ánodo al cátodo y a los aniones desde el cátodo al ánodo. El flujo de migración de un i -ésimo ion $J_{mig, i}$ ($\text{mol cm}^{-2} \text{ día}^{-1}$) es proporcional a la densidad de corriente j (A cm^{-2}) que fluye a través de la sección transversal lateral perpendicular, lo que significa la ruta más corta entre el ánodo y el cátodo [101], ecuación (1.23)

$$J_{mig,i} = \frac{j}{z_i F} t_i \quad (1.23)$$

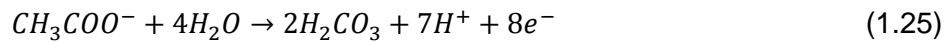
Donde z_i , es la carga del i -ésimo ion. t_i es el número de transferencia, el cual describe la fracción de la carga llevada por un ion:

$$t_i = \frac{J_{mig,i}}{J_{mig}} = \frac{|z_i|^2 D_i C_i}{\sum_i |z_i|^2 D_i C_i} \quad (1.24)$$

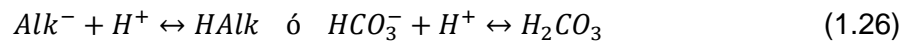
1.3.2 Inhibición y pH

Wanner, indica que cualquier biopelícula se encuentra acoplada a una reacción y un tipo de transporte, que ocasiona gradientes en las concentraciones de los sustratos, [76]. El pH también genera un gradiente en la biopelícula anódica [56, 149]. La estequiometría de la reacción para exoelectrógenos pone en evidencia el efecto del pH. Las bacterias obtienen energía al transferir sus electrones desde un donador a un aceptor, en donde el donador genera electrones en una semireacción de oxidación, mientras que el aceptor

consume los electrones en una semireacción de reducción como se puede ver en la oxidación del acetato [56], ecuación (1.25):



Liberando $2H_2CO_3$, $7H^+$ y $8e^-$, los exoelectróns son transferidos al ánodo, a través de la conducción, sin cambiar el estado de oxidación, así, la reacción carece de semireacción de reducción. Debido a que el ánodo acepta solamente los electrones y libera productos químicos en la fase acuosa, la reacción produce $7H^+$ ocasionando una acumulación de H^+ que se ve reflejado en la disminución del pH, el cual puede ser inhibitorio para las bacterias [56, 149], Para prevenir la caída del pH en la biopelícula anódica, un buffer puede formar un ácido débil y ser transportado hacia la parte externa de la biopelícula. La estequiometría de reacción en (1.26) muestra la reacción de equilibrio ácido-base de un buffer que es representado como (*Alk*), el cual se combina con H^+ para producir (*HAlk*).



Donde, $Alk = HCO_3^-$ para todos los casos

Cuando no hay presencia de otras especies buffer, la alcalinidad de un sistema se expresa por la concentración de carbón orgánico, el cual se encuentra presente en todas las aguas residuales. Debido a que la reacción de alcalinidad (Ecuación 1.26) es mucho más rápida que la cinética de consumo de sustrato (Ecuación 1.16), se puede representar como una reacción de equilibrio [150, 151]. La ley de acción de masas muestra que *Alk* mantiene el pH cercano al valor de la constante de disociación *pKa* (alrededor de 6.3 para HCO_3^-) mediante el flujo de los protones al exterior de la biopelícula.

La figura 8, ilustra la dependencia de la alcalinidad con el pH para una biopelícula anódica. Para prevenir una caída significativa del pH en el interior de la biopelícula, *HAlk* debe ser transportado rápidamente fuera de la misma y *Alk* debe moverse al interior para sustituir el *Alk* convertido a *HAlk*. Elevados gradientes provocan una disminución en el pH dentro de la biopelícula y una fuerte inhibición para un pH bajo, especialmente para las bacterias que residen en el interior (Fig. 8a).

Una solución para la resistencia al transporte de masa es incrementar la concentración de *Alk* (Figura 8b), que aumenta el pH en la biopelícula sin necesidad de incrementar el pH

en el líquido. Torres empleó una CCM para demostrar el beneficio de *Alk*⁻ para sobrellevar el lento transporte de protones fuera de la biopelícula, que es una limitación primordial para la generación de corriente eléctrica empleando una biopelícula anódica [56].

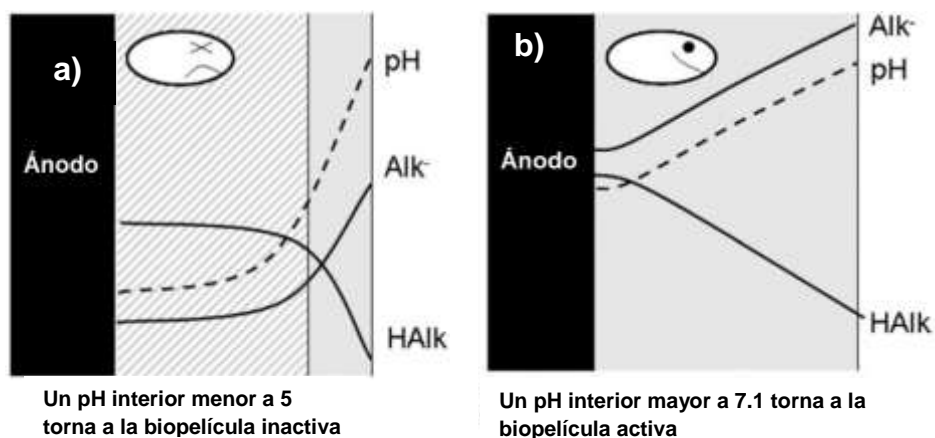


Figura 8. Ilustración de la remoción de protones H^+ en una biopelícula por efecto de la alcalinidad, manteniendo *pH* óptimo para la actividad bacteriana. Las bacterias activas (gris sólido), y las inactivas (gris rayado). a) en condiciones de difusión lenta, el elevado gradiente de concentración de Alk^- disminuye el *pH* en la biopelícula y hace inactivas a las bacterias. b) al incrementar la concentración del buffer, el *pH* incrementa a través de la biopelícula, especialmente en su interior, lo que la mantiene activa [100].

1.3.3 Modelación matemática de CCM

Existen pocos estudios de modelación matemática de CCM que consideran procesos globales, como el consumo del sustrato y los cambios en el potencial del electrodo. A excepción del reportado por Zhang y Halme [16], Picioreanu [8] y Marcus [14].

1.3.3.1 Modelo de mediadores redox

Este modelo simula la producción de corriente eléctrica en una CCM considerando células suspendidas y un mecanismo de transferencia por mediadores redox. El sustrato se consume y produce mediadores intracelulares (M_{red}), que portan los electrones y reaccionan con un mediador extracelular (HNQ), convirtiéndolo a su forma reducida (HNQH_2), luego éste reacciona con el electrodo liberando electrones (e^-), protones (H^+) y el mediador (HNQ) (Figura 9)

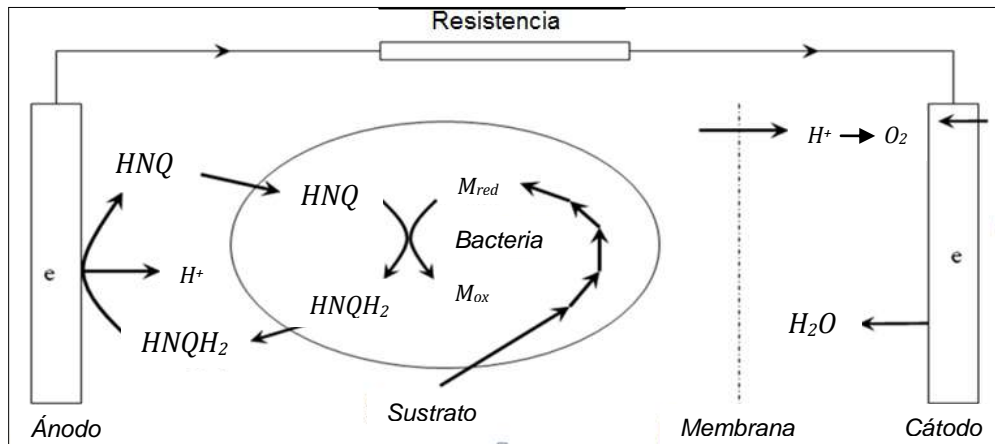
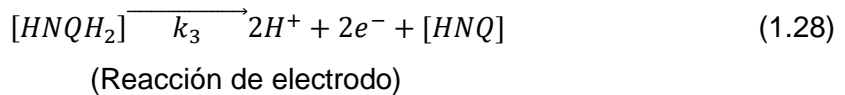
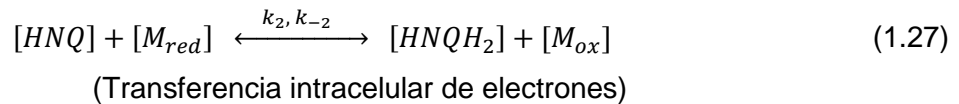


Figura 9 Diagrama de reacción en la CCM; HNQ y $HNQH_2$ son las concentraciones del mediador en forma oxidada y reducida respectivamente, H^+ = concentración de protones, M_{ox} y M_{red} son las concentraciones de los mediadores intracelulares en su forma oxidada y reducida respectivamente, O_2 es la concentración de oxígeno [16].

El modelo matemático de Zhang y Halme asume que:

- Las bacterias oxidan todo el sustrato presente en el reactor.
- El pH en ambas cámaras de la celda es constante durante el experimento.
- La concentración de oxígeno provoca efectos despreciables en el sistema.

Las reacciones involucradas en la transferencia de electrones desde el seno de la solución hacia el electrodo son las siguientes, ecuaciones (1.27, 1.28 y 1.29)



Donde

$[HNQ]$ = concentración del mediador en forma oxidada (mM).

$[HNQH_2]$ = concentración de mediadores en su forma reducida (mM).

$[M_{red}]$ = concentración de mediadores intracelulares en su forma reducida (mM).

$[M_{ox}]$ = concentración de mediadores intracelulares en forma oxidada (mM).

k_2 = constante de velocidad de la reacción reversible entre $HNQH_2$ y M_{red} ($mM\ g^{-1}\ h^{-1}$).

k_{-2} = constante de velocidad de la reacción reversible entre M_{red} y $HNQH_2$ (h^{-1}).

k_3 = constante de velocidad de la reacción entre $HNQH_2$ y el electrodo ($mM\ g^{-1}\ h^{-1}$).

k_d = constante de reacción terminal (h^{-1}).

Los autores expresan la velocidad del consumo de sustrato mediante la cinética de Monod (ecuación 1.30) donde la concentración de bacterias es proporcional al sustrato consumido.

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu SX}{S+K_S} \quad (1.30)$$

Donde:

S = Concentración de sustrato en el reactor ($g\ L^{-1}$).

X = Concentración de bacterias ($g\ L^{-1}$).

μ = Velocidad de crecimiento de las bacterias ($día^{-1}$).

K_S = Constante de saturación media para el sustrato ($g\ L^{-1}$).

Combinando la ecuación (1.30) e incorporándola a la estequiometría de la reacción (1.27), se obtiene la ecuación diferencial para el cambio en la concentración de M_{red} como función del tiempo, ecuación (1.31); dicha expresión, sigue una cinética de saturación tipo Monod, de manera que el parámetro μ de la ecuación (1.30) se reemplaza por la velocidad de producción de M_{red} , ($m\ día^{-1}$), para diferenciar ambos procesos, pero manteniendo el mismo valor de K_S , ya que los autores asumen que K_S (Sustrato) = K_S (Mediador).

$$\frac{d[M_{red}]}{dt} = \frac{mSX}{S+K_S} - k_d[M_{red}] - k_2[HNQ][M_{red}] + k_{-2}(HNQH_2) \quad (1.31)$$

La ecuación (1.31), establece que el consumo de sustrato, incrementa la concentración de (M_{red}), el cual disminuirá al reaccionar con (HNQ) y por degradación del mismo. Además aumentarán si se verifica la reacción entre M_{ox} y $HNQH_2$, ecuación (1.27).

Con la ecuación (1.31), los autores establecieron la dependencia con la concentración de HNQ , ecuación (1.32), esta ecuación, indica que la concentración de HNQ disminuye a medida que reacciona con M_{red} y aumenta por la reacción entre $HNQH_2$ y el electrodo al igual que si ocurre la reacción entre M_{ox} y $HNQH_2$, ecuación (1.27).

$$\frac{d[HNQ]}{dt} = -k_2[HNQ][M_{red}] + k_3(HNQH_2) + k_{-2}(HNQH_2) \quad (1.32)$$

Para el cálculo de la corriente, Zhang y Halme, [16] emplearon la ley de Faraday expresada en función de la concentración de mediadores redox, ecuación (1.33), donde la corriente eléctrica es proporcional a la concentración de mediadores.

$$j = nFk_3[HNQH_2] = nFk_3([HNQ]^* - [HNQ]) \quad (1.33)$$

Donde;

j = corriente generada por la celda (mA).

n = número de electrones transferidos por mol de sustrato

$[HNQ^*]$ = concentración de referencia del mediador en su forma oxidada (mM).

Para el voltaje de la celda, emplearon la ecuación de Nernst expresada en función de la concentración de mediadores [59]:

$$E = E^0 + \frac{RT}{2F} \ln \left(\frac{[HNQ]^* - [HNQ]}{[HNQ]} \right) \quad (1.34)$$

Donde

E = fuerza electromotriz de la celda (V).

E^0 = potencial estándar de la celda (V).

Los resultados obtenidos por Zhang, fueron validados experimentalmente, concluyendo que únicamente son necesarias leyes fundamentales como la ley de Nernst y la ecuación de Monod, acopladas a balances de masa

1.3.3.2 Modelo computacional de biopelícula para CCM

Piciooreanu presentó el primer modelo de la biopelícula anódica de una CCM basado en sus extensos trabajos previos y experiencia en modelación de biopelículas y biocorrosión. Los procesos bioelectroquímicos fueron integrados en modelos detallados de biopelícula anódica. Las bacterias exoelectrógenas son incorporadas y su estequiometría metabólica son incorporadas, incluyendo el rendimiento de producción de biomasa ($Y_{X/S}$) considerado constante y estimado empleando relaciones termodinámicas [8, 153, 154].

De acuerdo a Picioeanu y colaboradores [8], la tasa de oxidación electroquímica de los mediadores reducidos en la superficie del electrodo se representa con la siguiente reacción reversible



Donde

M_{red} = concentración de mediadores en forma reducida (g L^{-1}).

M_{ox} = concentración de mediadores en forma oxidada (g L^{-1}).

En función de la densidad de corriente se tiene que:

$$r_{Mred} = -\frac{i}{2F} \quad \text{y} \quad r_{Mox} = \frac{i}{2F} \quad (1.36)$$

Donde

r_{Mred} y r_{Mox} = tasa de oxidación electroquímica de los mediadores reducidos y oxidados respectivamente ($\text{g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$)

i = densidad de corriente de la CCM (A m^{-2})

F = constante de Faraday

Como indica la ecuación (1.36), es necesario tener la densidad de corriente, por lo que los autores emplean la ecuación de Butler-Volmer (1.37), que relaciona la velocidad de reacción con el sobrepotencial del mismos [59], La ecuación (1.37), expresa la variación en la densidad de corriente, en función del sobrepotencial de activación η_{act} , que cambia desde su potencial de equilibrio.

:

$$i = i_{0,ref} \left[\exp\left(\frac{2.303}{b} \eta_{act}\right) - \exp\left(-\frac{2.303}{b} \eta_{act}\right) \right] \quad (1.37)$$

Donde

i = densidad de corriente en la superficie del electrodo (A m^{-2})

$i_{0,ref}$ = densidad de corriente de intercambio en la superficie del electrodo (A m^{-2}).

η_{act} = sobrepotencial de activación (V).

$2.303 b^{-1}$ = es el resultado de simplificar las constantes F, R y T .

Tomando la ecuación (1.37) y agregando el factor de las concentraciones de los mediadores, por la expresión de la ecuación (1.36), obtenemos la ecuación (1.38)

$$i = i_{0,ref} \left[\frac{\left(\frac{S_{E,Mred}}{S_{ref,Mred}} \right)}{\left(\frac{S_{E,Mox}}{S_{ref,Mox}} \right) \left(\frac{S_{E,H}}{S_{ref,H}} \right)^2} \right] \left[\exp \left(\frac{2.303}{b} \eta_{act} \right) - \exp \left(-\frac{2.303}{b} \eta_{act} \right) \right] \quad (1.38)$$

Donde

i = densidad de corriente total de la celda y es la misma para cada electrodo ($A m^{-2}$)

$i_{0,ref}$ = densidad de corriente de intercambio de referencia ($A m^{-2}$)

$S_{E,Mred}$ = concentración de los mediadores reducidos ($g L^{-1}$).

$S_{E,Mox}$ = concentración de los mediadores oxidados ($g L^{-1}$).

$S_{E,H}$ = concentración de protones otorgados por el sustrato ($g L^{-1}$).

$S_{ref,Mred}$ = concentración de referencia de los mediadores reducidos ($g L^{-1}$).

$S_{ref,Mox}$ = concentración de referencia de los mediadores oxidados ($g L^{-1}$).

$S_{ref,H}$ = concentración de referencia de los protones otorgados por el sustrato ($g L^{-1}$).

El factor entre corchetes que involucra las concentraciones y que multiplica al término derecho de la ecuación (1.38), proviene de la corriente neta entre el ánodo y el cátodo, que se conserva y se encuentra vinculada a ambos electrodos, de tal manera que el sobrepotencial de cada electrodo puede ajustarse para igualar esta corriente, los superíndices fuera de los paréntesis (β y γ , indican el orden de la reacción) [86]

$$i = i_{0,ref} (C_{red})^\beta (C_{oxd})^\gamma \quad (1.39)$$

Biopelícula y el líquido

Piciooreanu y colaboradores [8], propusieron que en la estequiometría de la reacción se deben considerar balances de carga y la segunda ley de la termodinámica, por lo que los autores asumen lo siguiente:

- las bacterias crecerán anaeróbicamente, consumiendo acetato como fuente de carbono.
- Presencia de mediadores como donadores de electrones y NH_4^+ como fuente de nitrógeno.

Se considera una cinética tipo Monod, con una doble limitación de sustratos:

$$\rho = q_{Ac,max} X \frac{S_{Ac}}{K_{Ac} + S_{Ac}} \frac{S_{Mox}}{K_{Mox} + S_{Mox}} \quad (1.40)$$

Donde

ρ = velocidad de crecimiento de las bacterias (día⁻¹).

$q_{Ac,max}$ = velocidad máxima de consumo de sustrato (g L⁻¹ día⁻¹),

S_{Ac} = concentración de acetato (g L⁻¹)

K_{Ac} = constante de saturación media para el acetato (g L⁻¹).

S_{Mox} = concentración de de los mediadores en forma oxidada (g L⁻¹)

K_{Mox} = constante de saturación media para los mediadores en forma oxidada (g L⁻¹).

Balance de masa para el sustrato

Picioreanu *et al.*, [8], expresó la concentración del sustrato a través de una ecuación diferencial ordinaria, que considera las velocidades de reacción en la solución, en la biopelícula como sigue:

$$\frac{dS_B}{dt} = \frac{Q}{v_B} (S_{in} - S_B) + r_{S,B} + \frac{1}{v_B} \int_{v_F} r_{S,F} dV + \frac{1}{v_B} \int_{A_F} r_{S,F} dA \quad (1.41)$$

Donde

$r_{S,B}$ = velocidad neta de reacción en la solución (g L⁻¹ día⁻¹).

$r_{S,F}$ = velocidad neta de reacción en la biopelícula (g L⁻¹ día⁻¹).

Q = caudal de flujo (L día⁻¹).

S_B = concentración de sustrato en el líquido (g L⁻¹).

S_{in} = concentración de sustrato de entrada (g L⁻¹).

v_B = volumen del líquido (L).

Para la concentración de bacterias, emplearon una expresión similar a la ecuación (1.41)

$$\frac{dX_B}{dt} = \frac{Q}{v_B} (X_{in} - X_B) + r_{X,B} + r_{det} \frac{A_F}{v_B} - r_{ata} \frac{A_F}{v_B} \quad (1.42)$$

Donde,

X_{in} y X_B son las concentraciones bacterianas en el afluente y la adherida en la biopelícula, respectivamente (g L⁻¹)

$r_{X,B}$ = velocidad de reacción de la biomasa en la biopelícula ($\text{g L}^{-1} \text{ día}^{-1}$),

r_{det} y r_{ata} son las velocidades de desprendimiento y adhesión de la biopelícula ($\text{g L}^{-1} \text{ día}^{-1}$)

A_F = área de la biopelícula (m^2)

Q = caudal de flujo (L día^{-1}).

v_B = volumen de l líquido (L).

Gradiente de sustrato en la biopelícula

Para esto, asumieron que el crecimiento de la película se contempla únicamente en el eje $z = l_z$, de este modo la tasa de producción superficial de cualquier compuesto, desde la superficie del electrodo hacia el líquido, debe ser igual al flujo de difusión del mismo, esto se escribe como [8]:

$$D \frac{\partial S_F}{\partial z} + r_{S,F} = 0 \quad (1.43)$$

El modelo demostró ser bastante aproximado cuando se comparó con resultados experimentales empleando *Geobacter* creciendo en acetato [11] (Figura 10). Se observa que la corriente generada está en función de la cantidad de sustrato consumido, asimismo existe una acumulación de carga como resultado del consumo del sustrato y su conversión en electricidad. Asimismo, la validación del modelo con datos experimentales indica una dependencia entre el consumo de sustrato y la concentración de los mediadores redox, demostrándose la relación entre dichos compuestos con la generación de electricidad.

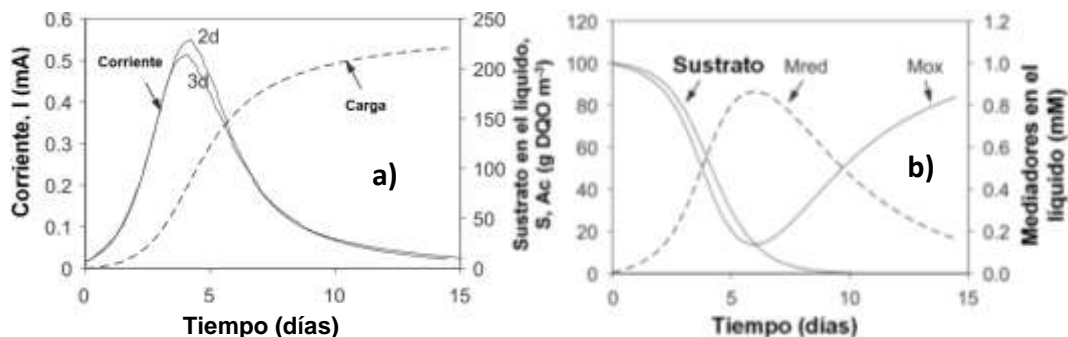


Figura 10. Simulaciones de la producción de corriente a) y consumo de sustrato b) en función del tiempo obtenidos por Picioreanu [8].

1.3.3.3 Modelo de biopelícula conductiva (Nernst-Monod)

Marcus y colaboradores [15], postularon que la biopelícula crece perpendicularmente a la superficie del ánodo e inicia su crecimiento en $z = 0$, con un espesor L_f (μm). La biopelícula está compuesta de biomasa activa e inactiva, que crece de manera natural en capas uniformes [120].

Este modelo supone que:

- 1.- La matriz de la biopelícula es un conductor que posee una conductividad, k_{bio} (mS cm^{-1}) igual en la biomasa activa e inactiva.
- 2.- La biomasa activa transfiere sus electrones a la matriz de la biopelícula conductiva y solamente deja salir los electrones generados por la oxidación del sustrato y la respiración endógena.
- 3.- La tasa de utilización de los sustratos donadores, depende de la concentración del donador (S_d) y del potencial anódico (E_{Anodo}).
- 4.- La biopelícula se encuentra fuertemente adherida al electrodo, por lo que la reacción de transferencia de carga desde la matriz de biopelícula al ánodo es despreciable.
- 5.- La electroneutralidad se mantiene, despreciando el flujo de aniones y cationes.
- 6.- el sistema se encuentra bien amortiguado y el cambio en el pH en la biopelícula es despreciable.
- 7.- La transferencia de electrones desde las bacterias a la biopelícula es rápida y reversible, posee un comportamiento tipo Nernst.

Velocidad de consumo de sustrato y respiración

Markus empleó un modelo de doble limitación de sustrato, desarrollado previamente por [58], que posee tanto un aceptor como un donador de electrones expresado de la siguiente manera:

$$q = q_{max} \phi_a \left(\frac{S_d}{K_{sd} + S_d} \right) \left(\frac{S_a}{K_{sa} + S_a} \right) \quad (1.44)$$

Donde

q = velocidad específica de consumo del sustrato donador de electrones (día^{-1}).

q_{max} = velocidad máxima de consumo de sustrato (día^{-1}).

ϕ_a = fracción volumétrica de la biomasa activa (Adimensional).

S_d = concentración del donador de electrones (g L^{-1}).

K_{Sd} = constante de saturación media para los donadores de electrones (g L^{-1}).

S_a = concentración de los aceptores de electrones (g L^{-1}).

K_{Sa} = constante de saturación media para los aceptores de electrones (g L^{-1}).

El término para el donador de electrones en la ecuación 1.44, sigue una cinética tipo Monod, pero como se indicó en apartados anteriores se reemplaza la concentración del aceptor de electrones por el potencial eléctrico para calcular la cinética de la reacción del aceptor, combinando estas ecuaciones es como se obtiene la ecuación Nernst-Monod, para describir la densidad de corriente en respuesta al potencial anódico (V).

Para obtener la expresión Nernst-Monod, se hace un vínculo entre el potencial anódico de los aceptores de electrones y su concentración empleando la ecuación de Nernst, reportada previamente [92], ecuación (1.45).

$$E_{\text{ánodo}} = E_A^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{S_a^0}{S_a} \right) \quad (1.45)$$

Donde

$E_{\text{ánodo}}$ = Potencial anódico (Volts).

E_A^0 = Potencial estándar de reducción para el sustrato donador (V).

n = número de electrones transferidos a los aceptores.

S_a^0 = Concentración estándar del aceptor (g L^{-1}).

S_a = Concentración del aceptor de electrones (g L^{-1}).

Los autores establecen la condición de $n = 1$ por simplificación. Posteriormente Markus definió una nueva variable (E_{KA}), que representa el potencial anódico cuando se alcanza la concentración de saturación para el sustrato aceptor $S_a = K_{Sa}$ y considera que se alcanza la mitad de la q_{max}

$$E_{KA} = E_A^0 - \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{S_a^0}{K_{Sa}} \right) \quad (1.46)$$

Así, E_{KA} es el potencial anódico del aceptor para el cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima de consumo de sustrato. Sustituyendo las ecuaciones (1.45) y (1.46) en la Ecuación. (1.44), se obtiene:

$$q = q_{max} \phi_a \left(\frac{S_d}{K_{sd} + S_d} \right) \left(\frac{\exp\left(\frac{F}{RT}(E_{ánodo} - E_A^0)\right)}{\exp\left(\frac{F}{RT}(E_{KA} - E_A^0)\right) + \exp\left(\frac{F}{RT}(E_{ánodo} - E_A^0)\right)} \right) \quad (1.47)$$

Posteriormente Marcus define el potencial local como $\eta = (E_{ánodo} - E_{KA})$ y simplificando la ecuación (1.47) queda lo siguiente:

$$q = q_{max} \phi_a \left(\frac{S_d}{K_{sd} + S_d} \right) \left(\frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}\eta\right]} \right) \quad (1.48)$$

Ahora definida la cinética de consumo del sustrato que es gobernada tanto por la concentración del donador de electrones, como por el potencial anódico. Los autores desarrollaron los balances de masa tanto para los donadores de electrones como para los electrones en el interior de la biopelícula.

Balance de masa para el sustrato

Para el cálculo de los donadores, Wanner y Gujer [76] emplearon un balance de masa estacionario que incluye fenómenos de utilización y difusión molecular como se define a continuación:

$$0 = D_{E,f} \frac{\partial^2 S_d}{\partial z^2} - X_{f,a} q \quad (1.49)$$

Donde

$D_{E,f}$ = coeficiente de difusión para el sustrato donador de electrones ($m^2 s^{-1}$).

$X_{f,a}$ = densidad de la biomasa activa ($g m^{-3}$).

Balance de electrones y la ley de Ohm

Para la biopelícula anódica se describe la conducción a través de la matriz y el ánodo, considerando un balance de electrones en estado estacionario, lo que resulta en la ecuación 1.50 [15]:

$$k_{bio} \frac{\partial^2 \eta}{\partial z^2} = \frac{F\gamma_1}{\tau} f_e^0 X_{f,a} q + \frac{F\gamma_2}{\tau} X_{f,a} r_{res} \quad (1.50)$$

Donde

η = potencial anódico (Volts).

k_{bio} = conductividad de la biopelícula (mS cm^{-1})

γ_1 = equivalente electrónico de los donadores de electrones ($\text{g-e}^- \text{g S}^{-1}$).

γ_2 = equivalente electrónico de la biomasa activa ($\text{g-e}^- \text{g S}^{-1}$).

$\tau = 1 \text{ día} = 86400 \text{ s}$

$X_{f,a}$ = concentración de biomasa activa (g m^{-3}).

f_e^0 = Fracción de los electrones obtenidos y empleados para la síntesis celular.

r_{res} = cinética de respiración endógena (día^{-1})

El modelo Nernst-Monod (NM), fue utilizado por Marcus *et al.*, [15] para simular las variaciones en los procesos de biopelícula mientras modificaban un conjunto de parámetros como la conductividad, densidad celular, rendimiento de biomasa y velocidad de desprendimiento. Esas simulaciones ilustran que la conductividad de la biopelícula juega un papel mayor en flujo de donadores de electrones, el tipo de limitaciones en la biopelícula y la distribución de la biomasa. Los autores concluyeron que elevadas conductividades de biopelícula promueven la formación de una biopelícula más electroquímicamente estable..

1.3.3.4 Otros estudios de Modelación

Wen y colaboradores [95], modelaron la curva de polarización para una CCM que emplea sustratos provenientes de los residuos de una cervecería. El modelo predice las pérdidas de potencial aportadas por los análisis de las curvas de polarización: anódicas, catódicas, óhmicas y de concentración, con un nivel de confiabilidad del 95%. También emplearon la ecuación de Tafel para describir las pérdidas de activación y una ecuación algebraica para describir las pérdidas por transferencia de masa.

Pinto y colaboradores [96], desarrollaron un modelo que describe la competencia de dos poblaciones microbianas: anodófilas y metanogénicas por el acetato en una (CCM). La solución del modelo proporciona expresiones para el crecimiento de las bacterias exoelectrógenas en el compartimento anódico. El análisis de las simulaciones demuestra la influencia de las condiciones de operación en el rendimiento de la CCM y sugiere maneras para maximizar la producción de energía en una CCM.

Hamelers y colaboradores [98], publicaron un trabajo de modelación para explicar las observaciones realizadas previamente [97], este trabajo se basa en cinética enzimática, y asume que las concentraciones de los mediadores redox intracelulares son las responsables de la transferencia de los electrones a la superficie del electrodo, *Hamelers et al.*, [98] emplearon la ecuación de Butler-Volmer y la combinaron con la cinética de Michaelis-Menten para explicar los resultados experimentales arrojados por las curvas de polarización. El modelo fue comparado con la expresión Nernst-Monod y los autores encontraron que la ecuación Butler-Volmer-Monod tiene a la ecuación Nernst-Monod como límite reversible [98].

1.3.4 Estimación de Parámetros

Uno de los principales problemas que surgen al hacer modelación es el hecho de no conocer algunos parámetros, aunque a veces los valores pueden ser obtenidos de la literatura, este problema se hace más complejo al no contar con información suficiente sobre las variables. Esto ocasiona que el problema sea precisamente la estimación de los parámetros a partir de los escasos datos experimentales.

Alavés y López [111] presentaron de manera formal el problema de estimación de parámetros de la siguiente manera:

Dada una tabla o conjunto de datos experimentales:

$$T = \left\{ (t_i, y_i) \in [t_0, T] \times \mathbb{R}^n \mid y_i = \phi(t_i; t_0, \eta, \beta) + \epsilon_i, i = 0, \dots, n \right\} \quad (1.51)$$

Donde $\epsilon_i \in \mathbb{R}^n$ representan los errores en las observaciones y_i estadísticamente independientes e idénticamente distribuidos con media cero y varianza σ^2 , de valores observados de la solución:

$$y(t) = \phi(t; t_0, \eta, \beta), t \in [t_0, T] \quad (1.52)$$

en los instantes $t_i, i = 0, \dots, n$, en $[t_0, T]$ del problema de valor Inicial,

$$y = f(t, y, \beta), y(t_0) = \eta \quad (1.52a)$$

Donde $f: D \times \pi_1^{-1}(\Theta) \rightarrow \mathbb{R}^n$ es continua, con $\pi_1^{-1} \begin{pmatrix} \beta \\ \eta \end{pmatrix} = \beta, D \subset \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n$ y $\Theta \subset \mathbb{R}^p \times \mathbb{R}^n$

Como conjuntos abiertos.

En principio $\theta \in \Theta$ con $\theta^T = (\beta^T, \eta^T)$ tiene un valor teórico exacto θ^* , pero desconocido. El problema matemático consiste en hallar una estimación $\hat{\theta} \in \Theta, \hat{\theta}^T = (\hat{\beta}, \hat{\eta})$, para θ^* de tal

manera que la solución $y(t) = \varphi(t; t_0, \eta, \beta)$ de la (ecuación 1.52a), sea la que mejor se ajuste a los datos experimentales de la tabla T.

La solución de un problema de estimación de parámetros según Alavez-López, [111] se presenta en dos partes:

1. Identificar θ^* empleando mínimos cuadrados, es decir, dar condiciones suficientes para garantizar la existencia de al menos una solución θ^* del problema de mínimos cuadrados siguiente:

$$\text{Encontrar } \hat{\theta} = \operatorname{argmin}_{\theta \in \Theta} g(\theta) \quad (1.53)$$

Donde

$$g(\theta) = \frac{1}{2} \sum_{i=0}^m \|y_i - \varphi(t; t_0, \eta, \beta)\|^2 W_i \quad (1.54)$$

con $\theta = (\beta^T, \eta^T)^T \in \Theta$ y $W_i = \operatorname{diag}(w_{i,1}, w_{i,2}, \dots, w_{i,n})$ es la matriz de pesos en el dato y_i con $w_{i,j} > 0$, para $i = 0, \dots, m$ y $j = 1, \dots, n$, y $\|z\|_{W_i}$ en la sumatoria es la norma euclidiana sobre

$$\mathbb{R}^n, \|z\|_{W_i}^2 = \sum_{j=1}^n w_{i,j} |z_j|^2. \quad (1.55)$$

2. Encontrar una estimación $\hat{\theta} = (\hat{\beta}, \hat{\eta})^T \in \Theta$ para θ^* de tal manera que la solución $\varphi(t) = \varphi(t, t_0, \hat{\eta}, \hat{\beta})$ del problema en (1.51), sea la que mejor se ajuste a los datos experimentales de la tabla T.

1.3.4.1 Algoritmos Genéticos

Esta técnica computacional fue diseñada por Goldberg [114] para encontrar la solución óptima de un conjunto de posibles soluciones para un problema, las cuales son seleccionadas para la reproducción, con más oportunidades para los mejor adaptados al ambiente, los cuales serán los padres de la nueva generación (hijos). Durante la reproducción, los nuevos individuos de la población sufren mutaciones e intercambio genético de los padres. Una vez que se renueva la población, el proceso se reinicia. La evolución de las soluciones, tiene lugar a nivel de los individuos y sus características (fenotipo) y luego a nivel de la información genética (genotipo), esto se logra a través de los operadores que intercambian y varían la información genética [112,113].

Ison [112] y Maroto [114], indican que cada solución potencial se asocia con un valor de aptitud, el cual mide que tan buena es ésta comparada con las otras soluciones de la población. La estructura de algoritmo genético simple se presenta a continuación:

Algoritmo 1 Esquema Genético Simple

Inicializar Población

Mejor ajuste = Evaluar (Población)

Mientras Mejor Ajuste < Ajuste Requerido hacer

Selección = Seleccionar (Población)

Población= Cruzar y Mutar (Selección)

Mejor Ajuste = Evaluar (Población)

fin mientras, Fin

Operadores de Evolución: Selección, Cruce y Mutación

Goldberg [114], puntualiza definición esencial de los algoritmos genéticos como el principio de la Selección Natural, para lo cual los principales operadores son

1. Selección.
2. Mutación.
3. Cruce.

Existe una diversidad de maneras en la cual la selección se puede llevar a cabo. Se sabe que en la naturaleza no se seleccionan simplemente a los mejores, por ello, los métodos de selección no están relacionados completamente con el valor de la aptitud de cada individuo sino a través de operadores probabilísticos, uno de ellos es el Método de selección por ruleta [112, 113]. Esta selección, consiste en asignar a cada individuo una porción de la ruleta que es proporcional a su aptitud. Aleatoriamente, hacemos rodar la ruleta y el favorecido es seleccionado para ser padre en la próxima generación, el algoritmo se expresa como sigue:

Algoritmo 2 Método de Selección de Ruleta

sumaF = suma de todos los ajustes

sumaR = rand(0,1)sumaF

sumaP = 0

```

j=0
mientras sumP < sumR hacer
j = j+1
sumP = sumP + ajuste (j)
fin mientras
Seleccionado = j, Fin

```

La mutación trabaja invirtiendo los grupos de genes con una probabilidad p_m muy baja donde tiene lugar una distribución de probabilidad normal en toda la población. Ison [112] indica que el número de mutaciones por individuo puede ser fijado de acuerdo a la probabilidad elegida. En los casos más simples se da la posibilidad de mutar sólo un alelo por individuo o se distribuye uniformemente sobre todo el cromosoma. El papel fundamental de las mutaciones es no dejar que todos los individuos de la población se conviertan en malas soluciones, es decir, que caiga en mínimos locales, para esto, permiten que constantemente se redistribuya la población sobre el espacio de búsqueda.

La cruce es un operador que, en el caso más sencillo, actúa sobre dos cromosomas para obtener otros dos, se elige un punto de cruce al azar y se intercambia el material genético correspondiente.

A continuación se presenta el algoritmo para el cruzamiento simple.

Algoritmo 3 Cruzamiento y Mutación

```

cruza =rand (1,Largo del cromosoma-1)
para j=1 hasta cruza hacer
Hijo1j= Mutar (Padre1j)
Hijo2j = Mutar (Padre2j)
fin para
para j=cruza hasta Largo del Cromosoma hacer
Hijo1j= Mutar (Padre2j)
Hijo2j = Mutar (Padre1j)
fin para
fin

```


CAPÍTULO 2

Metodología

2.1 Descripción del sistema experimental y condiciones de operación

Para el análisis del desempeño de sistemas CCM tipo PEM se propuso cuatro fases de estudio según la metodología descrita en Sánchez [115], Tabla 2.1

Fases de estudio	Días	DQO	pH	Densidad de Corriente
1	0-66	Si	Si	Si
2	67-81	Si	Si	Si
3	82-109	Si	Si	Si
4	110-149	Si	Si	Si

Tabla 2.1. Fases y análisis planteados para el presente estudio, DQO =Demanda Química de Oxígeno.

El modelo matemático propuesto en esta tesis se basa en los procesos cinéticos que tienen lugar en la cámara anódica de una CCM tipo PEM. La CCM fue fabricada en acrílico con un volumen total de 250 ml (volumen de operación: 115 ml tanto para la cámara anódica como para la catódica) separadas por una membrana Nafión 117[®] que posee un área efectiva de 18.9 cm² [17, 34]. El material del ánodo fue tela de carbón, con geometría rectangular. El cátodo consiste de carbón activado granular (30 gr, sin catalizador) depositado en una bolsa de acero inoxidable que se empleó como colector (ver figura 2.1).

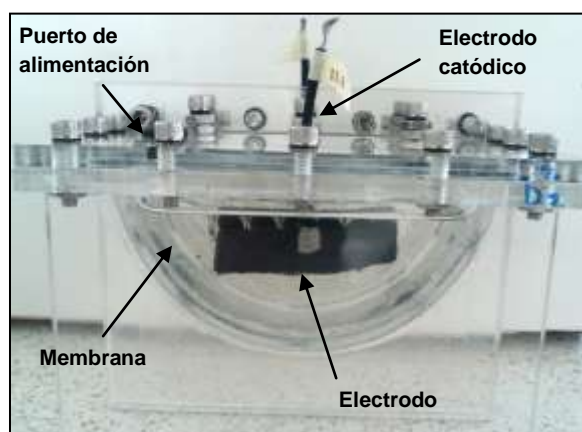


Figura 2.1 Diseño de CCM propuesto para este estudio.

Las tapas de las celdas cuentan con varios puertos, para la alimentación, para muestreo y ubicación de los electrodos empleados en las pruebas electroquímicas.

En la cámara anódica se empleó la siguiente composición: Na_2HPO_4 , 4.09 g L^{-1} y $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 2.93 g L^{-1} [75]. Se mantuvo un pH cercano al neutro, empleando un buffer de KHCO_3 y K_2CO_3 con una concentración (0.2 M) de acuerdo a Fan [105] y Puig [106].

Para la cámara catódica se empleó un buffer de fosfato de potasio (50 mM) como cátolito de acuerdo con Yuang [105] y Erable [108], manteniendo un pH de 4-5 (ajustado con buffers de KHCO_3 y K_2CO_3 0.2 M). Para la reducción catódica se suministró aire mediante una bomba (RESUN, mod. AC-9602). El Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) fue de 24 h y temperatura de trabajo de $27^\circ\text{C} \pm 2$.

Se iniciaron las CCM con un 20 de Agua Residual Sintética (ARS) y un 80% de inóculo mixto sin estabilizar ($131 \text{ g de biomasa L}^{-1}$) y 20 mL de ARS, respecto al volumen de operación. Se alimentó cada 24 hrs con ARS con acetato (6 g/L) como fuente de carbono [99].

2.2 Densidad de corriente

La densidad de corriente de la CCM se calculó diariamente, mediante un Multímetro Fluke (Modelo 117) a través de una resistencia externa de 1000Ω . La corriente generada en la CCM se calculó empleando la ley de ohm (Ecuación 1.1) como:

$$I_{CCM} = \frac{V_{CCM}}{A_e R_{ext}}$$

Donde

I_{CCM} : es la densidad de corriente de la celda (A m^{-2});

V_{CCM} : voltaje de la celda (V);

A_e : área del ánodo (m^2);

R_{ext} : resistencia externa (Ω).

2.3 Eficiencia coulombica

La eficiencia coulombica se calculó empleando la ecuación (1.7).

$$E_c = \frac{M_s \int_0^{tb} I dt}{F b_{es} v_{An} \Delta c}$$

2.4 pH y DQO

El pH de la solución fue medido cada 24 hrs con un potenciómetro (Thermo Orion, Mod. 350). Para los análisis de DQO, las muestras se obtuvieron del efluente de la cámara anódica durante cada una de las cuatro fases propuestas indicadas en la tabla (2.1), y se analizaron mediante la técnica de oxidación con dicromato de potasio de solución digestiva para reactivo de DQO de alto rango de 0 a 15,000 ppm, empleando un equipo DRB 200 Hach y un colorímetro Thermo Electron Corporation ORION AQUAfast IITM [110].

2.5 Simulaciones numéricas

2.5.1 Consumo de sustrato

Para las simulaciones del consumo de sustrato se empleó la ecuación (2.1) para convertir los datos experimentales de densidad de corriente eléctrica en concentración de sustrato en función del tiempo, de acuerdo con Logan [125].

$$j = -\frac{dS}{dt} n F E C \tag{2.1}$$

Donde

j = densidad de corriente de la CCM ($A m^{-2}$)

S = concentración de sustrato en función del tiempo ($g L^{-1}$).

n = número de electrones por mol de sustrato

F es la constante de Faraday ($96485 C mol^{-1}$)

EC , es la eficiencia coulombica del sistema (Adimensional)

Para transformar los datos de densidad de corriente a información que empleamos para las simulaciones numéricas, despejamos el término ($dS dt^{-1}$) de la ecuación 2.1 para obtener:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{I}{nFEC} \quad (2.2)$$

La cinética de consumo de sustrato en función de la corriente eléctrica.

Empleamos la relación entre el consumo de sustrato y la cinética de crecimiento, expresada en proporción al consumo del sustrato [125]

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dX}{dt} \quad (2.3)$$

La ecuación (2.3), Se empleó para calcular la producción de bacterias exoelectrógenas [125].

Las ecuaciones 2.2 y 2.3 fueron empleadas en el desarrollo del modelo matemático, incluidas en balances de masa para el sustrato y las bacterias.

2.6 Metodología de la modelación matemática

La modelación matemática en este trabajo consiste en la formulación de tres modelos matemáticos. El primero, se construyó para modelar el $pH_{anódico}$ en función del tiempo, realizando un ajuste de parámetros involucrados por medio del software LabFit versión 1.2.3.

El segundo modelo describe la Cinética de consumo de sustrato, producción de biomasa y producción de electricidad. El tercer modelo, fue desarrollado para simular la cinética del crecimiento del espesor de la biopelícula y los gradientes de sustrato y microorganismos en el interior de la misma.

Los tres modelos describen los procesos cinéticos que tienen lugar en la cámara anódica de una CCM tipo PEM, donde el sustrato es el donador de electrones (S), la concentración de los microorganismos es (X), y el espesor de la biopelícula es (L_f).

Consideraciones generales de los tres modelos

En la cámara anódica se encuentra un electrodo que acepta los electrones de la oxidación del sustrato donador. Se considera al acetato como única fuente de carbono. La cinética de consumo de sustrato sigue una cinética de Monod modificada, como función del $pH_{anódico}$, el cual a su vez, se relaciona con la velocidad específica de consumo de sustrato (q). Finalmente, los electrones que llegan a la superficie del electrodo son transferidos desde las bacterias hasta la superficie del electrodo empleando un mecanismo combinado de mediadores intracelulares y conducción por nanocables (figura 2.5).

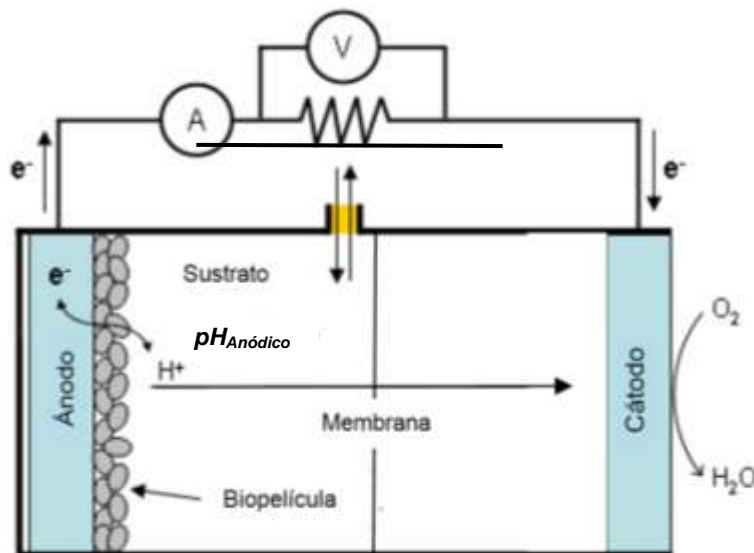


Figura 2.5 Cámara anódica de la celda de combustible microbiana, [125].

El modelo propuesto se resume en la figura 2.6, donde se presenta un esquema de los pasos de la modelación que se realizó en este trabajo. Se definieron las variables de estado dentro del reactor. Se identificaron los procesos cinéticos como son el consumo del sustrato, crecimiento de bacterias, producción de electricidad y crecimiento de la biopelícula anódica, que controlan el funcionamiento de la celda.

Los balances de masa fueron planteados en condiciones estacionarias, para cada uno de los componentes del modelo y se obtuvieron las ecuaciones diferenciales (ED) que definen el sistema. Las cuales se incorporaron a un programa informático para su solución numérica **MATLAB 2011**[®], con las rutinas de solución **ode23** para soluciones de

sistemas tipo Stiff (la cual es una ecuación diferencial cuya solución puede ser inestable) de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO).

El modelo matemático está constituido por las EDO, los métodos de solución y los algoritmos de programación para su solución. El problema planteado nos lleva a resolver un problema de valor inicial. Definiendo las condiciones iniciales de las ecuaciones, se realizó la validación del modelo propuesto empleando los datos experimentales. Con los parámetros encontrados finalmente se realizó la simulación del crecimiento de la biopelícula anódica.

Los parámetros estimados, fueron utilizados para validar los resultados aportados por la simulación y compararlos con las mediciones experimentales. Para ello se empleó la rutina *Iscurvefit* incorporada en Matlab, junto con la implementación de un algoritmo genético modificado tomado de un estudio previo realizado por Blanco Cocom [118]

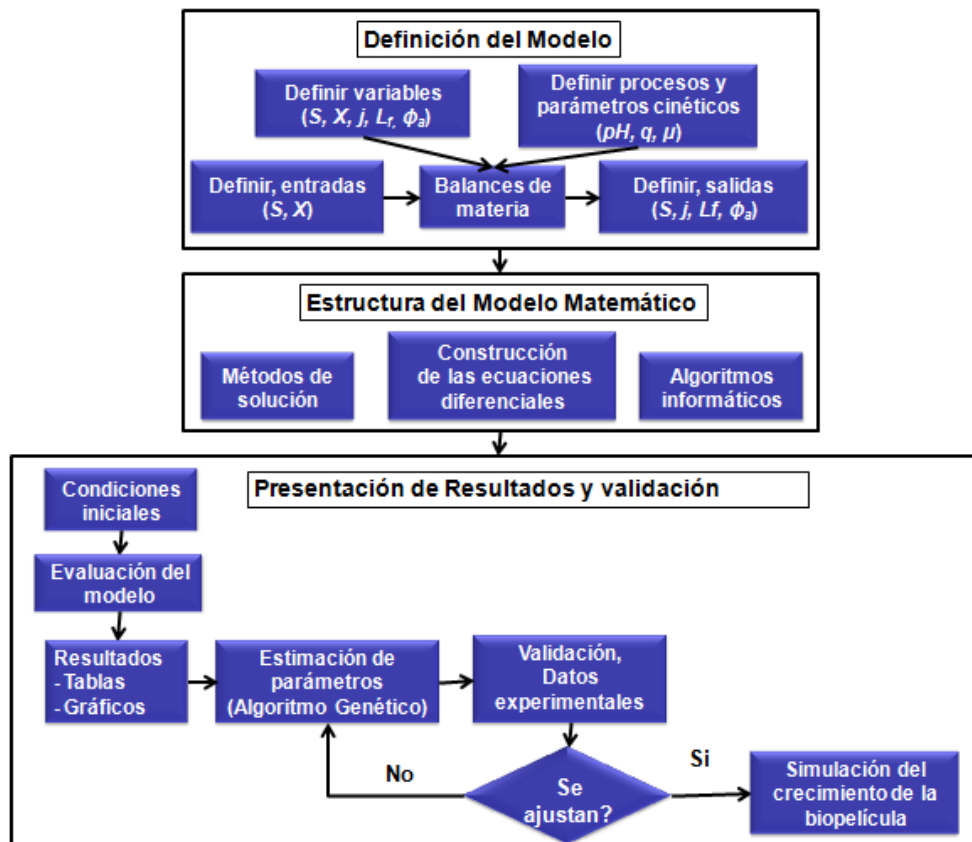


Figura 2.6 Esquema general de modelación modificado de Escalas [126], S = concentración del sustrato ($g L^{-1}$), X = concentración de bacterias ($g L^{-1}$), ϕ_a = fracción de bacterias activas, j = densidad de corriente eléctrica ($A m^{-2}$), L_f = espesor de la biopelícula (μm), $pH = pH_{anódico}$, q = velocidad de consumo de sustrato ($g L^{-1} día^{-1}$), $\mu = (g L^{-1} día^{-1})$.

2.6.1 Estimación de Parámetros a través de un Algoritmo Genético

La propuesta de algoritmo genético presentada en este trabajo, fue realizada siguiendo el esquema presentado por Alavez [111]. Se comienza generando de manera aleatoria una población inicial P de tamaño N , donde cada individuo de la población es un vector, es decir, se genera un conjunto de posibles valores que resuelven el problema de minimización indicado. Debido a que este conjunto posiblemente se encuentre lejos de la solución óptima, incrementamos la búsqueda de la mejor estimación a θ^* aplicando el método de optimización local presentado en la ecuación (1.54), con ello hallamos una nueva solución $\hat{\theta}_i$, la cual será mejor que la anterior, pues ésta estará más cerca de un mínimo local. Se calcula la aptitud de los individuos de la población para poder conocer que tan bueno es el nuevo conjunto de soluciones. Para medir la aptitud de cada individuo se utiliza la función:

$$f(\hat{\theta}) = \frac{1}{\text{residual}_i} \quad (2.4)$$

Tomada del estudio realizado por Blanco [118]. Donde residual, es el residual que se obtiene al optimizar el sistema (Ecuación 1.52a) mediante la rutina **lscurvefit** de **MATLAB**, asociada a la solución obtenida θ_i .

Ahora, siguiendo el esquema presentado por Alavez y sus colaboradores [111], definimos la codificación genética o cromosoma del individuo θ_i como un arreglo consecutivo de m genes, uno para cada una de las entradas de θ_i . Este arreglo se construye normalizando cada entrada según el intervalo donde puede variar el valor del gen y guardando los primeros s decimales. Por ejemplo, para un vector con dos entradas $\theta_i = (0,5, 1,34) \in \{[0, 1] \times [0, 2,35]\}$, la normalización resulta el par $(0,5/1, 1,34/2,35) = (0,5, 0,57021276\dots)$ (fenotipo). La identificación del individuo con su cromosoma resulta, usando las primeras k cifras significativas, digamos $k = 4$, entonces $(0,5, 1,34) \rightarrow [50005702]$, obteniendo el genotipo del individuo. En este espacio genético se pueden aplicar los operadores de cruzamiento y mutación. Una mutación será el reemplazo de cualquiera de los km números del cromosoma por otro (esto para nuestro ejemplo de $k = 4$ y $m = 2$), por ejemplo $[23126675] \rightarrow [23026675]$. El cruzamiento consiste en el intercambio, a partir de cualquier posición de la información de los cromosomas de los individuos seleccionados, por ejemplo, $[12345678] + [87654321] \rightarrow [12354321]$.

Una vez realizada la mutación y cruza, se regresa la información del genotipo al fenotipo y se obtiene a la nueva población de posibles soluciones P_s . Posteriormente se aplica nuevamente el algoritmo de optimización para evolucionar a la población y enseguida se calcula la función fitness para la población. Con esto, el algoritmo genético se adapta al problema y este proceso se termina hasta que se haya llegado al número de generaciones deseadas.

2.6.1.1 Implementación en Matlab

El pseudocódigo del algoritmo genético utilizado para la estimación de los parámetros en este trabajo siguiendo la metodología de Ison y sus colaboradores [112] se presenta en el algoritmo 4 donde:

1. Ngen = es el número de generaciones deseadas.
2. Nind = es el número de individuos en la generación θ .
3. Ngenes = es el número de genes de cada cromosoma.
4. Longitud = es la longitud de los genes.
5. Rango = es una matriz de $2 \times Ngenes$ que contiene los intervalos de búsqueda de los parámetros a estimar.
6. P_c y P_m , son la probabilidad de cruce y la probabilidad de mutación, θ^* , la mejor aproximación entre la población final.

Algoritmo 4 Pseudocódigo (adaptación a EDO's por Blanco Cocom [118])

Inicializar aleatoriamente la población θ y parámetros [Ngen, Nind, Ngenes, Longitud, Rango, P_c , P_m ,]

Leer sistema de ecuaciones diferenciales $\dot{y} = f(t, y, \theta)$

Leer la tabla T de datos Experimentales

para iter = 1 **hasta** Ngen **hacer**

para i = 1 **hasta** Nind **hacer**

Tomar θ_i como valor inicial para optimizar el sistema de EDO's

Hacer [θ_i , residual] \leftarrow optimización (EDO's, T, θ_i)

Hacer rank (i) = 1/residual

fin para

aptitud (iter) = suma(rank)

Asignar n \leftarrow genotipo (θ)

Seleccionar y Mutar a la población n con probabilidad P_c y P_m

Asignar $\theta \leftarrow$ fenotipo(n)

fin para

Tomar θ_i como valor inicial para optimizar el sistema de EDO's

Hacer [θ_i , residual] \leftarrow optimización (EDO's, T, θ_i)

Seleccionar la θ^* con menor residual entre la población θ

Graficar el resultado comparado con T, **Fin**

Esta versión modificada del algoritmo genético ha sido aplicada para la estimación de los parámetros de un modelo matemático para un sistema en continuo de generación de hidrogeno biológico, trabajo desarrollado por Blanco Cocom [118].

2.7 Modelos matemáticos

2.7.1 Modelo 1: $pH_{anódico}$ en función del tiempo.

Nomenclatura

i = corriente eléctrica (A)

Q = carga eléctrica (Coulombs).

$a=W$, intervalo de oscilación del pH (pH).

$b=k_{\theta^m}/r^{\circ}$ = relación entre la transferencia de masa entre ambas cámaras y la reactividad del buffer de la solución.

$B(t)$ = la concentración del buffer de la solución en el tiempo ($g L^{-1} día^{-2}$).

A , B y C son constantes de ajuste dimensionales, ($días$, $días^{-1}$ y $días^{-2}$) respectivamente.

r° = reactividad del buffer de la solución en relación a la cinética de consumo de sustrato (Adimensional).

r_B = constante de equilibrio para la disociación del ácido carbónico ($g L^{-1}$).

q = velocidad específica de consumo de sustrato ($g L^{-1} día^{-1}$).

k_{θ^m} = relación entre los coeficientes de transferencias de cationes y aniones a través de la membrana ($K_{m,H} / K_{m,OH}$).

$K_{m,H}$ = coeficiente de transferencia de masa para los protones que atraviesan la membrana ($m s^{-1}$).

$K_{m,OH}$ = coeficiente de transferencia de masa para iones oxidrilo generados OH^- generados en la cámara catódica y que atraviesan la membrana ($m\ s^{-1}$).

$Y_{X/S}$ = rendimiento de producción de biomasa por unidad de sustrato consumido (g de bacterias/g de sustrato).

Diversos sistemas físicos se pueden describir con una ecuación diferencial lineal de segundo orden semejante a la de las oscilaciones forzadas con amortiguamiento.

Si $i(t) = dQ/dt$ representa la corriente en el circuito eléctrico en serie LRC = Inductancia – Resistencia - Capacitancia, luego entonces otros fenómenos que presentan un comportamiento similar, pueden ser descritos a partir de estas leyes físicas.

De acuerdo con la segunda ley de Kirchhoff [86], la suma de las caídas como resultado de cada uno de estos elementos, es igual al voltaje $E(t)$ aplicado al circuito; esto es

$$L \frac{d^2Q}{dt^2} + R \frac{dQ}{dt} + \frac{1}{C} Q = E(t) \quad (2.5)$$

La ecuación (2.5), revela que la carga eléctrica Q presenta un perfil de oscilación que tiende a un valor estable a medida que el $t \rightarrow \infty$, asimismo, este proceso se encuentra influenciado por los parámetros inductancia (L), resistencia (R) y capacitancia (C).

Ahora reinterpretando el significado de este proceso para el pH de la solución, observamos que ahora es el pH quien presenta un comportamiento oscilatorio. Las constantes L , R y C en la ecuación (2.5) fueron reemplazadas por k_0^m , r^p y $Y_{X/S}$ respectivamente, que representan los procesos que modifican el pH de la cámara anódica, la ubicación de cada uno de estos parámetros dentro de la ecuación diferencial (2.5), se eligió considerando lo siguiente:

1.- la inductancia (L) de un sistema eléctrico indica la inercia de un sistema eléctrico hacia cambios de voltaje, por lo tanto se emplea el parámetro (k_0^m) que indica la inercia del sistema hacia el cambio del pH.

2.- la resistencia (R) del sistema se relaciona con la oposición al paso de la corriente, por lo que se reemplaza por el parámetro (r^o) que indica la oposición del sistema sobre el cambio del pH, por efecto del buffer de la solución.

3.- La capacitancia (C) del sistema se relaciona con la disponibilidad del sistema para almacenar y liberar energía, por lo que el parámetro $Y_{X/S}$, se relaciona con la capacidad del sistema para regular su pH sin agentes externos, como el buffer, por acción única de las bacterias.

Reemplazamos los las constantes L , R y C en la ecuación (2.5) por r^o , k_0^m y $Y_{X/S}$ que representan los procesos que modifican el pH de la cámara anódica, por lo que la ecuación (2.5) queda como

$$Ak_m^o \frac{d^2 pH}{dt^2} + Br^o \frac{dpH}{dt} + C \frac{1}{Y_{X/S}} pH = B(t) \quad (2.6)$$

Donde
$$k_0^m = \frac{k_{m,OH}}{k_{m,H}} \text{ y } r^o = \frac{r_B}{q} \quad (2.6a)$$

La ecuación diferencial para el cambio del pH en el tiempo nos queda de manera explícita como sigue:

$$A \left(\frac{k_{m,OH}}{k_{m,H}} \right) \frac{d^2 pH}{dt^2} + B \left(\frac{r_B}{q} \right) \frac{dpH}{dt} + C \frac{pH}{Y_{X/S}} = B(t) \quad (2.7)$$

El primer término de la ecuación (2.7) indica la inercia del sistema hacia el cambio del pH, resultado del efecto del Buffer de la solución, el cual reacciona con los iones (H^+) que poseen una velocidad de reacción (r_B). La concentración de los iones (H^+) es resultado de la velocidad de consumo del sustrato (q). El segundo término de la ecuación indica la relación entre los coeficientes de transferencias de cationes y aniones a través de la membrana $k_0^m =$ (Adimensional), ya que existe evidencia en la literatura de un flujo cruzado de ambos tipos de iones tanto protones (H^+) como oxidrilos (OH^-) a través de la membrana, incluso empleando una membrana catiónica y que esto tiene un efecto importante sobre los cambios del pH de ambas cámaras de la CCM [140]. El tercer

término de la ecuación (2.7), se asocia a los cambios del pH resultado del aumento de la población de las bacterias presentes en la cámara anódica, y se representa con el rendimiento de producción de bacterias por unidad de sustrato consumido ($Y_{X/S}$).

La ecuación 2.7 es una ecuación diferencial ordinaria de segundo orden, cuya solución analítica desarrollada en este trabajo, es la siguiente:

$$pH(t) = ae^{-bt} \cos(ct + d) + pH_{opt} \quad (2.8)$$

Donde

a = intervalo de oscilación del pH (pH).

$b = k_0^m / r_0$ = relación entre la transferencia de masa entre ambas cámaras y la reactividad del buffer de la solución.

$c = \sqrt{Y_{X/S} / r_0}$ = frecuencia de oscilación del pH.

d = ángulo de desplazamiento sobre el eje X.

pH_{opt} = pH al cual se alcanza la máxima velocidad de consumo de sustrato.

La derivación completa de ecuación (2.8) se presenta en el apéndice A

2.7.2 Modelo 2: Cinética de consumo de sustrato, producción de biomasa y producción de electricidad

El modelo consiste en expresiones de velocidad de consumo de sustrato en función del $pH_{anódico}$ y del tiempo, crecimiento de bacterias exoelectrógenas en la cámara anódica y producción de electricidad en la cámara anódica en función del tiempo.

Suposiciones:

- Un consorcio mixto de bacterias exoelectrógenas se desarrolla en la cámara anódica de la CCM siguiendo una cinética modificada tipo Monod de doble saturación, generando una corriente eléctrica como resultado del metabolismo microbiano, cuya única fuente de carbono es el acetato de sodio.
- La corriente generada depende de la concentración de bacterias exoelectrógenas en el consorcio mixto y de la velocidad específica de consumo del sustrato donador (q).

- La tasa de utilización del sustrato donador (q), depende de la concentración del sustrato S y del pH de la solución [102].
- Se asume un mecanismo de transferencia de electrones gobernado tanto por mediadores intracelulares excretados por las bacterias (X) como por nanocables conductores, ya que las densidades de corriente observadas en los experimentos estuvieron del orden de 0.38 mA m^{-2} , son valores reportados intermedios entre estos dos mecanismos de transferencia de electrones, para el caso de sistemas que no emplean platino como catalizador en el cátodo [14, 71].

2.7.2.1 Formulación del modelo

Debido a que en la literatura no se reporta ninguna relación entre el pH anódico de inhibición para bacterias exoelectrógenas y la velocidad de consumo de sustrato en función del $pH_{anódico}$, sumado a que los resultados experimentales para el pH en este trabajo no pueden ser predichos o ajustados satisfactoriamente por los modelos convencionales de crecimiento microbiano, empleamos una función de inhibición derivada de los trabajos de Park y sus colaboradores, Park [102], así como del trabajo realizado por Marcus [100].

El modelo propuesto fue construido empleando una función coseno y basado en la suposición de que la tasa de utilización del sustrato donador por las bacterias exoelectrógenas se aproxima a cero, cuando:

- El valor del pH alcanza un límite superior, es decir, ($pH = pH_{opt} + W$).
- Un límite inferior al óptimo, es decir, ($pH = pH_{opt} - W$).

El pH_{opt} es el pH al cual se observa el valor máximo de $q = q_{max}$. Por lo que el doble del valor de W representa el intervalo de pH en el cual las bacterias consumen el sustrato a una velocidad máxima.

Por lo que la velocidad de consumo del sustrato donador de electrones q como función del pH , está dado por la ecuación (2.9) [102]

$$q(pH) = \frac{q_{max}}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (pH - pH_{opt}) \right) \right) \quad (2.9)$$

Donde

q , = velocidad de consumo del sustrato (día^{-1}),

q_{max} , = velocidad máxima de consumo de sustrato (día^{-1}),

W = es un parámetro para la inhibición del pH

π = es el valor de Pi (3.2416).

pH = es el valor del pH de la solución.

pH_{opt} = pH en el que la velocidad de consumo de sustrato (q) alcanza su valor máximo.

Ahora multiplicamos la ecuación (2.9) por el término de Monod para indicar que la velocidad de consumo se ve limitada por la concentración de sustrato y por los cambios de pH en la solución, para obtener la ecuación (2.10)

$$q(pH) = \frac{q_{max}}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (pH - pH_{opt}) \right) \right) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) \quad (2.10)$$

La ecuación (2.10), es un caso especial de cinética de doble limitación, donde los elementos limitantes son la concentración del sustrato y los cambios en el pH de la solución.

También se vio anteriormente que la expresión que describe la evolución del pH como función del tiempo, está dada por la ecuación (2.8)

$$pH(t) = ae^{-bt} \cos(ct + d) + pH_{opt} \quad (2.8)$$

Tenemos por lo tanto, que incorporando la ecuación (2.8) en la (2.10), obtenemos la ecuación (2.11), que relaciona los cambios oscilatorios del pH con la velocidad de consumo del sustrato:

$$q(pH) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) = \frac{q_{max}}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) \quad (2.11)$$

Donde puede observarse que ahora q depende no solamente del cambio en el pH, sino también del cambio en la concentración del sustrato S .

Seguidamente, introducimos la variable de concentración de bacterias $X(t)$ a la ecuación (2.11), ya que la variación en la concentración de S , se relaciona directamente con la concentración de las bacterias X , obtenemos entonces:

$$q(pH, S, X) = \frac{q_{max}X(t)}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) \quad (2.12)$$

Donde podemos apreciar que la cinética de consumo de sustrato depende de la concentración de bacterias (X), la concentración de sustrato (S) y del pH de la solución.

Ya habiendo establecido la relación entre el pH y la velocidad de consumo de sustrato (q), dicha expresión (ecuación 2.12) se incluyó en el balance de masa y se relacionó con la cinética de consumo de sustrato, así como con la producción de biomasa y la generación de electricidad.

Para el balance de masa se empleó la cinética convencional de Monod, de donde sabemos que la concentración de biomasa presente en la cámara anódica en función del tiempo, depende la velocidad de crecimiento y de la concentración de las bacterias mismas presentes en un instante y la tasa de decaimiento [125], ecuación (2.13)

$$\frac{d}{dt}X(t) = \mu X(t) - k_d X(t) \quad (2.13)$$

Donde

X = concentración de bacterias en el reactor ($g L^{-1}$).

μ = es la velocidad de crecimiento de las bacterias ($día^{-1}$),

Empleando la relación entre la velocidad de consumo de sustrato con la velocidad específica de crecimiento (μ), indicada por Logan [125]

$$\mu = q(pH)Y_{X/S} \quad (2.14)$$

Donde

$Y_{X/S}$ = es el coeficiente de producción de biomasa por unidad de sustrato consumido.

Por lo que la cinética de crecimiento de bacterias Y la relación entre el pH y μ queda:

$$\mu(pH) = \frac{Y_{X/S}q_{max}X(t)}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) \quad (2.15)$$

Ahora incluimos la cinética de crecimiento de las bacterias en función del pH en la ecuación (2.15), por lo que la ecuación diferencial para el cálculo de la velocidad de

crecimiento de las bacterias mixtas en la cámara anódica incluyendo el término del decaimiento endógeno queda expresada como indica la ecuación (2.16):

$$\frac{dX(t)}{dt} = \frac{Y_{X/S} q_{max} X(t)}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S}{S+K_S} \right) - k_d X(t) \quad (2.16)$$

Donde

k_d = constante de decaimiento endógeno (día⁻¹).

Para las simulaciones del consumo de sustrato, se empleó la ecuación (2.3) descrita anteriormente y que a continuación se reescribe:

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dX}{dt} \quad (2.3)$$

Con los resultados de la simulación para el consumo del sustrato (ecuación 2.3), se realizó una simulación para la densidad de corriente empleando la ecuación (2.1), reescrita nuevamente a continuación:

$$j = - \frac{dS}{dt} nFE \quad (2.1)$$

Los parámetros cinéticos: q_{max} , $Y_{X/S}$, K_S , W y K_d que aparecen en las ecuaciones 2.16 y 2.3 fueron estimados empleando la metodología para los algoritmos genéticos descrita anteriormente.

2.7.3 Modelo 3: Espesor de la biopelícula, gradientes de sustrato y biomasa

Empleando la cinética desarrollada en el modelo 2, se procedió a desarrollar un modelo monodimensional similar al propuesto por Marcus [15], para describir el espesor de la biopelícula anódica, así como los gradientes de sustrato y biomasa en el interior de la misma.

La biopelícula anódica crece perpendicularmente a la superficie del ánodo. La interfase de la biopelícula se ubica en $z = 0$, con un espesor L_f (μm). La biopelícula está compuesta de biomasa activa e inactiva, que crece de manera natural en capas uniformes [89, 91].

Suposiciones:

1. La matriz de la biopelícula es un conductor que posee una conductividad, k_{bio} (mS cm^{-1}) [14]. La conductividad de la biopelícula activa e inactiva es la misma [15].

2. La biomasa activa transfiere sus electrones a la matriz de la biopelícula conductiva y solamente deja salir a los electrones generados por la oxidación del sustrato y la muerte endógena.
3. La tasa de utilización del sustrato donador (S) depende de la concentración local del mismo sustrato donador (S) y del $pH_{anódico}$.
4. La biopelícula se encuentra fuertemente adherida al electrodo, la reacción de transferencia de carga desde la matriz de la biopelícula al ánodo es despreciable.
5. La electroneutralidad se mantiene considerando un flujo no limitante de aniones y cationes en la biopelícula, así como despreciando el flujo de aniones y cationes afuera de la biopelícula. De esta manera los iones generados se mueven sin pérdidas óhmicas.

2.7.3.1 Tasa de utilización de sustrato y respiración

Considerando lo establecido por Bae y Rittmann [58] en su modelo de doble limitación de sustrato, que posee tanto un aceptor como un donador de electrones

$$q = q_{max}\phi_a \left(\frac{S_d}{S_d + K_{Sd}} \right) \left(\frac{S_a}{S_a + K_{Sa}} \right) \quad (2.17)$$

Donde

q = tasa específica del consumo del donador ($g-S \ g \ SV^{-1} \ día^{-1}$).

S_d = concentración del sustrato donador de electrones ($g \ L^{-1}$).

K_{Sd} = constante de saturación media para los donadores ($g \ L^{-1}$).

S_a = concentración de los aceptores de electrones ($g \ L^{-1}$).

K_{Sa} = constante de saturación media para los aceptores ($g \ L^{-1}$).

ϕ_a = fracción volumétrica de la biomasa activa (Adimensional),

q_{max} = tasa máxima específica de consumo del sustrato ($g-S \ g-SV^{-1} \ día^{-1}$)

El término para el donador en la ecuación (2.17), sigue una cinética tipo Monod Similar a otros trabajos de la literatura [8, 80, 84]. Para este trabajo empleamos la ecuación descrita en el modelo 2, ecuación (2.12) expresada por un término de Monod convencional y por un término vinculado a la cinética del pH anódico, pero intercambiando la variable $X(t)$ por

ϕ_a para indicar que la cinética se lleva a cabo en el interior de la biopelícula (ecuación 2.18)

$$q(pH) = \frac{q_{max}\phi_a}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S}{S+Ks} \right) \quad (2.18)$$

El crecimiento de la biopelícula se encuentra también influenciado por la respiración endógena a partir de la oxidación del donador de electrones. Así, la velocidad específica de respiración endógena (r_{res} ; día⁻¹) se calcula empleando la siguiente expresión dada en 2.19:

$$r_{res} = b_{res}\phi_a \quad (2.19)$$

Donde

r_{res} = velocidad específica de respiración endógena (día⁻¹)

b_{res} = Coeficiente de decaimiento endógeno para la biomasa activa en el interior de la biopelícula (día⁻¹)

Asimismo, considerando la tasa de inactivación de la biomasa activa como una cinética de primer orden con respecto a ϕ_a [14]

$$r_{ina} = b_{ina}\phi_a \quad (2.20)$$

Donde

b_{ina} = Coeficiente de inactivación de primer orden (día⁻¹).

2.7.3.2 Balance de masa para el sustrato en la biopelícula

Para el cálculo del sustrato donador en la biopelícula, se emplea un balance de masa estacionario que incluye fenómenos de utilización y difusión molecular de sustrato [76]. Inicialmente tomamos la ecuación (2.18) haciéndola dependiente del espacio y del tiempo quedando como sigue:

$$q(pH) = \frac{q_{max}\phi_a(z,t)}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S(z,t)}{S(z,t)+Ks} \right) \quad (2.21)$$

Ahora combinamos la ecuación (2.21) con un proceso de difusión molecular expresado por la segunda ley de Fick, obtenemos la ecuación de difusión-reacción del sustrato en el interior de la biopelícula, ecuación (2.22):

$$\frac{\partial S_d(z,t)}{\partial t} = D_{S,f} \frac{\partial^2 S_d(z,t)}{\partial z^2} - X_{f,a} q(z,t) \quad (2.22)$$

Donde

$D_{S,f}$ = coeficiente de difusión para el sustrato en la biopelícula ($\text{cm}^2 \text{ día}^{-1}$) y

$X_{f,a}$ = densidad de la biomasa activa (g L^{-1})

La ecuación (2.22), es una ecuación diferencial parcial no-lineal de segundo orden. En donde el primer término del lado derecho describe la difusión del sustrato y el segundo término la tasa de oxidación del sustrato donador [14].

Bajo condiciones estacionarias, la cinética de oxidación del sustrato en la ecuación (2.22), contrarresta el decaimiento del gradiente de difusión con el tiempo, de manera que el término del tiempo se hace igual a cero.

$$\frac{\partial S_d(z,t)}{\partial t} = 0 \quad (2.23)$$

Y por lo tanto tenemos que la difusión y la reacción del sustrato en el interior de la biopelícula dependen únicamente del espacio.

$$0 = D_{S,f} \frac{\partial^2 S_d}{\partial z^2} - X_{f,a} q \quad (2.24)$$

En la ecuación (2.24), $D_{S,f}$ es el coeficiente de difusión para el sustrato en la biopelícula ($\text{cm}^2 \text{ día}^{-1}$) y $X_{f,a}$ = densidad de la biomasa activa (g L^{-1}). Empleamos una condición límite de no flujo en la superficie del ánodo (ecuación 2.25)

$$0 = D_{S,f} \left. \frac{\partial S}{\partial z} \right|_{z=0} \quad (2.25)$$

Donde

$D_{S,f}$ = coeficiente de difusión para el sustrato en el líquido ($\text{cm}^2 \text{ día}^{-1}$).

2.7.3.3 Balance de masa para la biomasa en la biopelícula

El balance se realiza siguiendo la metodología del modelo de una biopelícula unidimensional con múltiples especies desarrollado por Wanner y Gujer [91], en donde la

biomasa de la biopelícula se representa mediante la fracción espacial ocupada por dos tipos de bacterias, ecuación (2.26).

$$\phi_a + \phi_i = 1 \quad (2.26)$$

ϕ_a y ϕ_i son las fracciones volumétricas de la biomasa activa e inerte respectivamente. Como las diferentes biomasa compiten por el espacio [91] establecieron las ecuaciones para calcular la fracción de biomasa activa e inactiva en una biopelícula mixta de bacterias, en función de la distancia y el tiempo. Estas ecuaciones son generales para cualquier cinética de reacción que tenga lugar en el interior de la misma, ecuaciones (2.27 y 2.28)

$$\frac{\partial \phi_a(z,t)}{\partial t} + u(z,t) \frac{\partial \phi_a(z,t)}{\partial z} + \phi_a(z,t) \frac{\partial u(z,t)}{\partial z} = \mu_{o_a}(z,t) \quad (2.27)$$

$$\frac{\partial \phi_i(z,t)}{\partial t} + u(z,t) \frac{\partial \phi_i(z,t)}{\partial z} + \phi_i(z,t) \frac{\partial u(z,t)}{\partial z} = \mu_{o_i}(z,t) \quad (2.28)$$

Donde

ϕ_a y ϕ_i = fracciones volumétricas de la biomasa activa e inerte respectivamente.

u = velocidad de desprendimiento de la biopelícula (cm día⁻¹)

z = distancia perpendicular con el sustrato (μm).

μ_{o_a} = tasa neta específica de crecimiento para bacterias activas (día⁻¹).

μ_{o_i} = tasa neta específica de crecimiento para bacterias inactivas (día⁻¹).

Considerando lo anterior, tomamos las ecuaciones (2.27) y (2.28) y reemplazamos las cinéticas de reacción μ_{o_a} y μ_{o_i} por la cinética expresada en la ecuación (2.21) para el consumo del sustrato, la ecuación (2.19) para el decaimiento endógeno y la ecuación (2.20) para la velocidad de inactivación. De esta manera se obtienen las ecuaciones diferenciales para el crecimiento de las bacterias activas e inactivas en la biopelícula, ecuaciones (2.29 y 2.30)

$$\frac{\partial \phi_a(z,t)}{\partial t} + u(z,t) \frac{\partial \phi_a(z,t)}{\partial z} + \phi_a(z,t) \frac{\partial u(z,t)}{\partial z} = Y_{X/S} q - r_{res} - r_{ina} \equiv \mu_a \quad (2.29)$$

$$\frac{\partial \phi_i(z,t)}{\partial t} + u(z,t) \frac{\partial \phi_i(z,t)}{\partial z} + \phi_i(z,t) \frac{\partial u(z,t)}{\partial z} = \frac{X_{f,a}}{X_{f,i}} r_{ina} \equiv \mu_i \quad (2.30)$$

Donde

ϕ_a y ϕ_i = fracciones volumétricas de la biomasa activa e inerte respectivamente

u = velocidad de desprendimiento de la biopelícula (cm día⁻¹)

$Y_{X/S}$ es el rendimiento de producción de biomasa (g-X g-S⁻¹)

$X_{f,ai}$ = Densidad ó concentración de la biomasa inerte (g L⁻¹).

$X_{f,i}$ = concentración de la biomasa inerte (g L⁻¹)

μ_a = velocidad específica de crecimiento de la biomasa activa (día⁻¹)

μ_i = velocidad específica de crecimiento de la biomasa inactiva (día⁻¹)

En este sistema el término izquierdo de cada ecuación describe la conservación de masa de cada tipo de bacterias (activas e inactivas), debido a la acumulación y a la velocidad de advección. El lado derecho de las ecuaciones 2.29 y 2.30 describe la cinética de crecimiento de las bacterias.

La velocidad de advección (u), cambia en respuesta a las tasas netas específicas de crecimiento para la biomasa activa e inerte, ecuación (2.31).

$$\frac{\partial u}{\partial z} = \mu_a + \mu_i \quad (2.31)$$

Wanner y Gujer [91] indican que la velocidad advectiva en cualquier punto, z' , con respecto a la profundidad de la biopelícula puede determinarse mediante la integración de la tasa de crecimiento específica de la biopelícula (ecuación 2.32) desde la superficie adherida al electrodo hasta una distancia (z'), de manera que la expresión en su forma integrada nos queda como:

$$u(t, z') = \int_0^{z'} (\mu_a + \mu_i) dz \quad (2.32)$$

De tal manera que el espesor de la biopelícula cambia en respuesta a la velocidad de advección (ecuación 2.32) y el desprendimiento de la misma, [8]

$$\frac{dL_f}{dt} = u(t, L_f) - b_{des}L_f \quad (2.33)$$

Donde L_f , es el espesor de la biopelícula de bacterias (μm).

En la ecuación (2.33), el segundo término se relaciona con la pérdida de biomasa debida al desprendimiento, con una tasa de primer orden b_{des} (día⁻¹).

2.7.3.4 Resumen del modelo 3

La tabla 2.2 indica las relaciones entre las tres variables del modelo de biopelícula (ϕ_a , ϕ_i y S) y los tres procesos cinéticos (utilización del sustrato, inactivación de biomasa y respiración endógena

Proceso	Tipos de biomasa		Sustrato	Ecuación cinética
	ϕ_a	ϕ_i	S	$q = \frac{q_{max}\phi_a(z,t)}{2} \left(1 + \cos \left(\frac{\pi}{W} (ae^{-bt} \cos(ct + d)) \right) \right) \left(\frac{S(z,t)}{S(z,t) + K_S} \right)$
Utilización	Y	0	$-X_a$	
Inactivación	-1	X_a/X_i	0	$r_{ina} = b_{ina}\phi_a$
Respiración	-1	0	0	$r_{res} = b_{res}\phi_a$

Tabla 2.2. Resumen de las ecuaciones empleadas para el modelo de biopelícula, X_a y X_i = concentración de bacterias activas e inactivas respectivamente.

2.7.3.5 Parámetros del modelo 3

Símbolo	Descripción	valores	unidades	Referencia
q_{max}	Tasa máxima de consume de sustrato	0.1504	mol S g día ⁻¹	Estimado
K_S	Concentración de saturación media	0.0847	mol S cm ⁻³	Estimado
b_{ina}	Coefficiente de inactivación para biomasa activa	0.05 ^{a)}	día ⁻¹	Asumido
b_{res}	Coefficiente de decaimiento para biomasa activa	0.05 ^{a)}	día ⁻¹	Asumido
$D_{S,l}$	Difusividad del acetato	0.941	cm ² día ⁻¹	[129]
$D_{S,f}$	Difusividad del sustrato en la biopelícula	0.753	cm ² día ⁻¹	80 % de $D_{S,l}$ ^{b)}
W	Intervalo de oscilación para el pH	1.2986	pH	Estimado
Y	Rendimiento de producción de biomasa	1.002	mol X mol S ⁻¹	Estimado
$S_{, liquido}$	Concentración de sustrato en el liquido	0.0847	mol S cm ⁻³	Concentración inicial de S, determinada experimentalmente

Tabla 2.3 Parámetros empleados para el modelo de la biopelícula.

a) Los coeficientes de decaimiento-inactivación, b_{ina} y b_{res} , de 0.05 día^{-1} caen en el intervalo medio para bacterias anaerobias [53].

b) comúnmente el coeficiente de difusión en la biopelícula es cerca del 80 % de $D_{s,l}$ [76].

En la tabla 2.3 se presentan los parámetros empleados para la simulación del crecimiento de la biopelícula anódica para este estudio, los parámetros de los coeficientes de difusión del acetato en el líquido ($D_{s,l}$) y en el interior de la biopelícula ($D_{s,i}$), fueron tomados de, el trabajo de Marcus y colaboradores [14] al igual que los coeficientes de decaimiento endógeno (b_{res}) y respiración de la biomasa activa (b_{ina}).

2.7.3.6 Solución del modelo de biopelícula empleando AQUASIM

Para las simulaciones del crecimiento de la biopelícula, se seleccionó como herramienta informática el programa AQUASIM 2.1d (versión demo), desarrollado por el Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG). AQUASIM está diseñado para realizar simulaciones unidimensionales transitorias de sistemas acuáticos. Su principal ventaja es que posee las ecuaciones de conservación para diversos tipos de sistemas, por lo que únicamente se requiere proporcionar las condiciones de operación y un modelo de conversión que pueda ser ajustado y corregido para ajustarse a las mediciones experimentales [124]. La metodología de implementación del modelo de biopelícula en AQUASIM, se presenta en el apéndice B.

CAPITULO 3

Resultados y discusiones

Con base en el análisis de los datos experimentales se presentan los siguientes resultados.

3.1 Remoción de DQO

Para el análisis de la remoción de DQO las muestras se tomaron durante las cuatro fases de experimentación (tabla 2.1). La eficiencia de remoción se mantuvo entre un intervalo de 85-90 % reportado de la siguiente manera: fase I: 93%; fase II: 90%; fase III: 84.6% y fase IV: 86.5%, dichos resultados están en concordancia con lo reportado en la literatura para CCM sin catalizador [116, 117], que reportan valores de 62.86% (ver figura 3.1). Considerando que el aumento en el espesor de la biopelícula incrementa la concentración de materia orgánica en el reactor, es de esperarse observar una disminución en los valores de remoción de DQO para las fases III y IV.

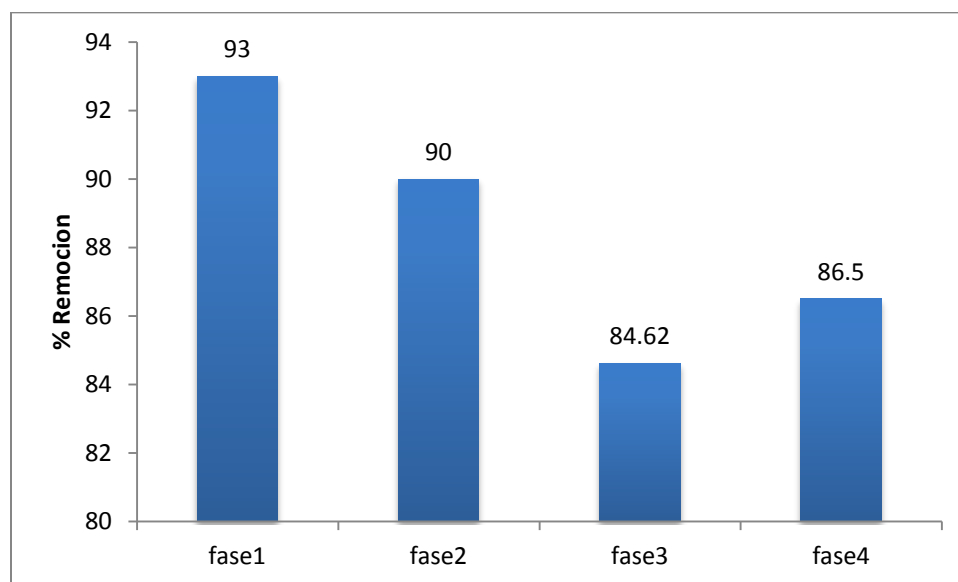


Figura 3.1 Remoción de carga orgánica expresada en % de DQO, para cada fase.

3.2 Modelo matemático

En este apartado se presentan los resultados de las simulaciones correspondientes a los tres modelos descritos anteriormente y su discusión con base al análisis de los datos experimentales.

3.2.1 pH en función del tiempo

En la figura 3.2 se presenta el promedio de los valores de pH de las 12 CCM que pertenecen al experimento completo. Se observan oscilaciones en el tiempo, esto debido a una tendencia del sistema hacia alcanzar condiciones estacionarias de pH, el cual, presentó en promedio un valor de 6.9. Observaciones similares sobre el comportamiento oscilatorio del pH anódico fueron obtenidas en trabajos de investigación previos [13, 100, 102], donde se indica que dichas oscilaciones se deben a tres procesos principales: la transferencia de iones a través de la membrana Nafion, concentración del Buffer de la solución y la concentración del sustrato.

La curva indica el ajuste obtenido con el modelo matemático del $pH_{anódico}$ (ecuación 2.8), donde se aprecia un ajuste con los datos experimentales, la ecuación 2.8, consigue predecir acertadamente los datos experimentales, debido a que los cambios de pH se encuentran asociados a los cambios en las concentraciones del sustrato de la población de bacterias como se observará en resultados posteriores.

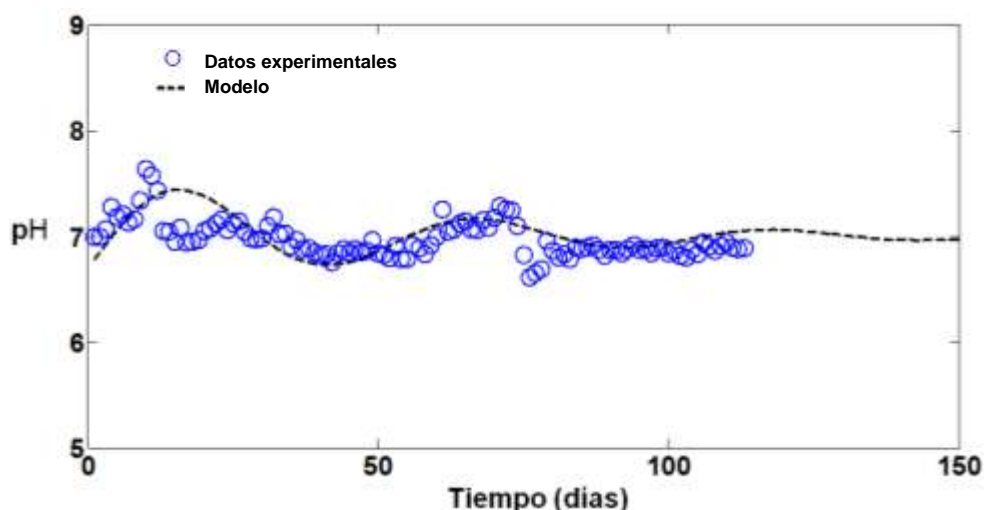


Figura 3.2 pH anódico promedio en función del tiempo para las cuatro fases de experimentación.

Dado que en las cuatro fases de experimentación las 12 Celdas, mostraron un comportamiento oscilatorio bastante similar, además de que el Modelo de $pH_{anódico}$ pudo explicar con buena aproximación los datos experimentales, se optó por emplear solo los datos experimentales de pH obtenidos de la CCM número 1 (CCM1), ya que a pesar de solo contar con 66 días de operación, mostró el mejor ajuste con los datos experimentales (91.2% con un porcentaje de confianza de $\pm 5\%$), además considerando que las otras celdas mostraron un comportamiento similar, asumimos que la CCM1 presentaría una tendencia muy similar, otro factor que nos condujo a emplear los datos experimentales de la CCM1 fue que los valores para los parámetros a,b, c y d para los datos experimentales promedios, no mostraron gran diferencia entre los parámetros de la CCM1.

La CCM1 fue estudiada para un tiempo de experimentación de 66 días, se observa que al igual que en la figura 3.2, presenta oscilaciones en el tiempo, que conducen a un valor de pH óptimo ($pH_{ópt}$) que para esta celda tuvo un valor de 7.12 (ver figura 3.3)

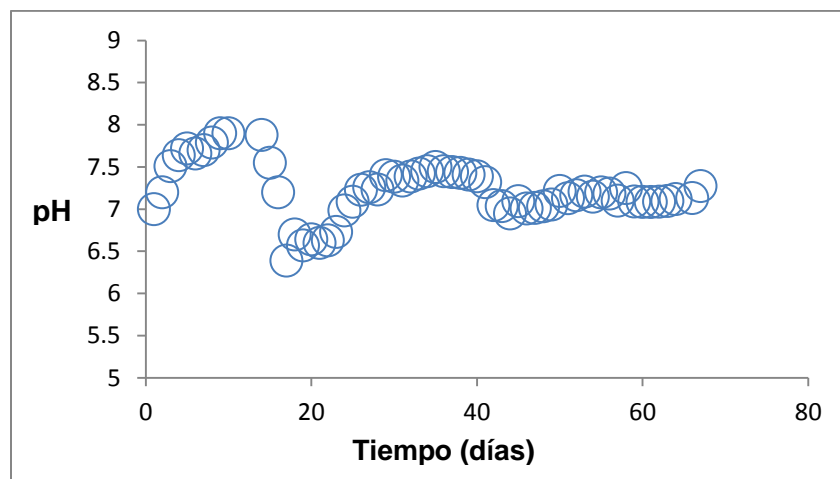


Figura 3.3 $pH_{anódico}$ de la CCM1 para un período experimental de 66 días.

Para conseguir el mejor ajuste durante la modelación del $pH_{anódico}$ de la figura 3.3, trasladamos el eje de referencia de $pH = 7.12$ que corresponde al $pH_{óptimo}$ a un valor de $pH^* = 0$ (ver figura 3.4).

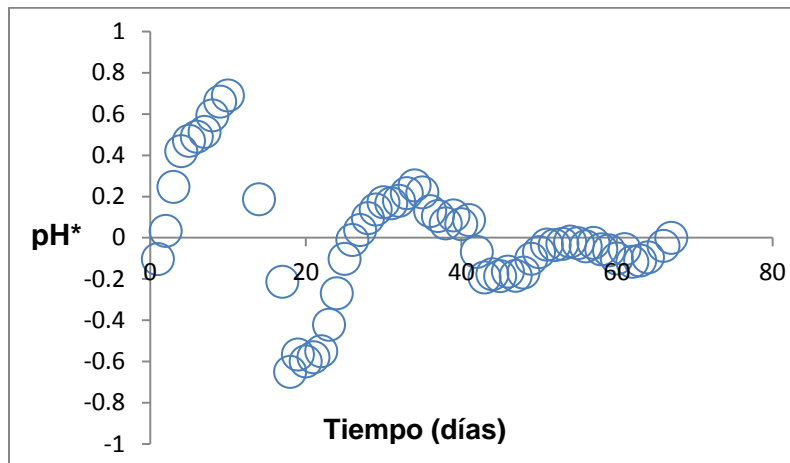


Figura 3.4 pH^* promedio en función del tiempo para la CCM1.

Considerando lo anterior, se muestra el ajuste con los datos experimentales, usando el software libre LabFit versión 1.2.3, y empleando la ecuación (2.8) (ver figura 3.5).

$$pH(t) = ae^{-bt} \cos(ct + d) + pH_{opt}$$

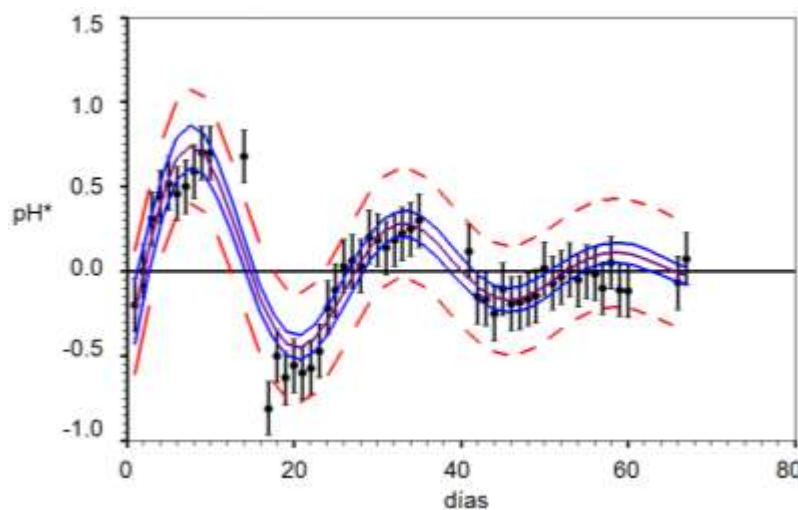


Figura 3.5 Curva de Ajuste para los datos experimentales del pH^* de la CCM1 a partir del modelo propuesto.

En general se observa un ajuste bastante aproximado con un porcentaje del 91.2% y un intervalo de confianza de $\pm 5\%$, los valores para los parámetros fueron $a = -0.1$, $b = 0.038$, $c = 0.24$ y $d = 0.1064$; cabe mencionar que la estructura del modelo para el pH anódico desarrollado en este trabajo, no ha sido reportado en estudios de CCM, pero si los

fenómenos de oscilación con relación al pH. Picioreanu y colaboradores [13] reportan un sola oscilación en sus resultados, con una tendencia a alcanzar el pH inicial, sin embargo la forma de la curva se obtiene como resultado de la cinética de la reacción y no por ecuación matemática. Por otro lado, Marcus y colaboradores, emplearon un modelo oscilatorio para el pH, pero no muestra ningún ajuste con el pH en función del tiempo, únicamente la densidad de corriente en función de la concentración del buffer. Además, debido a la estructura del modelo de Markus, no se alcanza el valor de $pH_{\text{óptimo}}$ [100].

3.2.2 Simulación de la evolución del pH para 150 días

Con los resultados del ajuste de la curva de pH (figura 3.5) y los parámetros (a , b , c y d) obtenidos de la ecuación (2.8)

$$pH(t) = ae^{-bt} \cos(ct + d) + pH_{\text{óptimo}} \quad (2.8)$$

Se realizó la simulación del pH en función del tiempo. La función de oscilación para el pH presenta mayor actividad en los primeros 40 días de operación. Para el día 66, el modelo predice un valor de pH de 7.14 y para el día 149, que fue cuando finalizó la experimentación, el modelo indica un valor de pH de 7.12 (ver figura 3.6).

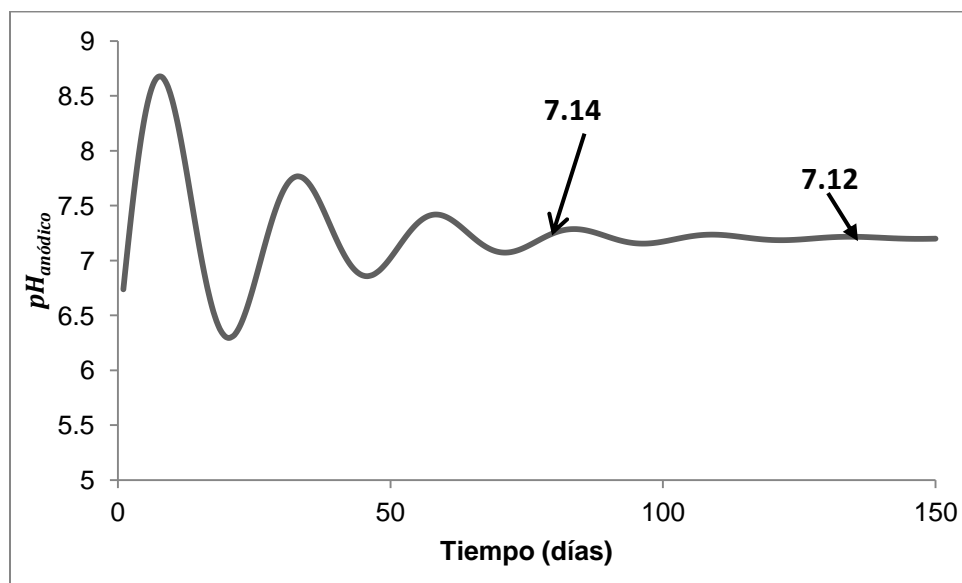


Figura 3.6 Simulación del $pH_{\text{anódico}}$ en función del tiempo.

La simulación indica que durante los primeros 10 días el pH aumentó desde un valor de 7 hasta 8.5 y los experimentos muestran un valor de ~8.2 de manera que el ajuste es muy

cercano. Estos cambios, son debido probablemente a la naturaleza del inóculo, ya que se ha encontrado que algunos tipos de aguas residuales contienen una gran cantidad de minerales como Na y K entre otros que provocan un aumento en el pH de la solución, es posible que una elevada fracción removida de acetato tenga lugar aeróbicamente, generando incluso más acumulación de biomasa aerobia y producción de dióxido de carbono, y por lo tanto una mayor concentración de bicarbonato en la solución, lo que incrementa el pH, Dong y Venkata [99, 116]. Por otro lado, la posible presencia de bacterias metanogénicas que suelen desarrollarse en ambientes básicos puede también ocasionar un aumento en el pH, aunado a que el consumo del sustrato es nulo en este periodo del experimento, lo que hace suponer que el aumento en el pH es debido a la actividad de otro tipo de bacterias como las bacterias propiónicas y butíricas, que no necesariamente son consumidores de acetato [140]. Posteriormente se observa un mínimo de 6.39 en el día 20 y que coincide con el valor experimental, esta caída se debe probablemente a la generación de protones por la oxidación del acetato y a la baja habilidad del buffer de la solución que está tratando de regular la cantidad de bicarbonato producido durante la remoción de DQO, lo que ocasiona una acumulación de protones en la superficie de la membrana [99]. Posteriormente, el pH comienza a incrementarse a partir del 20 debido al flujo de cationes hacia la cámara catódica generados por el consumo del sustrato [140], el pH vuelve a incrementarse hasta 7.5 en el día 35, de nueva cuenta por efecto de la difusión de iones entre las cámaras [105]. Finalmente, el pH disminuye hasta un mínimo de 6.95 (día 41), y de ahí en adelante presenta un comportamiento oscilatorio semiestable entre un intervalo de 7.1 a 7.19, debido a que el sistema tiene la tendencia hacia condiciones de estado estable, lo que implica un ambiente en el que el sustrato es consumido a la velocidad máxima y por ende la generación de corriente eléctrica se verá aumentada [100].

En otros estudios de CCM,, observaron una marcada disminución en el pH anódico durante la operación [64, 65], lo cual ha sido atribuido a la diferencia en la concentración entre protones y otros cationes (Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+), dado que el Nafión no es selectivo únicamente a protones, otros cationes pueden ocupar los sitios sulfónicos, dejando muy pocos sitios activos para el intercambio de protones y consecuentemente un bajo pH y pérdida de conductividad en el anólito en el tiempo [140].

Sin embargo, en nuestro trabajo pareciera que los protones generados por la oxidación del acetato fueron removidos y transportados rápidamente al cátodo o reaccionaron con el bicarbonato y/o el buffer de fosfatos, lo que dio lugar a la tendencia de un pH estable. A pesar de esos cambios, el intervalo del pH estuvo lo suficientemente cercano al neutro.

Como fue sugerido por Gil y colaboradores [139], los buffers pueden compensar el transporte de protones ya que regulan la concentración de protones que se acumulan en la superficie de la membrana, permitiendo su transporte a través de la misma. Sin embargo, este efecto puede ser solamente temporal. En los experimentos de Rozendal [140], observaron que si los experimentos son de períodos largos (4 días) tanto la cámara anódica como la catódica puede experimentar un incremento en el pH, lo cual se asocia con una disminución en el desempeño de la CCM.

Piciooreanu y colaboradores [13], estudiaron el efecto del pH anódico sobre la corriente generada en una CCM monocámara, al emplear diferentes concentraciones de buffer y velocidades de transferencia de masa de los protones a través de la membrana ($k_{m,H}$), observaron que cuando las velocidades de transferencia de masa de los protones a través de la membrana ($k_{m,H}$) son iguales a 10^{-6} m s^{-1} , el compartimiento anódico es prácticamente un sistema cerrado, en el cual se pueden acumular los protones H^+ generando una caída del pH durante la conversión microbiana del acetato. De acuerdo con estos autores, cuando $k_{m,H} = 10^{-2} \text{ m s}^{-1}$ y la concentración del buffer es baja, el pH permanece constante y superior a 6 durante la conversión del acetato, además, se observa un comportamiento ligeramente oscilatorio, en este momento la producción de corriente está principalmente limitada por la cantidad de biomasa adherida al electrodo. Así mismo, se ha encontrado que la corriente decrece junto con la biomasa de la biopelícula a medida que el sustrato se encuentra disponible en suficiente cantidad para sostener la actividad microbiana y el crecimiento. Con suficiente concentración de buffer en el ánodo (ej., 100 mM) y una velocidad de transferencia de protones (H^+) intermedia, 10^{-4} m s^{-1} , tanto la velocidad de consumo de sustrato como los cambios de pH tenderán hacia condiciones que mejoran el desempeño de la CCM [13].

Markus y colaboradores [100] consideraron los efectos oscilatorios del pH en su modelo matemático, sin embargo, su trabajo no considera el crecimiento de la biopelícula a través del tiempo, además el modelo de Markus, predice únicamente la zona en donde el

pH oscila de manera estable, por lo que la fase de adaptación del sistema como el expuesto en este trabajo no se considera. Sin embargo la fase de adaptación ha sido considerada en otros trabajos, pero que no consideran los cambios en el pH de la solución [8, 84, 96]

Los resultados obtenidos por Piciooreanu, Marcus y Rozendal [13, 100, 140], corroboran que las oscilaciones del pH en la cámara anódica guardan relación principalmente con la velocidad de transferencia de iones a través de la membrana y la actividad del buffer en la solución, la cual depende de la concentración del sustrato.

Con los resultados presentados en la figura 3.6 y empleando la ecuación 2.9, se calculó la velocidad específica de consumo de sustrato de las bacterias exoelectrógenas, empleando una velocidad máxima de consumo $q_{max}=0.15 \text{ día}^{-1}$ (figura 3.7), ya que esta se presentó durante las fases de crecimiento exponencial del sistema.

La curva de la figura 3.7 indica que la velocidad de consumo de sustrato cambia siguiendo un perfil de campana, siendo menor para pH muy ácidos o muy básicos y con una tendencia hacia el valor de q_{max} , que corresponde a un pH_{optimo} de 7.12. Este comportamiento, indica que los organismos presentes en el ánodo regularon el pH de la solución a un valor que les permite alcanzar un valor máximo de velocidad de consumo de sustrato similar a como lo reportado en la literatura [100]. Las oscilaciones del pH fueron mayores al inicio del experimento pero decrecieron a medida que los organismos se adaptaron al ambiente (ver figura 3.7), situación que fue reportada por Park [102], quien también observó un perfil de campana en sus resultados, indicando que estos cambios se encuentran asociados al decremento de las velocidades máximas de reacción enzimáticas.

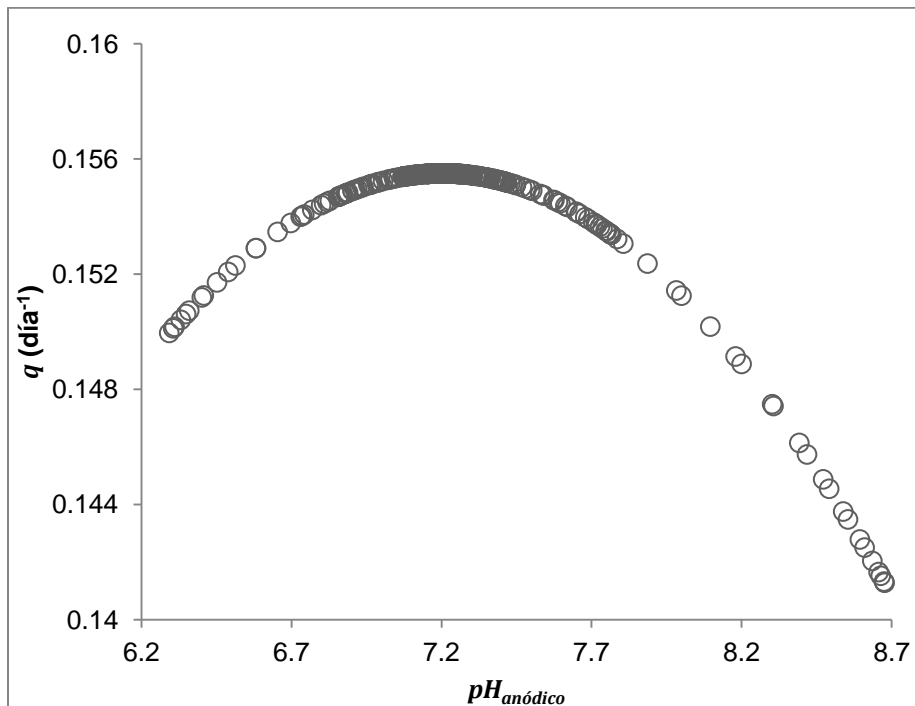


Figura 3.7 Simulación de *velocidad específica de consumo de sustrato en función del $pH_{anódico}$ para la CCM1 de las 12 CCM's.*

Con la relación entre el $pH_{anódico}$ y q , se calculó la curva de pH_a vs q , y se comparó con los datos experimentales (ver figura 3.8). Se observa que existe un buen ajuste del modelo del $pH_{anódico}$ al compararlo con los datos experimentales con un nivel de confianza del 95 % con una banda de confiabilidad de $\pm 5\%$. Puede observarse también que ambas curvas tienden a los valores de $q_{max} \approx 0.15$ ($día^{-1}$), que corresponde a un pH óptimo de 7.12 muy cercano al encontrado en el experimento, con un valor promedio de 7.16. Park [100] y Markus [102], han estudiado previamente la relación existente entre el pH y q en cinéticas de bacterias ácido lácticas, así como en cinéticas de bacterias exoelectrógenas, han encontrado que existe una relación entre la concentración del buffer empleado, la concentración del sustrato y la densidad de corriente obtenida en el sistema.

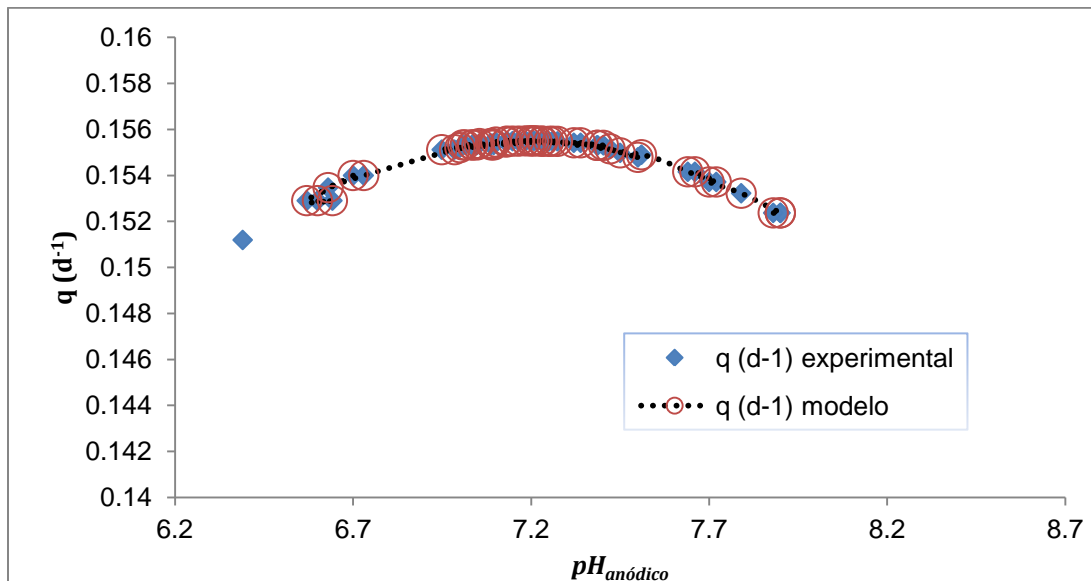


Figura 3.8 Comparación de los datos experimentales para la Celda 1 y el modelo de $pH_{anódico}$ para la curva de (q vs $pH_{anódico}$)

3.2.3 Estimación de parámetros

Los parámetros estimados fueron los correspondientes al modelo 2, empleando el algoritmo genético descrito en la sección de metodología. Dado que la fase 3 y la Fase 4 presentaron un comportamiento similar, se decidió tomar el promedio de las dos para la estimación de parámetros, empleando el algoritmo genético modificado; después de varias simulaciones numéricas se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 3.1:

Fases	q_{max} (d ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (g X g ⁻¹ S)	W (pH)	k_d (g L ⁻¹)	K_s (g L ⁻¹)
1	0.15	0.59	1.3	0.001	0.41
2	0.16	1.48	1.31	0.0014	0.95
3 y 4	4	1.	1.37	0.00013	3

Tabla 3.1 Resultados de la estimación de parámetros para la CCM1 en modo semibatch.

Puede verse que se presentan los parámetros correspondientes a las cuatro fases de análisis: tasas de crecimiento (q_{max}), rendimiento celular ($Y_{X/S}$), parámetro de inhibición para el pH (W), constante de decaimiento (k_d), constante de saturación media (K_s) y velocidad de crecimiento (μ_{max}).

Para q_{max} , de la fase 1 se presentan valores de 0.15 d^{-1} , el cual supera a los reportado por Markus [14], quien empleó también inóculo mixto en su sistema. El día 81, q_{max} incrementa considerablemente a 4 día^{-1} , debido a la tendencia que tiene el sistema a alcanzar condiciones óptimas (pH_{opt} y q_{max}) de crecimiento [100]. Este valor es superado por los trabajos de Marcus [8] y Pinto [96]. Cabe mencionar que Marcus emplea un inóculo mixto en su celda, pero Piciooreanu, calcula sus parámetros empleando datos de cinética de crecimiento para *G. sulfurreducens*, que son bacterias adaptadas al crecimiento sobre superficies conductoras, por lo que es de esperarse que posean mayores velocidades de consumo que otros cultivos mixtos [11].

El coeficiente de rendimiento, $Y_{X/S}$, comienza con 0.59, valor superior al reportado por Pinto [96] y Piciooreanu [8], posteriormente aumenta a 1.48, valor similar al reportado por Marcus [14], resultado de una mayor tendencia al consumo del sustrato, y por tanto una mayor velocidad de crecimiento (0.23 d^{-1}), situación que es corroborada por los valores de las q_{max} que incrementan alcanzando un máximo de 4 d^{-1} , y superior a lo reportado [96].

Finalmente, en la tercera etapa decrece nuevamente a 1 como resultado de una adaptación de las bacterias dentro de la cámara anódica. Este valor de $Y_{X/S}$, permite un crecimiento continuo de las bacterias exoelectrógenas, pero la cantidad producida por unidad de sustrato consumido es menor. [14]. Marcus y colaboradores, indican que esto se debe a que las pérdidas energéticas son mínimas, ya que a pesar de que la biomasa en la biopelícula aumenta, la población de bacterias eléctricamente activas es mayor, lo que les permite crecer y desarrollarse.

Los valores de W , que representan los intervalos de oscilación para el pH, se encuentran entre los reportados en la literatura para CCM, donde se han obtenido valores superiores a 8 e inferiores a 6 para la cámara anódica [100], pero en dicho trabajo, fueron obtenidos de manera experimental, asumiendo que en un intervalo de pH de estos valores, el consumo de sustrato no es limitado.

La constante de decaimiento endógeno (k_d), muestra una disminución en su magnitud, siendo similar al valor publicado por Pinto [84], quien realizó un trabajo de modelación para una CCM tipo PEM de doble cámara, el autor empleo datos experimentales

empleado un inóculo mixto de bacterias, encontrando que disminuyendo la constante de decaimiento, la población de bacterias exoelectrógenas tendía a incrementar.

Finalmente, la K_S obtenida en este trabajo incrementó de 0.41, 0.95 g L⁻¹ hasta un valor máximo de 3 g L⁻¹ durante la tercera fase. Estos resultados son similares a los reportados en la literatura, que indican una afinidad hacia el consumo del sustrato [8, 96]. El hecho de que el sistema evoluciona para alcanzar un valor de K_S mayor, supone de nueva cuenta tendencia del sistema hacia las condiciones de dan lugar a una velocidad máxima de consumo de sustrato.

k_d (g L ⁻¹)	K_S (g-S L ⁻¹)	$Y_{X/S}$ (g Xg ⁻¹ S)	q_{max} (d ⁻¹)	Referencia
0.05	0.24609	2.26	0.132	[14]
0.0394	0.018	0.265	8.48	[88]
0.00084	0.037	0.206	22.85	[8] y [84]

Tabla 3.2 *Tabla de parámetros de otros estudios de modelación en CCM.*

Conocidos los parámetros que más se ajustan a los datos experimentales, se procedió a realizar simulaciones numéricas para el consumo de sustrato, concentración de biomasa en el reactor, corriente eléctrica y eficiencia coulombica.

3.2.4. Simulación de la densidad de corriente eléctrica en la celda

En la figura 3.9 se observa que el ajuste durante la primera zona (hasta día 66) es bastante bueno, presentando un porcentaje con respecto a los datos experimentales del 70%, no obstante las simulaciones obtenidas con el modelo 2, predicen una corriente menor a los experimentos, esto puede deberse al hecho de que la corriente medida en el experimento es el resultado de dos semi-reacciones (reacción anódica y catódica) y el modelo únicamente considera la densidad de corriente que genera la cámara anódica, ya que como han indicado otros autores, los estudios de modelación en CCM mencionan que un enfoque similar de modelación puede emplearse para la cámara catódica [96] ya que dicho proceso, sigue una cinética de saturación similar a la cinética de Monod [96].

Zeng y colaboradores [84], empleó una cinética de saturación tipo Monod para modelar el proceso catódico en una CCM de doble cámara, sin embargo menciona que su modelo es

general y que por tanto no incluye la presencia de biopelícula en el ánodo, lo que limita su aplicabilidad con otros sistemas. En este trabajo se ha empleado el parámetro del pH para predecir la cinética de producción de electricidad, y como indican los resultados de la figura 3.9, el enfoque adoptado en el presente trabajo es una alternativa de modelación para CCM.

Cuando nos acercamos a la zona 2 (día 67), el modelo comienza a indicar una corriente eléctrica superior a los datos experimentales, Los resultados de densidad de corriente de las curvas de polarización para cada fase reportados en la sección experimental fueron: 210.88, 203.61, 191.51 y 347 mA m⁻² respectivamente. El modelo pudo predecir con mayor aproximación dos de los valores experimentales que corresponden a: fase 1 = 206.8 mA m⁻² y la fase 4 = 380 mA m⁻². Un aspecto importante en la modelación o en esta modelación de CCM, radica en el empleo de parámetros que permiten el mejor ajuste con los datos experimentales como los presentados en la (tabla 3.2), ya que algunos autores como Pinto [84] y Zeng [96], no señalan que deben emplearse diferentes valores de los parámetros para cada porción de la curva e indican que sus simulaciones han sido elaboradas con un solo conjunto de los mismos. Pinto y colaboradores [96], muestra diferencias en el ajuste de su modelo con los datos experimentales y lo atribuye a una falla de energía durante dicho tiempo de operación, el cual probablemente lo llevo a una sobreestimación de la concentración de acetato en el influente. Zeng [84], realizaron simulaciones únicamente para un tiempo de 2.5 días, por lo que no se observan cambios sustanciales en la dinámica de consumo de sustrato. En este trabajo emplearon diferentes valores de los parámetros cinéticos, bajo la hipótesis de que en primera instancia estos cambian en función del tiempo [102] y que diferentes valores permiten ajustar los datos de curvas obtenidas en mayores periodos de experimentación, explica las observaciones experimentales.

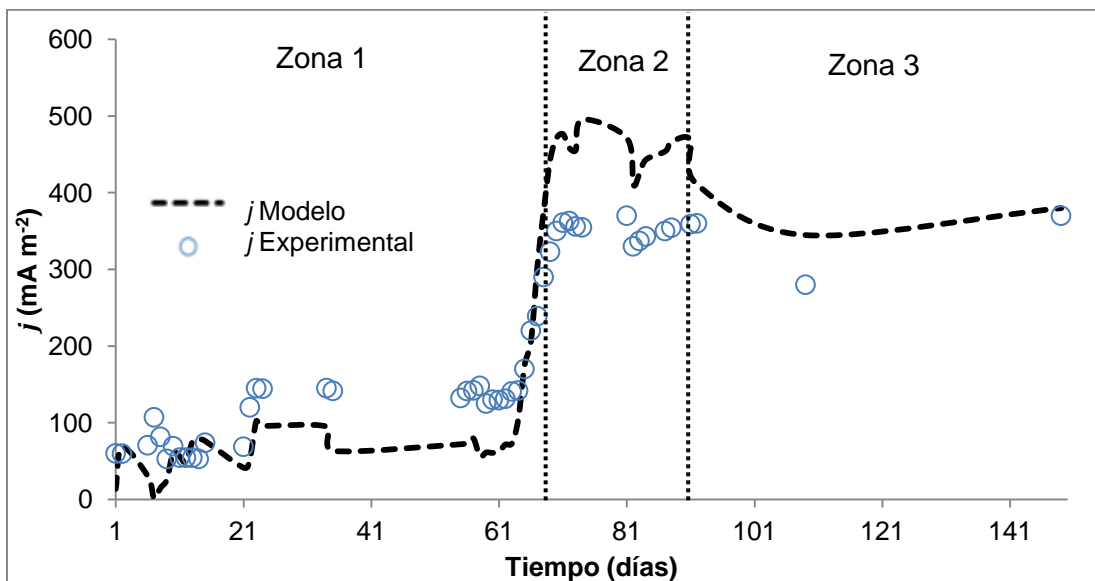


Figura 3.9 Simulación de la producción de densidad de corriente eléctrica empleando el modelo 2, Resistencia externa = 1000 Ω , los datos experimentales son los círculos azules.

Con los datos obtenidos en la simulación de corriente eléctrica, se realizó la simulación de la eficiencia coulombica del sistema. El modelo 2, predice los datos experimentales con un nivel de confiabilidad del 85%, estos valores, fueron: 38.6, 35.5, 33.4 y 60.6 % respectivamente para cada una de las cuatro fases. Los resultados obtenidos con el modelo, fueron: 28.0, 42.0, 41.4 y 62.3 % respectivamente (ver figura 3.10). Los valores reportados en el presente estudio se encuentran en el intervalo medio de la literatura, para CCM sin catalizador, (54 %) [155], y Pinto [96] quien reporta 53 % en su experimento, así como un valor superior al 80 % por su modelo matemático.

Los valores de EC superiores a los datos experimentales obtenidos en este trabajo, son coherentes con la información reportada en la literatura. Pinto y colaboradores [96], comenta que estas diferencias suceden porque su modelo indica un mayor consumo de sustrato y por ende mayor producción de electricidad que da lugar a valores elevados de eficiencia coulombica. El mismo autor sugiere que las diferencias en los valores de EC, son causadas por otros procesos que afectan la cinética de consumo del sustrato, como la competencia entre organismos (metanogénicos y acetogénicos) y la presencia de pérdidas energéticas no consideradas en el modelo.

Rabaey y colaboradores [78] mencionan que el aumento en la eficiencia coulombica puede deberse principalmente a una mayor colonización del electrodo, la presencia de nanocables y la presencia de procesos reversibles tanto en la biopelícula como en el ánodo. Por lo que la promoción de estos factores, da lugar al establecimiento de una biopelícula eléctricamente activa, lo que se verá reflejado en un incremento en la densidad de corriente generada por la celda. Asimismo se ha reportado que la EC, también se ve disminuida por la presencia de procesos metanogénicos, lo que coincide con las oscilaciones del $pH_{anódico}$ que postulan la presencia de estos organismos en las etapas iniciales del experimento [140, 142].

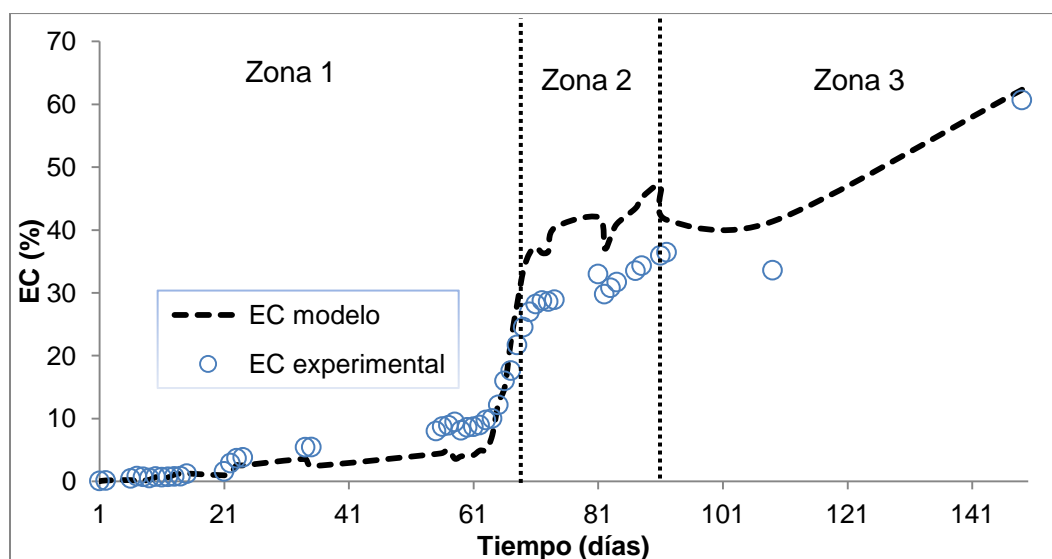


Figura 3.10 Simulación numérica de la eficiencia coulombica (EC) para la CCM1.

3.2.5. Cinética de consumo de sustrato y crecimiento de bacterias

Con los resultados experimentales de la producción de densidad de corriente eléctrica (Figura 3.9) y empleando las ecuaciones (2.2 y 2.3), se realizaron las simulaciones para el consumo de acetato y crecimiento de bacterias en el tiempo. Los cambios de concentración del sustrato se comparan con una línea base de alimentación continua de 6 g L^{-1} y una concentración inicial de biomasa de bacterias expresada de 131.5 g L^{-1} . La

simulación presenta un ajuste del 89 % con los datos experimentales para ambas curvas y se hacen evidentes tres zonas de interés (ver figura 3.11 y 3.12).

La primera zona comprende hasta el día 55, donde se observa un consumo de sustrato muy limitado al igual que una producción de biomasa despreciable. Este comportamiento esta en concordancia con los valores obtenidos para los parámetros: q_{max} y $Y_{X/S}$ (tabla 3.2) que indican valores que no le permiten a las bacterias crecer a una máxima velocidad y por tanto, la velocidad de consumo del sustrato se ve también afectada. Marcus *et al.*, [14] indicó una relación entre $Y_{X/S}$ con la producción de biomasa en la biopelícula y la generación de corriente, encontrando que al duplicar el valor de $Y_{X/S}$ desde 2.26 a 4.52 y manteniendo una $k_{bio} = 10^{-4}$ mS cm⁻¹, el espesor de la biopelícula se duplicaba pero la densidad de corriente permanecía constante, ya que dichos procesos, se encuentran también influenciados por la conductividad y la velocidad de desprendimiento de la misma. En este trabajo los valores de los parámetros q_{max} y $Y_{X/S}$ como se indico anteriormente (Tabla 3.1), muestran valores que no permiten a los organismos crecer a una velocidad máxima en la primera fase.

En la segunda zona, a partir del día 56 la concentración del sustrato comienza a decrecer lentamente en contraste con la producción de biomasa que muestra un incremento, sin embargo, al día 66 la q_{max} que corresponde a la fase 1 no incrementa considerablemente pero si lo hace el valor de $Y_{X/S} = 1.4882$ (tabla. 3.3), debido a la competencia entre otros organismos presentes en la digestión anaerobia que no necesariamente son consumidores de acetato [64, 96].

En la tercera zona, día 87 en adelante, q_{max} alcanza su valor máximo (4.0 día⁻¹) lo cual es coherente con la estabilización del pH (ver figura 3.6). A diferencia de la zona 2, en donde el valor de q_{max} fue pequeño en comparación con el $Y_{X/S}$, aquí observamos la situación opuesta: q_{max} aumenta considerablemente pero $Y_{X/S}$ disminuye y la producción de biomasa se mantiene en aumento en proporción al consumo de sustrato (figura 3.11) y al aumento en la producción de electricidad (figura 3.9). Esta relación ha sido indicada previamente por Zeng y colaboradores [84] quien demuestra en sus simulaciones que existe una relación lineal entre el incremento en la producción de biomasa y la disminución del sustrato con el aumento en la densidad de corriente generada por la CCM.

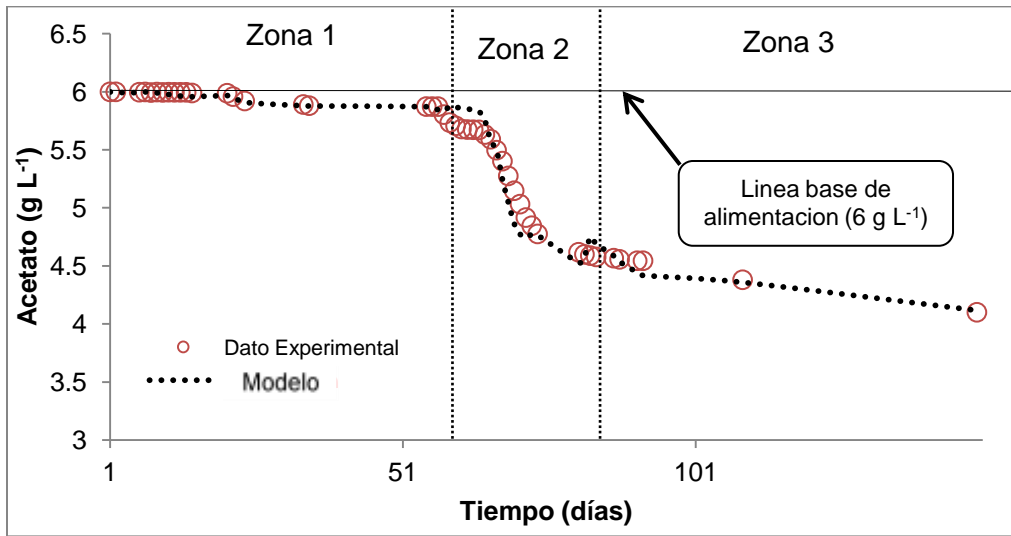


Figura 3.11 Simulación del consumo del acetato en función del tiempo, con $6 \text{ g L}^{-1} \text{ día}^{-1}$. los círculos rojos vacíos, representan los datos experimentales.

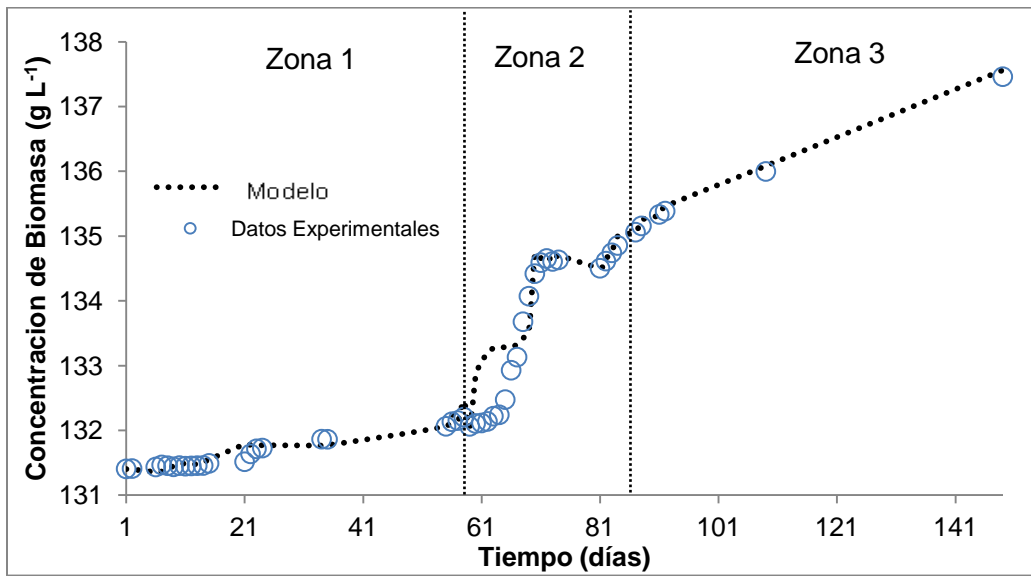


Figura 3.12 Simulación de la curva de crecimiento de los microorganismos en la cámara anódica, $X_0 = 131 \text{ g L}^{-1}$, los círculos azules vacíos, representan los datos experimentales.

3.2.6 Simulación del crecimiento de la biopelícula en la cámara anódica, perfiles de concentración de sustrato y concentración de biomasa.

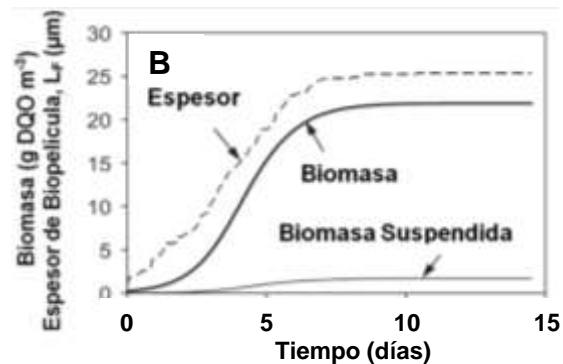
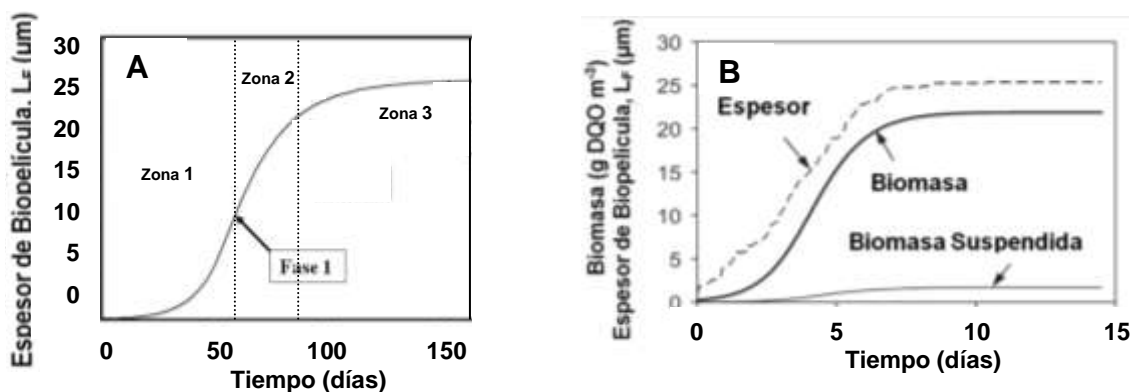
En este apartado se presentan los resultados de las simulaciones numéricas obtenidas para la dinámica del espesor de la biopelícula anódica en función del tiempo, por medio de los perfiles de concentración de sustrato y bacterias en la biopelícula.

3.2.6.1 Cinética del Crecimiento de la biopelícula

En la figura 3.13A se muestran los resultados de la simulación numérica para el crecimiento del espesor de la biopelícula empleando AQUASIM con $b_{des} = 0.05 \text{ día}^{-1}$ y en las figuras 3.13B y C, se muestran simulaciones obtenidas en otros trabajos de investigación, similares al presente [8, 14].

El crecimiento de la biopelícula ocurre debido a la acumulación de la biomasa en la superficie del electrodo. En la figura (3.13A) se observa la evolución en el espesor de la biopelícula en función del tiempo obtenida en este trabajo donde se distinguen tres zonas: La primera zona presenta un crecimiento casi nulo durante los primeros 25 días, resultado de la adaptación de los microorganismos al medio [8], posteriormente se aprecia un incremento exponencial del espesor superior a $11 \mu\text{m}$ cerca de los 65 días, esto como resultado del crecimiento de la biomasa inicial adherida al electrodo [78]. A partir de la zona 2 se observa un crecimiento exponencial alrededor de los 82 días.

Finalmente, en la zona 3 se alcanza una zona estacionaria que se prolonga hasta los 150 días y que no muestra un cambio significativo en el espesor de la biopelícula, lo cual es coincide con las simulaciones reportadas por, Picioreanu [13] y Marcus [14].



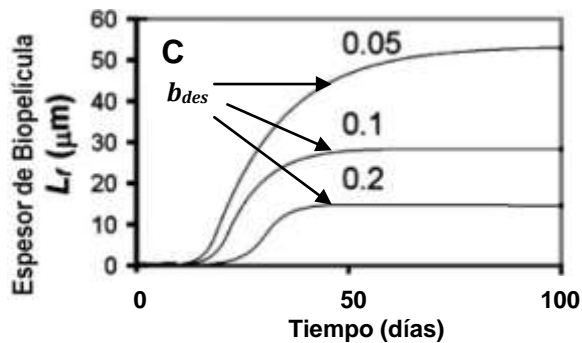


Figura 3.13 A) Evolución temporal del espesor de la biopelícula para este estudio, simulación para un periodo de 150 días, **B)** Simulación de la biomasa (línea gruesa: concentración de biomasa en la biopelícula; línea delgada: concentración de biomasa suspendida; línea punteada: espesor máximo de biopelícula [8]), **C)** Simulación de la evolución del espesor de la biopelícula (L_r) a diferentes velocidades de desprendimiento con ($k_{bio} = 10^{-4} \text{ mS cm}^{-1}$) y velocidades de desprendimiento (b_{des}) de 0.05, 0.1, y 0.2 día^{-1} [14].

En general, los resultados obtenidos concuerdan con los presentados por Piciooreanu [8], quienes calcularon un espesor de 25 μm para una biopelícula anódica en una CCM (figura 3.13B), así mismo, valores cercanos a este han sido observados experimentalmente por otros autores [80, 81, 119]. Estos trabajos, mencionan que el crecimiento de las biopelículas se ve limitado debido a que están sujetas a diversos fenómenos tanto físicos (como desprendimiento, esfuerzo, entre otros) como biológicos (difusión de sustrato, concentración de las diferentes especies, velocidad de crecimiento y consumo de sustrato) entre otros.

Markus y colaboradores [14] calcularon espesores del orden de 50 μm empleando el mismo valor para la velocidad de desprendimiento que el empleado en este estudio (b_{des}), este valor coincide con espesores de biopelícula determinados experimentalmente, alrededor de 60 μm [119]. Como se observa en las graficas de la figura 3.13, estas presentan diferentes tiempos de latencia en el crecimiento de la biopelícula, Piciooreanu *et al.*, [8], reportan un tiempo menor a 1 día, mientras que Markus [14] indican 10 días. En el presente estudio se estimó que el tiempo de latencia fue de 20 días, esto debido a los valores de los parámetros empleados en el modelo; por ejemplo el valor de $Y_{x/s}$ empleado por Markus fue de $2.26 \text{ g-SV mol}^{-1} = 0.038 \text{ g-SV g}^{-1}$, el cual es menor al calculado en este estudio ($Y_{x/s} = 1.006 \text{ g-SV g-Ac}^{-1}$), sin embargo [14], utilizaron una q_{max} de 0.132 mol g-

$\text{SV}^{-1} \text{ día}^{-1} = 7.78 \text{ g g-SV}^{-1} \text{ día}^{-1}$ la cual es mayor a la utilizada en este trabajo ($0.1555 \text{ g g-SV}^{-1} \text{ día}^{-1}$), de manera que a pesar de producir menor cantidad de biomasa, la cinética de consumo es mayor, provocando una respuesta de crecimiento más temprana y una mayor acumulación de biomasa que genera un espesor de biopelícula mayor. Por otro lado, Picioreanu y colaboradores [8], emplearon un valor de $Y_{X/S} = 0.243 \text{ g-biomasa g-Ac}^{-1} = 14.3 \text{ g-SV g-Ac}^{-1}$ así como un valor de $q_{max} = 10 \text{ g-Ac g-SV}^{-1} \text{ día}^{-1} = 0.1694 \text{ mol-Ac g-SV}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Y es debido a estos valores en los parámetros que el espesor de su biopelícula incrementa rápidamente a partir del segundo día.

El análisis anterior indica que los parámetros q_{max} y $Y_{X/S}$ son de vital importancia al momento de modelar la cinética de crecimiento de la biopelícula anódica, ya que tienen una gran influencia en la dinámica de la misma.

3.2.6.2 Perfiles de concentración del sustrato

Se puede apreciar en la figura 3.14A el gradiente típico de concentración de sustrato en una biopelícula, en este caso para una concentración de acetato de 6 g L^{-1} . Durante la fase 1 se observa un gradiente de concentración muy pequeño, ubicado a 10 micras y que va desde 6.0 a 5.0 g L^{-1} . El perfil de esta curva corresponde a una biopelícula intermedia [90]. El gradiente de sustrato refleja la disponibilidad que las bacterias presentes en la biopelícula tienen por el mismo, un gradiente pequeño como el indicado significa que la mayoría de la población de bacterias presente, tiene acceso a una concentración aproximadamente igual de sustrato, asimismo. Marcus y colaboradores [14], indican una relación lineal entre el gradiente de concentración con la densidad de corriente del sistema, un gradiente mayor genera una mayor densidad de corriente ya que más sustrato es consumido por la biopelícula. Para las fases siguientes (2, 3 y 4), se observa un gradiente mayor en la concentración, en particular para 109 y 150 días, como resultado del aumento en el espesor de la biopelícula que corresponde a perfiles de concentración asociados a una biopelícula profunda [90]. El aumento del gradiente trae consigo un aumento en la densidad de corriente del sistema (ver figura 3.11) como ha sido indicado previamente [14].

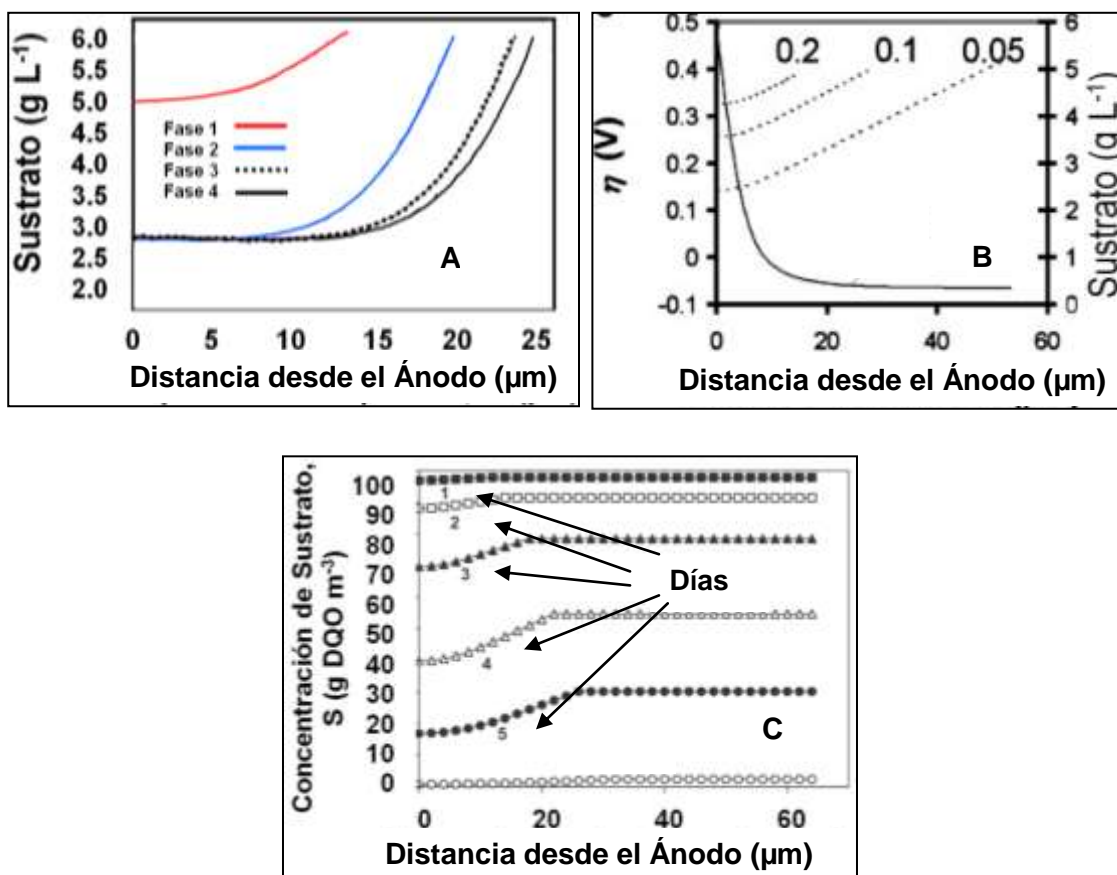


Figura 3.14 A) Concentración de sustrato en función de la distancia con el electrodo con un tiempo de simulación de 150 días, $b_{des} = 0.05 \text{ día}^{-1}$. B) Concentración de sustrato en función de la distancia con el electrodo, con un tiempo de simulación de 150 días, con $b_{des} = 0.05, 0.1$ y 0.2 día^{-1} , $S =$ concentración del sustrato [8]. C) Simulación de los perfiles de concentración del sustrato promedio en el interior de la biopelícula después de 1 a 8 días [8].

Los perfiles de concentración mostrados en la figura 3.14 son confirmados por otros autores [8, 13, 14, 79]. Marcus y colaboradores [7], muestra tres perfiles de concentración de sustrato que presentan una tendencia a un mayor gradiente a medida que la constante de desprendimiento decrece, lo que ocasiona un aumento en la concentración de biomasa adherida al electrodo, presentándose además un gradiente de potencial local relacionado a la transferencia de electrones del interior de la biopelícula al ánodo (figura 3.14 B). En este trabajo podría esperarse que un gradiente mayor limitara la disponibilidad del sustrato a bacterias cercanas al electrodo, disminuyendo la densidad de corriente. Sin embargo, ésta incrementa en el tiempo, lo que nos hace suponer la eventual aparición de

nanocables conductores en la biopelícula de bacterias, que permiten el continuo crecimiento de la biopelícula, permitiendo un mayor generación de corriente, ya que disminuye las pérdidas de potencial extracelulares [14].

Piciooreanu *et al.*, [8] observaron que después de 8 días el sustrato es consumido casi en su totalidad (Figura 3.14C), alcanzando una fase estacionaria tanto la biomasa total como el espesor de la biopelícula (Figura 3.14B), ocasionando una difusión lenta debido a que la concentración de sustrato decrece, lo que ocasiona una caída gradual en la corriente producida, situación que no es observada en nuestro estudio, ya que la alimentación del sustrato permanece constante a lo largo del experimento.

3.2.6.3 Distribución de la biomasa en la biopelícula.

Los perfiles de concentración para la fracción de biomasa activa, fueron calculados a lo largo del espesor de la biopelícula anódica para cada fase de análisis obteniendo los siguientes resultados:

Fase 1, la fracción de biomasa activa se halla presente hasta un espesor de 15 μm . mientras que para la fase 2 ya es claro un punto medio entre la biomasa activa e inactiva alrededor de 7 μm , que se desplaza hacia 9 μm durante la fase 2 y hacia 12 μm en las fases 3 y 4. Esto como resultado de la acumulación de biomasa en el electrodo. Marcus [14] y Rabaey [78], mencionan que al inicio del establecimiento de la biopelícula, ésta se ve limitada por las pérdidas de potencial extracelular, posteriormente por la concentración del sustrato en el interior de la misma y finalmente por la cantidad de biomasa adherida al electrodo. Como se observa en nuestro sistema, esta tendencia se cumplió, ya que el espesor de la biopelícula aumentó (figura 3.13 A), provocando un mayor gradiente de sustrato (figura 3.14 A), lo que dio lugar a un aumento en la producción de electricidad (figura 3.9).

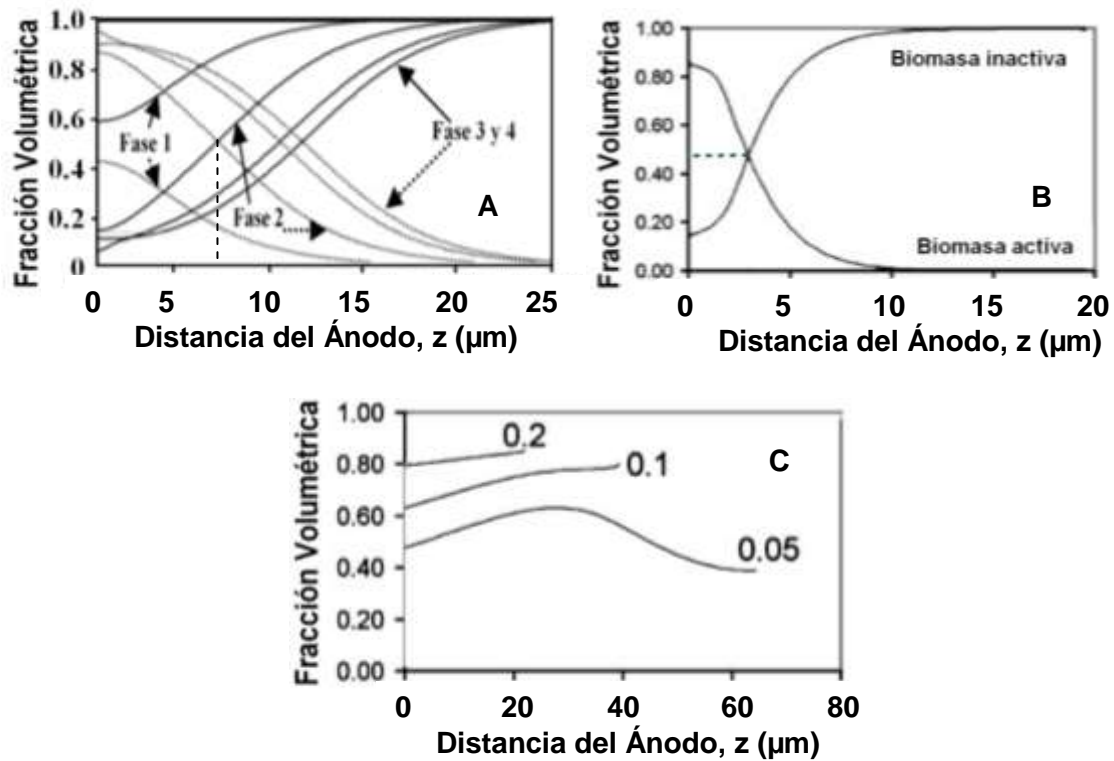


Figura 3.15 A) Fracción volumétrica de la biomasa activa a lo largo del espesor de la biopelícula anódica para cada fase de análisis, biomasa activa ϕ_a : línea punteada, biomasa inactiva ϕ_i : línea continua. **B)** Simulación de la distribución de biomasa activa e inerte a lo largo del espesor de la biopelícula después de 250 días [14], **C)** Distribución de biomasa activa con $k_{bio} = 1 \times 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$ y $b_{des} = 0.05, 0.1$ y 0.2 día^{-1} . z = distancia con el electrodo.

Los perfiles de la fracción volumétrica de biomasa para la fase 4 muestran que casi toda la biomasa activa se ubica en las primeras 16 μm de la biopelícula mostrándose nula presencia de biomasa activa a 25 μm (ver figura 3.15 A). La biomasa inactiva aumenta a lo largo de la biopelícula debido al aumento del espesor ocasionado por la distancia de las bacterias con el electrodo, ya que requieren mucha más energía para contrarrestar las pérdidas de potencial y poder transferir sus electrones [8, 14, 84].

Markus y sus colaboradores [14] demostraron en su estudio que la mayor parte de la biomasa activa se encuentra ubicada en las primeras 10 μm de distancia con él electrodo, donde el potencial local es superior a -0.088 V , lo que permite mantener la síntesis neta de biomasa. (Figura 3.15 B). Otra observación hecha por Markus es una pérdida neta de biomasa alrededor de las 6.2 μm a medida que el potencial anódico se aproxima a un

valor mínimo de (-0.088 V) debido al desprendimiento de la biomasa activa que se encuentra creciendo cerca de la superficie del electrodo, ocasionando que la biomasa inerte domine la composición de la biopelícula para a una distancia $z > 3 \mu\text{m}$ [14]. Cabe mencionar que una velocidad de desprendimiento (b_{res}), permite la acumulación de biomasa inerte, pero no influye en la velocidad de consumo del sustrato. Marcus *et al.*, [14], También indica que al modificar la k_{bio} y la b_{des} permite mantener la población de exoelectrógenos a pesar del aumento en el espesor de la biopelícula. La figura 3.15 C, muestra la distribución de la biomasa activa con una conductividad ($k_{bio} = 10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$) que en contraste con las biopelículas con baja conductividad ($10^{-5} \text{ mS cm}^{-1}$) figura 3.15B, la biomasa activa puede crecer aun estando lejos del ánodo, debido a que la elevada conductividad ($10^{-3} \text{ mS cm}^{-1}$) disminuye las limitaciones ocasionadas por el potencial manteniendo el potencial entre 0.3 V. El resultado es que para $b_{des} = 0.05 \text{ día}^{-1}$, la mayor cantidad de biomasa activa se ubica alrededor de los 20-30 micras separadas del electrodo [14].

La remoción de exceso de biomasa minimiza las limitaciones de potencial (η) (figura 3.15B), y la mayor fracción de biomasa activa ($\phi_a = 0.8$) se encuentra en la superficie de la capa de difusión de la biopelícula para $b_{des} = 0.1$ y 0.2 día^{-1} (Figura 3.15 C). Por lo tanto, las pendientes para las fracciones volumétricas de biomasa activa se hacen cercanas a cero para los valores más elevados de b_{des} , debido a que ambos tipos de biomasa, ϕ_a y ϕ_i , experimentan condiciones similares en toda la biopelícula [14].

3.2.6.4 Espesor de la biopelícula a diferentes b_{des}

La evolución en el espesor de la biopelícula a diferentes velocidades de desprendimiento se presenta en la figura 3.16, con la simulación se puede apreciar que el espesor de la biopelícula se incrementa rápidamente para una velocidad de desprendimiento de 0.05 día^{-1} . Un crecimiento menor se obtiene con $b_{des} = 0.1$ y 0.2 día^{-1} (figura 3.16). Observándose espesores de de 15 a 25 μm con una b_{des} de 0.2 y 0.05 día^{-1} respectivamente. Los resultados mostrados concuerdan los mostrados en la figura 3.15C, donde se aprecia un comportamiento similar a las simulaciones reportadas en este estudio a diferentes velocidades de desprendimiento [14].

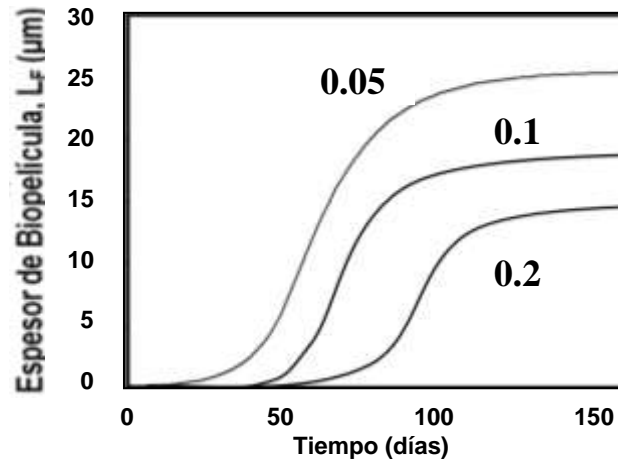


Figura 3.16 Evolución en el espesor de la biopelícula (L_f) a diferentes velocidades de desprendimiento (b_{des})=0.05, 0.1 y 0.2 día⁻¹, realizadas con el modelo 3.

Marcus y colaboradores,, comentan que induciendo elevadas velocidades de desprendimiento, así como mayores densidades celulares pueden provocar la disminución del espesor de la biopelícula, ocasionado principalmente por la disminución de las dobles limitaciones [14].

CAPÍTULO 4

Conclusiones

Con base en los resultados experimentales, se desarrollaron tres modelos matemáticos. El primero, se construyó para modelar el $pH_{anódico}$ en función del tiempo, realizando un ajuste de parámetros involucrados con un porcentaje de confianza de 92.1 % con un nivel de confiabilidad de $\pm 5\%$. El modelo permite predecir el tiempo en el cual la adición de buffer ya no es significativamente importante, es decir cuando el sistema ha alcanzado su frecuencia de oscilación natural, lo que podría ser un parámetro de control al momento de operar este tipo de sistemas a largo plazo.

Se demostró que empleando una relación entre el pH anódico y la tasa máxima de utilización de sustrato para el acetato (acoplado a una función exponencial-trigonométrica), permite predecir la producción de electricidad, consumo de sustrato y producción de biomasa en función del tiempo.

Durante el desarrollo de este estudio, se observó que la opción más viable para el análisis de los datos experimentales consiste en emplear un modelo fenomenológico que posee una estructura en forma de campana, para modelar los cambios de pH en función del tiempo.

El modelo 2 puede predecir los cambios de la cinética bacteriana bajo un amplio intervalo de pH mientras que otros modelos como el de Picioreanu [13] y Marcus [8], son únicamente exitosos bajo condiciones de pH constante. Este modelo puede ser usado como herramienta “de decisión”, para futuros modelos de CCM, con perspectivas en el control de los mismos utilizando los parámetros adecuados.

El algoritmo genético contribuyó a la búsqueda del conjunto de parámetros que aplicados al sistema de ecuaciones diferenciales permitió que las simulaciones de Corriente y EC se ajustaran a los datos experimentales con un nivel superior al 90%.

Al existir una concordancia entre los parámetros estimados y los reportados en la literatura [8, 14, 86], se puede concluir que el modelo propuesto describe la dinámica de una CCM de manera similar a dichos trabajos, con un nivel de confiabilidad entre el 80 y 92 % en relación al ajuste con los datos experimentales.

Los parámetros $Y_{X/S}$, q_{max} y W , indicaron ser los más relevantes en la cinética de consumo de sustrato y formación de la biopelícula, ya que estos controlan la cinética de consumo de sustrato que a su vez gobierna la cantidad de electricidad generada en la CCM.

La producción de electricidad no se rige solamente por la presencia de la biopelícula anódica, sino también por el pH de la solución. Los cambios en las fracciones de biomasa activa e inactiva juegan un papel preponderante sobre la cinética de crecimiento de la biopelícula anódica.

El modelo describe la generación de electricidad a partir de la oxidación del sustrato y la respiración endógena, donde los electrones son conducidos, desde las bacterias hacia el ánodo a través de la matriz de biopelícula, produciendo más densidad de corriente a largo plazo cuando el espesor de la biopelícula alcanza un estado estable, ocasionado por los cambios en la constante de desprendimiento de la biopelícula (b_{des}).

Los modelos propuestos en este trabajo pueden servir de base para desarrollar modelos más complejos que permitan realizar simulaciones más cercanas a los datos experimentales.

Perspectivas

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se propone lo siguiente:

1. Realizar estudios experimentales más específicos sobre los cambios del pH en función del consumo del sustrato.
2. Realizar investigación básica sobre:
 - a. simulación de biopelículas en dos y 3 dimensiones, empleando diferentes cinéticas de consumo de sustrato y crecimiento de bacterias.
 - b. Simulaciones más específicas sobre la geometría del electrodo, ya que juega un papel importante sobre la cinética de crecimiento de la población microbiana.
3. realizar la validación de datos experimentales de otros autores, para confirmar la utilidad de los modelos desarrollados en este trabajo, ya que esto permitirá identificar las limitaciones y nuevos enfoques que la modelación deberá contemplar en futuros trabajos.
4. complementar el modelo desarrollado para el pH oscilatorio, ya que se postula que puede explicar más los resultados experimentales con un mayor nivel de confiabilidad.

Apéndice A

Deducción de la ecuación fenomenológica para el pH en función del tiempo.

Diversos sistemas físicos se pueden describir con una ecuación diferencial lineal de segundo orden semejante a la de las oscilaciones forzadas con amortiguamiento.

Si $i(t) = dQ/dt$ representa la corriente en el circuito eléctrico en serie LRC de la figura A1, las caídas de voltaje a través del inductor, resistor y capacitor son representadas por cada termino de la ecuación A1.

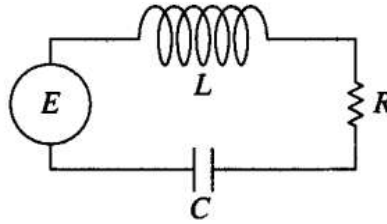


Figura A1 Circuito eléctrico LRC.

De acuerdo con la segunda ley de Kirchhoff, la suma de esas caídas es igual al voltaje $E(t)$ aplicado al circuito; esto es

$$L \frac{d^2Q}{dt^2} + R \frac{dQ}{dt} + \frac{1}{C} Q = E(t) \quad (A1)$$

Reemplazamos los las constantes L , R y C en la ecuación (A1) por r^o , k_m^o y $Y_{X/S}$ que representan los procesos que modifican el pH de la cámara anódica, por lo que la ecuación (A1) queda como

$$A k_m^o \frac{d^2pH}{dt^2} + B r^o \frac{dpH}{dt} + C \frac{1}{Y_{X/S}} pH = B(t) \quad (A2)$$

Donde $k_m^o = \frac{k_{m,OH}}{k_{m,H}}$ y $r^o = \frac{r_B}{q}$ (A3)

$$A \left(\frac{k_{m,OH}}{k_{m,H}} \right) \frac{d^2pH}{dt^2} + B \left(\frac{r_B}{q} \right) \frac{dpH}{dt} + C \frac{pH}{Y_{X/S}} = B(t) \quad (A4)$$

$B(t)$ = concentración del buffer de la solución en el tiempo ($g L^{-1} día^{-2}$).

A , B y C con constantes de ajuste dimensionales, ($días$, $días^{-1}$ y $días^{-2}$) respectivamente.

r^o = reactividad del buffer de la solución en relación a la cinética de consumo de sustrato (Adimensional).

r_B = constante de equilibrio para la disociación del ácido carbónico (g L^{-1}).

q = velocidad específica de consumo de sustrato ($\text{g L}^{-1} \text{ día}^{-1}$).

k_{o^m} = relación entre los coeficientes de transferencias de cationes y aniones a través de la membrana (Adimensional).

$K_{m,H}$ = coeficiente de transferencia de masa para los protones que atraviesan la membrana (m s^{-1}).

$K_{m,OH}$ = coeficiente de transferencia de masa para los iones hidróxido que atraviesan la membrana (m s^{-1}).

$Y_{X/S}$ = rendimiento de producción de biomasa por unidad de sustrato consumido (g de biomasa/g de sustrato).

El primer término de la ecuación (A4), indica la inercia del sistema hacia el cambio del pH, resultado del efecto del Buffer de la solución, el cual reacciona con los iones (H^+) que poseen una velocidad de reacción (r_B), la concentración de los iones (H^+) es resultado de la velocidad de consumo del sustrato (q). El segundo término de la ecuación indica la relación entre los coeficientes de transferencias de cationes y aniones a través de la membrana k_{o^m} = (Adimensional), ya que existe evidencia en la literatura de un flujo cruzado de ambos tipos de iones a través de la membrana y que esto tiene un efecto importante sobre los cambios del pH de ambas cámaras de la CCM [140]. El tercer término de la ecuación (A4), se asocia a los cambios del pH que son resultado del aumento de la población de las bacterias presentes en la cámara anódica, y se representa con el rendimiento de producción de biomasa por unidad de sustrato consumido ($Y_{X/S}$). Esta ecuación (A4) nos indica el cambio en la concentración de iones de hidrogeno en función del tiempo, que se relaciona de manera directa con los cambios del pH.

La ecuación A4 es una ecuación diferencial ordinaria de segundo orden, cuya solución analítica es la siguiente

$$pH(t) = [ae^{-\lambda t}(C_1 \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t + C_2 \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t)] \quad (A5)$$

Ahora transformando el valor de a por

$$a = \sqrt{C_1^2 + C_2^2} \quad (A6)$$

Y por el triángulo trigonométrico obtenemos lo siguiente:

$$\cos \phi_a = \frac{C_1}{a} \quad (A7)$$

$$\sin \phi_a = \frac{C_2}{a} \quad (A8)$$

Ahora tenemos que multiplicando por el termino encerrado en la raíz cuadrada y dividiendo entre el termino de (\sin) de la raíz cuadrada (ecuación A6), obtenemos la siguiente expresión

$$pH(t) = [ae^{-\lambda t}(C_1 \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t + C_2 \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t)] * \frac{a}{a} \quad (A9)$$

Después de multiplicar por a/a , obtenemos la siguiente expresión:

$$pH(t) = ae^{-\lambda t}[(\cos \phi_a \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t + \sin \phi_a \cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t)] \quad (A10)$$

Ahora aplicando identidades trigonométricas obtenemos lo siguiente:

$$pH(t) = ae^{-\lambda t}[(\cos(\sqrt{\omega^2 - \lambda^2})t - \phi_a)] \quad (A11)$$

Y reemplazando el valor de λ por b y cambiando los parámetros por letras se queda como:

$$pH(t) = ae^{-bt} \cos(ct + d) + pH_{opt} \quad (A12)$$

Donde

$a=W$, intervalo de oscilación del pH (pH).

$b=k_0^m/r^o$ = relación entre la transferencia de masa entre ambas cámaras y la reactividad del buffer de la solución.

k_0^m = relación entre los coeficientes de transferencias de cationes y aniones a través de la membrana ($K_{m,H} / K_{m,OH}$).

$K_{m,H}$ = coeficiente de transferencia de masa para los protones que atraviesan la membrana ($m s^{-1}$).

$K_{m,OH}$ = coeficiente de transferencia de masa para los protones que atraviesan la membrana ($m s^{-1}$).

r^o = reactividad del buffer en relación a la cinética de consumo de sustrato (Adimensional).

$Y_{X/S}$ = producción de biomasa por unidad de sustrato consumido (g X g S^{-1}).

$c = \sqrt{(Y_{X/S}/r^o)}$ = frecuencia de oscilación del pH.

d = ángulo de desplazamiento sobre el eje X.

pH_{opt} = pH al cual se alcanza la máxima velocidad de consumo de sustrato.

Y haciendo la diferencia entre el pH medido experimentalmente y el pH_{opt} nos queda la relación empleada en el modelo matemático para la CCM:

$$pH(t) - pH_{opt} = ae^{-bt} \cos(ct + d) \quad (\text{A12})$$

Y donde

$$pH(t) - pH_{opt} = pH^* \quad (\text{A13})$$

La deducción de la solución para la ecuación fue tomada de la deducción de la solución de la ecuación diferencial que modela un circuito en serie LRC, pero con algunas modificaciones [156].

Apéndice B

Se empleó el compartimento de reactor de biopelícula incluido en AQUASIM que consiste de tres zonas: el líquido, la matriz de biopelícula, y la biopelícula-acuosa-porosa ubicada entre el líquido y la biopelícula (Figura B1) [122].

AQUASIM calcula la evolución en el tiempo del espesor de la biopelícula, así como la concentración de especies microbianas y sustratos para las tres zonas. El fluido del líquido se considera completamente mezclado, y se considera una capa límite entre la biopelícula y el líquido [123].

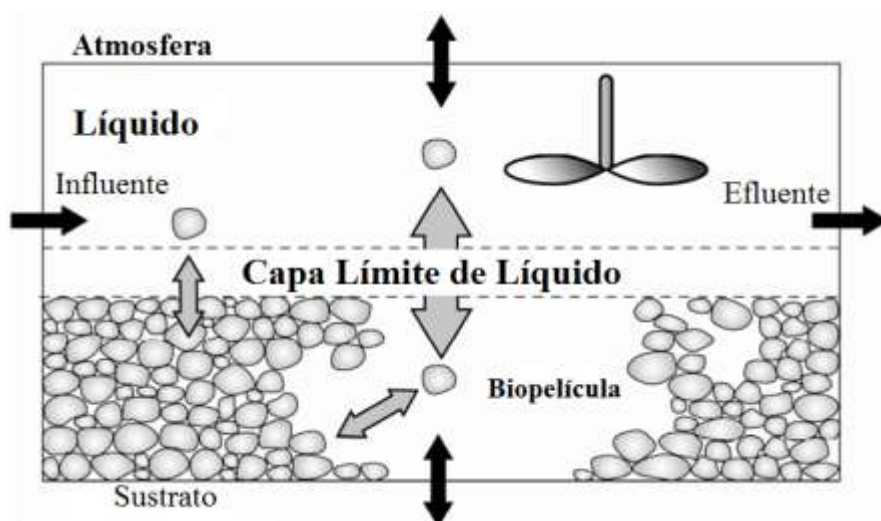


Figura B1. Configuración del compartimento de reactor de biopelícula de AQUASIM. Las flechas solidas indican posibles flujos de masa a través de los límites del compartimento, y las flechas sombreadas indican los flujos de masa con el compartimento [124].

La simulación, se inicia indicando las variables del modelo y los parámetros empleados en la simulación en los cuadros de dialogo '**Edit Variables**' y '**Edit Processes**' (Figura B2). Posteriormente se indican los procesos que tienen lugar en la formación de la biopelícula, que para este estudio fueron: Crecimiento (**crec**), decaimiento endógeno (**resp**) e inactivación (**ina**).

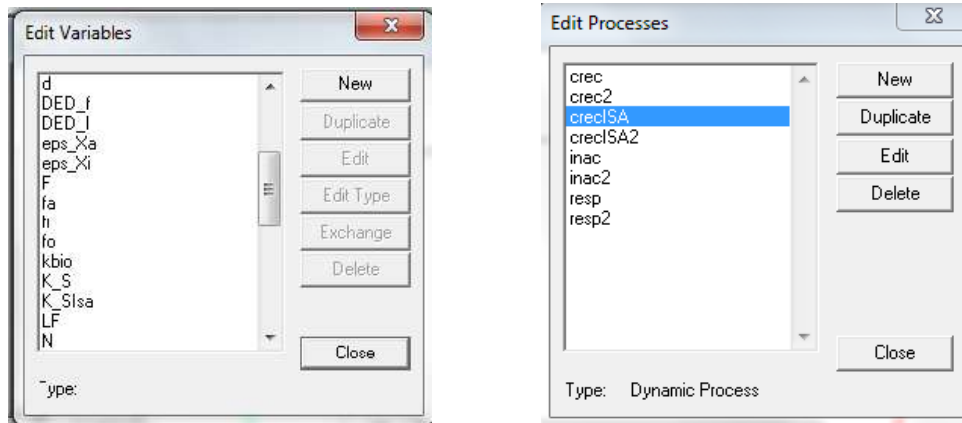


Figura B2. Cuadro de dialogo para las variables y parámetros de los procesos presentes en el modelo de biopelícula.

Cada uno de estos procesos es indicado como un proceso dinámico individual. Se definieron los procesos dinámicos para el crecimiento de las especies microbianas X_a y X_i como se muestra en la figura B3 en donde se indican los coeficientes estequiométricos para cada variable., este procedimiento se hizo por duplicado, reemplazando la variable f_a por $(1-f_i) = f_a$, y que corresponden a los procesos cinéticos para las especies X_i . Posteriormente se introdujo un proceso de decaimiento endógeno 'resp' así como un proceso de inactivación 'ina' para ambos tipos de biomasa X_a y X_i .

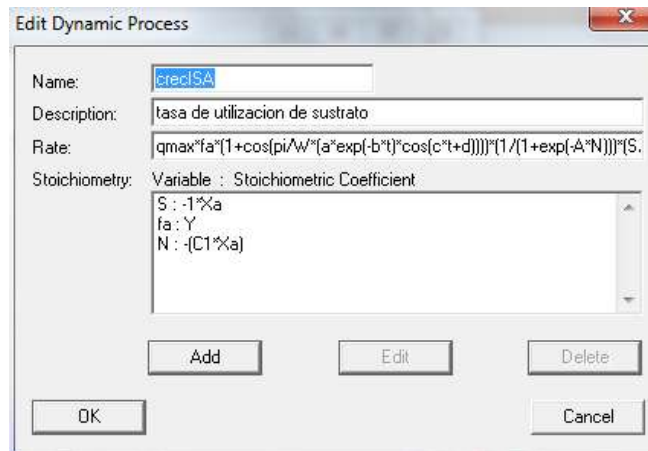


Figure B3. Cuadro de dialogo "Edit Dynamic Process" de AQUASIM empleado para especificar las leyes de reacción y los coeficientes estequiométricos de los procesos de conversión.

Se definió el tipo de compartimiento del reactor en la ventana 'Edit Compartments' y se eligió la opción 'Biofilm reactor Compartment' y en el cuadro de dialogo 'Edit Biofilm

reactor Compartment', se especificaron las propiedades del sistema de biopelícula a modelar (Figura B4). El tipo de reactor elegido fue "confinado" ya que el volumen del reactor y el de la biopelícula permanecen constantes.

The image shows a software dialog box titled "Edit Biofilm Reactor Compartment". It contains several sections for configuration:

- Name:** reactor, **Comp. Index:** 0
- Description:** Reactor de biopelícula
- Options:** Variables, Processes, Init. Cond., Input
- Properties of:** Particulate Variables, Dissolved Variables
- Reactor Type:** confined, unconfined. **Reactor Volume:** 1, **Bulk Volume:** 0.1
- Pore Volume:** liquid phase only, with suspended solids
- Biofilm Matrix:** rigid, diffusive
- Surf. Detach.:** individual rate, global velocity.
- Biofilm Area:** 1
- Rate Porosity:** 0
- Num. Grid Pts.:** 120, **Resolution:** low, high, **Acc.**
- active for calculation

Buttons for "OK" and "Cancel" are at the bottom.

Figure B4. Cuadro de dialogo "Edit Biofilm Reactor Compartment" de AQUASIM empleado para especificar las propiedades del sistema de biopelícula.

Se eligió una velocidad de desprendimiento global, lo cual significa que todas las especies se desprenden a la misma velocidad. En la figura B4, la velocidad de desprendimiento se asume como global e igual a $0.5 \cdot u_F$, en donde u_F es la velocidad a la cual la superficie de la biopelícula sería desplazada como resultado de la producción y decaimiento de masa microbiana.

La opción '**Variables**' se empleó para activar o desactivar variables, que describen concentraciones de sustratos y especies microbianas. Para cada variable individual, AQUASIM calcula las ecuaciones de balance de masa para los sustratos y las especies microbianas tanto en la biopelícula como en el líquido. La opción '**Processes**' se emplea para activar o desactivar los procesos de conversión biológicos. Solamente los procesos activados son incluidos en los cálculos, mientras que los valores de las tasas para los procesos inactivados son fijados a cero.

Las ecuaciones cinéticas de conversión tienen que ser especificadas por el usuario, mientras que las ecuaciones que describen los procesos de transporte forman parte intrínseca de la programación de AQUASIM. Las opciones **'Initial Conditions'** e **'Input'** en la Figura B4, se emplean para proveer los valores iniciales y de entrada para las especies microbianas y sustratos, así como el caudal de alimentación.

Las propiedades de las especies microbianas son especificadas mediante el botón **'Particulate Variables'**. La figura B5 muestra el cuadro de dialogo en el cual esas propiedades pueden ser seleccionadas. La densidad total (X_T), definida como la masa de células por unidad de volumen, es la única propiedad que debe ser especificada en todas las ocasiones. El botón **'Dissolved Variables'** despliega un cuadro de dialogo en el cual las propiedades de los sustratos disueltos pueden ser especificadas (Figura B6). El coeficiente de difusión del acetato en el interior de la biopelícula como el espesor de la capa limite fueron especificados basados en Marcus *et al.*, [14].

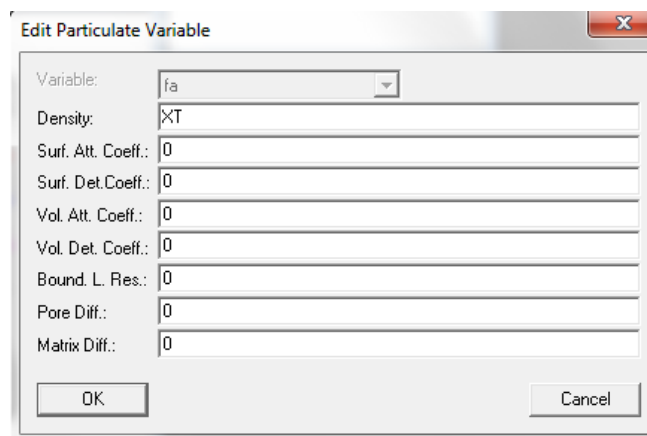


Figure B5 el cuadro de dialogo "Edit Particulate Variable" de AQUASIM se emplea para especificar las propiedades de las especies microbianas.



Figure B6 el cuadro de dialogo "Edit Dissolved Variable" se emplea para especificar las propiedades de los sustratos disueltos.

Para graficar las curvas de solución del modelo, se definió un grafico Lf con una curva para el espesor de la biopelícula Lf [mm] como función del tiempo (figura B7). Se definieron gráficos de S_z para los perfiles de concentración del sustrato en la biopelícula y se simularon para 66, 81 y 150 días. Por otro lado, se realizó lo mismo con las fracciones volumétricas de la biomasa f_a y f_i , definiendo un grafico X_z.

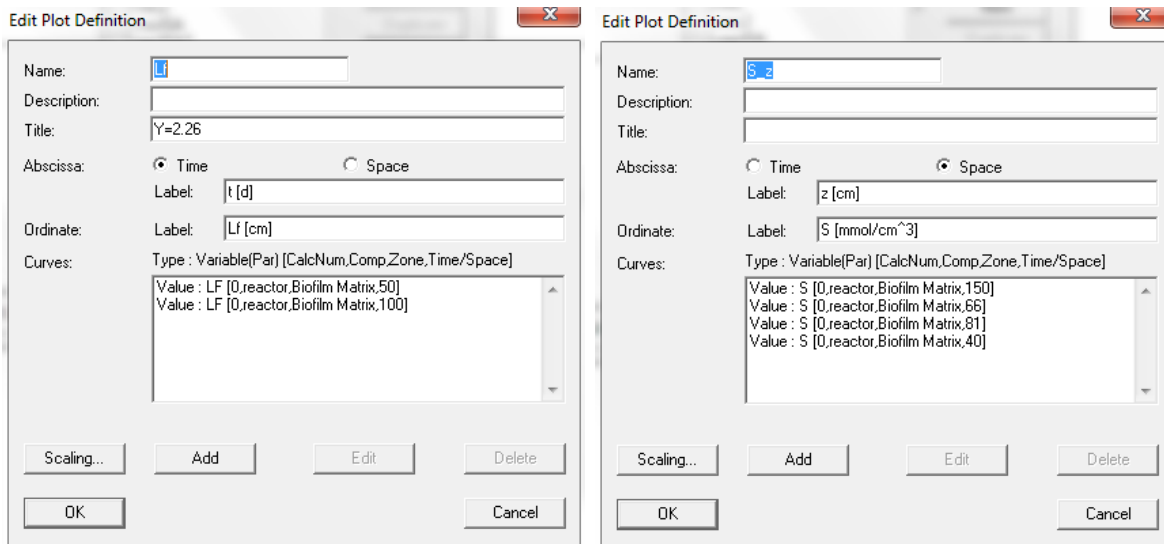


Figura B7. Definición de los gráficos para los resultados del espesor de la biopelícula en función del tiempo y definición de los gráficos para los perfiles de concentración de sustrato en la biopelícula.

Finalmente para comenzar la simulación se hace click en el botón ‘Simulation’ y se define la simulación para LF como muestra la figura B8.

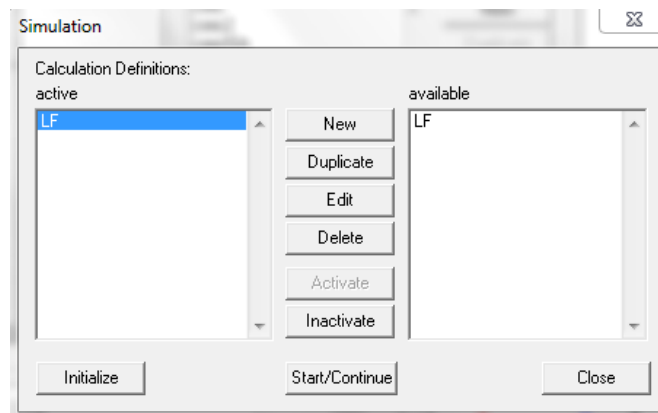


Figura B8. Definición de la simulación para el espesor de la biopelícula (LF).

Se definió una simulación activa con 100 pasos de dos días en el cuadro de dialogo '**Edit Calculation Definition**' luego hacer click en OK. La simulación comienza haciendo click en el botón **Start/Continue** del cuadro de dialogo '**Simulation**' y se obtienen los gráficos para los resultados (Figura B9).

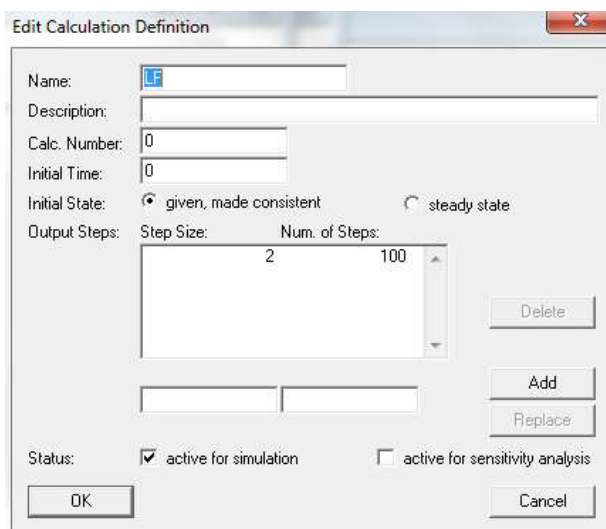


Figura B9. Cuadro de dialogo '*Edit Caculation Definition*' para definir las condiciones finales de la simulación.

Referencias

- 1.- Cheng, S., H. Liu. y B.E. Logan, Increased performance of single-chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications*, 2006. **8**(3): p. 489-494.
- 2.- Bullen, R.A., Hofte, M. y Verstraete, W., Biofuel cells and their development. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006. **21**(11): p. 2015-2045.
- 3.- Rabaey, K., Boon, N., Hofte, M. y Verstraete, W. Microbial Phenazine Production Enhances Electron Transfer in Biofuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 2005. **39**(9): p. 3401-3408.
- 4.- Logan, B.E., Aelterman, P., Hamelers, B., Rozendal, R., Schroder, U., Keller, J., Freguiac, S., Verstraete, W. y Rabaey, K. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental Science & Technology*, 2006. **40**(17): p. 5181-5192.
- 5.- Rabaey, K. y W. Verstraete, Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, 2005. **23**(6): p. 291-298.
- 6.- Stams, A.J.M., De Bok, F.A.M., Plugge, C.M., Van Eekert, M.H.A., Dolfing, J., Schraa, G., Exocellular electron transfer in anaerobic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 2006. **8**(3): p. 371-382.
- 7.- Rabaey, K., Lissens, G., Siciliano, S.D. y Verstraete, W., A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters*, 2003. **25**(18): p. 1531-1535.
- 8.- Piciooreanu, C., Ian M. Head, Krishna P. Katuri, Mark C.M. van Loosdrecht, Keith Scott, A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. *Water Research*, 2007. **41**(13): p. 2921-2940.
- 9.- Torres, C.I., Andrew Kato Marcus, Hyung-Sool Lee, Prathap Parameswaran, Rosa Krajmalnik-Brown & Bruce E. Rittmann, A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2010. **34**(1): p. 3-17.

- 10.- Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelteman, P. y Verstraete, W., Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation. *Environmental Science & Technology*, 2005. **39**(20): p. 8077-8082.
- 11.- Bond, D.R. y D.R. Lovley, Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and environmental microbiology*, 2003. **69**(3): p. 1548-55.
- 12.- Rittmann, B.E., Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008. **100**(2): p. 203-212.
- 13.- Piciooreanu, C., Mark C.M. van Loosdrecht, Thomas P. Curtis, Keith Scott., Model based evaluation of the effect of pH and electrode geometry on microbial fuel cell performance. *Bioelectrochemistry*, 2010. **78**(1): p. 8-24.
- 14.- Marcus, K, A., C.I Torres, y B.E. Rittmann, *Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007. **98**(6): p. 1171-1182.
- 15.- Lee, H.-S., Prathap Parameswaran, Andrew Kato-Marcus, Cesar I. Torres, Bruce E. Rittmann, *Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates*. *Water Research*, 2008. **42**(6-7): p. 1501-1510.
- 16.- Zhang, X. C. y A. Halme, *Modelling of a microbial fuel cell process*. *Biotechnology Letters*, 1995. **17**(8): p. 809-814.
- 17.- Kim, J.R., B. Min, y B.E. Logan, *Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005. **68**(1): p. 23-30.
- 18.- Liu, H., S. Cheng, y B.E. Logan, *Power Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cells as a Function of Ionic Strength, Temperature, and Reactor Configuration*. *Environmental Science & Technology*, 2005. **39**(14): p. 5488-5493.
- 19.- Min, B., S. Cheng, y B.E. Logan, *Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells*. *Water Research*, 2005. **39**(9): p. 1675-1686.

- 20.- Myers, C. R. y K. H. Nealson, *Bacterial Manganese Reduction and Growth with Manganese Oxide as the Sole Electron Acceptor*. Science, 1988. **240**(4857): p. 1319-1321.
- 21.- Beliaev, A.S., Saffarini DA, McLaughlin JL & Hunnicutt D., *MtrC an outer membrane decahaem c cytochrome required for metal reduction in Shewanella putrefaciens MR-1*. Molecular Microbiology, 2001. **39**(3): p. 722-730.
- 22.- Park, D.H.a.G.J.Z., *Improved Fuel Cell and Electrode Designs for Producing Electricity from Microbial Degradation*. Biotechnology and Bioengineering 2003. **81**(3): p. 348-355.
- 23.- Chaudhuri, S.K. y D.R. Lovley, *Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells*. Nature biotechnology, 2003. **21**(10): p. 1229-32.
- 24.- Holmes, D.E., Bond, D. R. y Lovley, D.R., *Electron transfer by Desulfobulbus propionicus to Fe(III) and graphite electrodes*. Applied and Environmental Microbiology, 2004. **70**(19): p. 6023-6030.
- 25.- Kim, B.H., Kim H. J., *Direct Electrode Reaction of Fe(III)-Reducing Bacterium, Shewanella putrefaciens*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 1999. **9**(2): p. 127-131.
- 26.- Chang, I.S., Moon, H., Bretschger, O., Jang, J. K., Park, H. I., Nealson, K. H. y Kim, B. H., *Electrochemically active bacteria (EAB) and mediator-less microbial fuel cells*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2006. **16**(2): p. 163-177.
- 27.- Reimers, C.E., L. M. Tender, S. Fertig., W. Wang., *Harvesting Energy from the Marine Sediment-Water Interface*. Environmental Science and Technology, 2001. **35**(1): p. 192-195.
- 28.- Bond, D.R., *Electrode-Reducing Microorganisms That Harvest Energy from Marine Sediments*. Science, 2002. **295**(5554): p. 483-485.
- 29.- Tender, L.M., Reimers, C.E., Stecher, H.A., Holmes, D.E., Bond, D.R., Lowy, D.A., Pilobello, K., Fertig, S.J. and Lovley, D.R., *Harnessing microbially generated power on the seafloor*. Nat Biotech, 2002. **20**(8): p. 821-825.

- 30.- Lee, J., Bretschger, O., Jang, J. K., Park, H. I., Nealson, K. H. y Kim, B. H., *Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses*. FEMS Microbiology Letters, 2003. **223**(2): p. 185-191.
- 31.- Rabaey, K., G. Lissens, Steven D. Siciliano & Willy Verstraete., *A Microbial Fuel Cell Capable of Converting Glucose to Electricity at High Rate and Efficiency*. Biotechnology Letters 2003. **25**(18): p. 1531.
- 32.- Kim, B.H., Park, H.S., Kim, H.J., Kim, G.T., Chang, I.S., Lee, J., Phung, N.T., *Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004. **63**(6): p. 672-681.
- 33.- Liu, H., R. Ramnarayanan, y B.E. Logan, *Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell*. Environmental Science & Technology, 2004. **38**(7): p. 2281-2285.
- 34.- Rabaey, K., N. Boon, Siciliano, S.D., Verhaege, M. and Verstraete, W., *Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer*. Appl. Environ. Microbiol., 2004. **70**(9): p. 5373-5382.
- 35.- Pham, T.H., K. Rabaey, P. Aelterman, P. Clauwaert, L. De Schampelaire, N. Boon, and W. Verstraete., *"Microbial Fuel Cells in Relation to Conventional Anaerobic Digestion Technology*. Engineering in Life Sciences, 2006. **6**(3): p. 285-292.
- 36.- Rabaey, K., Jorge Rodríguez, Linda L Blackall, Jurg Keller, Pamela Gross, Damien Batstone, Willy Verstraete y Kenneth H Nealson., *Microbial ecology meets electrochemistry: electricity-driven and driving communities*. ISME J, 2007. **1**(1): p. 9-18.
- 37.- Liu, H., S. Grot, y B.E. Logan, *Electrochemically Assisted Microbial Production of Hydrogen from Acetate*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(11): p. 4317-4320.
- 38.- Oh, S. y B.E. Logan, *Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies*. Water Research, 2005. **39**(19): p. 4673-4682.

- 39.- Gregory, K.B. y D.R. Lovley, *Remediation and Recovery of Uranium from Contaminated Subsurface Environments with Electrodes*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(22): p. 8943-8947.
- 40.- Park, D.H. y Zeikus, J.G., *Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using & lt; SMALL & gt; Shewanella putrefaciens< /SMALL & gt;*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002. **59**(1): p. 58-61.
- 41.- Niessen, J., Schroder, U., Rosenbaum, M. y Scholz, F., *Fluorinated polyanilines as superior materials for electrocatalytic anodes in bacterial fuel cells*. Electrochemistry Communications, 2004. **6**(6): p. 571-575.
- 42.- Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, T.H., Boon, N. y Verstraete, W., *Continuous Electricity Generation at High Voltages and Currents Using Stacked Microbial Fuel Cells*. Environmental Science & Technology, 2006. **40**(10): p. 3388-3394.
- 43.- Ringeisen, B.R., Henderson, E., Wu, P.K., Pietron, J., Ray, R., Little, B., Biffinger, J.C. y Jones Meehan, J.M., *High Power Density from a Miniature Microbial Fuel Cell Using Shewanella oneidensis DSP10*. Environmental Science & Technology, 2006. **40**(8): p. 2629-2634.
- 44.- Biffinger, J.C., J. Pietron, Ricky Ray, Brenda Little, Bradley R. Ringeisen., *A Biofilm Enhanced Miniature Microbial Fuel Cell using Shewanella oneidensis DSP10 and Oxygen Reduction Cathodes*. Biosensors and Bioelectronics, 2007. **22**(8): p. 1672-1679.
- 45.- Biffinger, J.C., J. Pietron, Ricky Ray, Brenda Little, Bradley R. Ringeisen., *Diversifying Biological Fuel Cell Designs by Use of Nanoporous Filters*. Environmental Science & Technology, 2007. **41**(4): p. 1444-1449.
- 46.- Zhao, F., Harnisch, F., Schroder, U., Scholz, F , Bogdanoff, P. y Herrmann, I., *Challenges and Constraints of Using Oxygen Cathodes in Microbial Fuel Cells*. Environmental Science & Technology, 2006. **40**(17): p. 5193-5199.
- 47.- Weber, K.A., L.A. Achenbach, y J.D. Coates, *Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction*. Nat Rev Micro, 2006. **4**(10): p. 752-764.
- 48.- Newman, J.A.G.a.D.K., *Extracellular respiration*. Mol Microbiol., 2007. **65**(1): p. 1-11.

- 49.- Lovley, D.R., *The microbe electric: conversion of organic matter to electricity*. Current Opinion in Biotechnology, 2008. **19**(6): p. 564-571.
- 50.- Monod, J., *The growth of bacterial cultures*. Annu Rev Microbiol 1949. **3**(1): p. 371-394.
- 51.- Mosey, M.P., *Modeling of anaerobic-digestion processes (a discussion of concepts)*. Water Sci Technol, 1991. **24**: p. 17-31.
- 52.- Pavlostathis, G.g., *Kinetics of anaerobic treatment*. Water Sci Technol, 1991. **24**: p. 35-59.
- 53.- Rittmann BE y McCarty PL., *Environmental biotechnology: Principles and applications*. New York, 2001: p. 735.
- 54.- Marsili E, B.D., Shikhare ID, Coursolle D, Gralnick JA y B. DR, *Shewanella secretes flavins that mediate extracellular electron transfer*. P Natl Acad Sci USA, 2008. **105**(10): p. 3968-3973.
- 55.- Torres CI, Marcus AK, Parameswaran P, Rittmann BE. 2008., *Kinetic Experiments for Evaluating the Nernst–Monod Model for Anode-Respiring Bacteria (ARB) in a Biofilm Anode*. Environmental Science & Technology, 2008. **42**(17): p. 6593-6597.
- 56.- Torres, C.I., A. Kato Marcus, y B.E. Rittmann, *Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria*. Biotechnology and Bioengineering, 2008. **100**(5): p. 872-881.
- 57.- Magnuson TS, I.N., Hodges-Myerson AL, Davidson G, and G.G.L.D. Maroney MJ, *Isolation, characterization and gene sequence analysis of a membrane-associated 89 kDa Fe(III) reducing cytochrome c from Geobacter sulfurreducens*. Biochem J, 2001. **359**: p. 147-152.
- 58.- Bae, W, Rittmann, BE., *A structured model of a dual limitation kinetics*. Biotechnol Bioeng, 1996. **49**: p. 683-689.
- 59.- Bard AJ, Faulkner LR., *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley, New York, 2001: p. 350.

- 60.- Qian, H., M. Qian, y X. Tang, *Thermodynamics of the General Diffusion Process: Time-Reversibility and Entropy Production*. Journal of Statistical Physics, 2002. **107**(5): p. 1129-1141.
- 61.- Dos Santos MMC, de Sousa PMP, Goncalves MLS, Lopes H, Moura I & Moura JJG, *Electrochemical studies on c-type cytochromes at microelectrodes*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1999. **464**(1): p. 76-84.
- 62.- Bockris O'M, R.A.G.-A.M., *Modern Electrochemistry: Fundamentals of Electronics*. Plenum Publishing Corporation, New York., 2000.
- 63.- Finkelstein, D.A., L.M. Tender, y J.G. Zeikus, *Effect of Electrode Potential on Electrode-Reducing Microbiota*. Environmental Science & Technology, 2006. **40**(22): p. 6990-6995.
- 64.- Torres, C., A. Kato Marcus, y B. Rittmann, *Kinetics of consumption of fermentation products by anode-respiring bacteria*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007. **77**(3): p. 689-697.
- 65.- Newman, D.K. y R. Kolter, *A role for excreted quinones in extracellular electron transfer*. Nature, 2000. **405**(6782): p. 94-97.
- 66.- Von Canstein H, Ogawa J, Shimizu S y Lloyd JR, *Secretion of flavins by Shewanella species and their role in extracellular electron transfer*. Applied and environmental microbiology, 2008. **74**(3): p. 615-23.
- 67.- Zhang T, Cui C, Chen S, Yang H & Shen P., *The direct electrocatalysis of Escherichia coli through electroactivated excretion in microbial fuel cell*. Electrochemistry Communications, 2008. **10**(2): p. 293-297.
- 68.- Lovley DR, Coates J, Blunt-Harris EL, Phillips EJP y Woodward JC, *Humic substances as electron acceptors for microbial respiration*. Nature, 1996. **382**(6590): p. 445-448.
- 69.- Lovley, N.K., *Mechanisms for Fe(III) oxide reduction in sedimentary environments*. Geomicrobiology Journal, 2002. **19**(141-159).

- 70.- Torres CI, Krajmalnik-Brown R, Parameswaran P, Marcus AK, Wanger G, Gorby YA & Rittmann BE, *Selecting Anode-Respiring Bacteria Based on Anode Potential: Phylogenetic, Electrochemical, and Microscopic Characterization*. Environmental Science & Technology, 2009. **43**(24): p. 9519-9524.
- 71.- Gorby, Y.A., Yanina, S., McLean, J.S., Rosso, K.M., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T.J., Chang, I.S., Kim, B.H., Kim, K.S., Culley, D.E., Reed, S.B., Romine, M.F., Saffarini, D.A., Hill, E.A., Shi, L., Elias, D.A., Kennedy, D.W., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishii, S., Logan, B.E., Nealon, K.A. and Fredrickson, J.K., *Electrically conductive bacterial nanowires produced by Shewanella oneidensis strain MR-1 and other microorganisms*. P Natl Acad Sci USA, 2006. **103**: p. 11358-11363.
- 72.- Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T. y Lovley, D.R., *Extracellular electron transfer via microbial nanowires*. Nature, 2005. **435**(7045): p. 1098-1101.
- 73.- Rozendal, R., Hamelers, H.V.M., Molenkamp, R.J. y Buisman, C.J.N., Performance of single chamber biocatalyzed electrolysis with different types of ion exchange membranes. Water Research, 2007. **41**(9): p. 1984-1994.
- 74.- Liu, H., S. Cheng, y B.E. Logan, Production of Electricity from Acetate or Butyrate Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell. Environmental Science & Technology, 2004. **39**(2): p. 658-662.
- 75.- Logan, B.E., Cheng, S., Watson, V. and Estadt, G., Graphite Fiber Brush Anodes for Increased Power Production in Air-Cathode Microbial Fuel Cells. Environmental Science & Technology, 2007. **41**(9): p. 3341-3346.
- 76.- Wanner O, E.H., Morgenroth E, Noguera D, Picioreanu C, Rittmann BE, Van Loosdrecht MCM, Mathematical modeling of biofilms. 2006.
- 77.- Schroder, U., Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. Physical Chemistry Chemical Physics, 2007. **9**(21): p. 2619-2629.
- 78.- Korneel Rabaey, L.A., Uwe Schroder and Jurg Keller, chapter: Towards a mathematical description of bioelectrochemical systems, Bioelectrochemical Systems:

From Extracellular Electron Transfer to Biotechnological Application, I. Publishing, Editor. 2010: London, UK. p. 423-446.

79.- Picioreanu, C., Multidimensional Modeling of biofilm structure, in Department of Biochemical Engineering, Kluwer Laboratory for Biotechnology. 1999, Delft University of Technology: The Netherlands. p. 254.

80.- Xavier, J.d.B., C. Picioreanu, y M.C.M. van Loosdrecht, A general description of detachment for multidimensional modelling of biofilms. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005. **91**(6): p. 651-669.

81.- Picioreanu C, van Loosdrecht MC, Katuri KP, Scott K, Head IM., Mathematical model for microbial fuel cells with anodic biofilms and anaerobic digestion. *water Sci Technol*, 2008. **57**(7): p. 965-971.

82.- Nevin KP, Mechanisms for Fe(III) Oxide Reduction in Sedimentary Environments *Geomicrobiology Journal*, 2002, **19**(2): p. 141-159.

83.- Reguera G, N.K., Nicoll JS, Covalla SF, Woodard TL, Lovley DR., Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006. **73**(11): p. 7245-7248.

84.- Zeng, Y., Choo, Y., F., Kim, B., Wu, P., Modelling and simulation of two-chamber microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, 2010. **195**(1): p. 79-89.

85.- Turick CE, T.L.C.F., Melanin production and use as a soluble electron shuttle for Fe(III) oxide reduction and as a terminal electron acceptor by *Shewanella algae* BRy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002. **68**(5): p. 2436-2444.

86.- Newman, J.S., ed. *Electrochemical Systems*. ed. Prentice-Hall. 1991: Englewood Cliffs, NY. 480.

87.- Bae, W. y B.E. Rittmann, Responses of intracellular cofactors to single and dual substrate limitations. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996. **49**(6): p. 690-699.

88.- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., Sanders, W. T. M., Siegrist, H. & Vavilin, V. A., ed. *Anaerobic Digestion Model No. 1*

(ADM1), IWA Task Group for Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes. ed. I. Publishing. 2002: London. 80.

89.- Kissel, J.C., P.L. McCarty y R.L. Street, *Numerical Simulation of Mixed-Culture Biofilm*. Journal of Environmental Engineering, 1984. **110**(2): p. 393-411.

90.- Rittmann, B.E. y J.A. Manem, *Development and experimental evaluation of a steady-state, multispecies biofilm model*. Biotechnology and Bioengineering, 1992. **39**(9): p. 914-922.

91.- Wanner, O. y W. Gujer, *A multispecies biofilm model*. Biotechnology and Bioengineering, 1986. **28**(3): p. 314-328.

92.- Stumm, W., ed. *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. 3rd ed., ed. Wiley. 1995: Zurich. 1040.

93.- Rittmann, B.E., C.I. Torres y A.K. Marcus, *Understanding the Distinguishing Features of a Microbial Fuel Cell as a Biomass-Based Renewable Energy Technology*, in *Emerging Environmental Technologies*, V. Shah, Editor. 2008, Springer Netherlands. p. 1-28.

94.- Rittmann BE, M.P., ed. *Environmental Biotechnology: Principles and applications*. ed. McGraw-Hill. 2001: New York. 735.

95.- Wen, Q., Wu, Y., Cao, D., Zhao, L., Sun, Q., *Electricity generation and modeling of microbial fuel cell from continuous beer brewery wastewater*. Bioresource Technology, 2009. **100**(18): p. 4171-4175.

96.- Pinto, R.P., et al., *A two-population bio-electrochemical model of a microbial fuel cell*. Bioresource Technology, 2010. **101**(14): p. 5256-5265.

97.- Ter Heijne, A., Hamelers, H. V., Saakes, M., Buismana, C. J. N., *Performance of non-porous graphite and titanium-based anodes in microbial fuel cells*. Electrochimica Acta, 2008. **53**(18): p. 5697-5703.

98.- Hamelers HV, T.H.A., Stein N, Rozendal RA, Buisman CJ., *Bioresour Technol*. 2011 Jan;102(1):381-7. Epub 2010 Jul 23. Biosource technology, 2011. **102**(1): p. 381-387.

- 99.- Dong, G.R., *Effect of Substrate Concentration and Loading and Catalyst Type on the Performance of a Microbial Fuel Cell*. 2009, University of Waterloo: Waterloo, Ontario, Canada. p. 159.
- 100.- Marcus, A.K., C.I. Torres, y B.E. Rittmann, *Analysis of a microbial electrochemical cell using the proton condition in biofilm (PCBIOFILM) model*. *Bioresource Technology*, 2011. **102**(1): p. 253-262.
- 101.- Marcus, A.K., C.I. Torres, and B.E. Rittmann, *Evaluating the impacts of migration in the biofilm anode using the model PCBIOFILM*. *Electrochimica Acta*, 2010. **55**(23): p. 6964-6972.
- 102.- Park, S., Bae, W., Chung, J., Baek, S.C., (2007). "Empirical model of the pH dependence of the maximum specific nitrification rate." *Process Biochemistry* **42**(12): 1671-1676.
- 103.- Bretschger, O., *Electron transfer capability and metabolic processes of the genus Shewanella with applications to the optimization of microbial fuel cells*. 2008. Tesis Doctoral en Ingeniería. Universidad Southern California. 176 pp.
- 104.- Richter H., Kelly P. Nevin, Hongfei Ji, Daniel A. Lowy, Derek R. Lovley y Leonard M. Tender, Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer, *Energy Environ. Sci.*, 2009, 2, 506–516.
- 105.- Fan, Y., Hu, H. y Liu, H. (2007), "Sustainable Power Generation in Microbial Fuel Cells Using Bicarbonate Buffer and Proton Transfer Mechanisms", *Environmental Science and Technology* , **41**: 8154-8158.
- 106.- Puig, S., Serra, M., Coma, M., Cabré, M., Balaguer, M.D. and Colprim, J. (2010), "Effect of pH on nutrient dynamics and electricity production using microbial fuel cells", *Bioresource Technology* , **101**: 9594-9599.

- 107.- K Scott, I Cotlarciuc, I Head, K P Katuri, D Hall, J B Lakeman y D Browning., (2008), Fuel cell power generation form marine sediments: investigation of cathode materials., *Chem. Technol. Biotechnol* 83 (9): 1244-1254.
- 108.- Erable, B., Duteanu, N., Kumar, S. M. S., Feng, Y., Ghangrekar, M. M. and Scott, K. (2009), "Nitric acid activation of graphite granules to increase the performance of the non-catalyzed oxygen reduction reaction (ORR) for MFC applications", *Electrochemistry Communications*, **11**, **7**: 1547-1549.
- 109.- Yuan, Y., Zhao, B., Zhou, S., Zhong, S., Zhuang, L., 2011, Electrocatalytic activity of anodic biofilm responses to pH changes in microbial fuel cells, *Bioresource Technology*, 102-(13) 6887- 6891.
- 110.- Standard methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st edn American Puclic Health Association American Water Work Associaton/Water Enviroment Federation, Washington DC, USA, 2005.
- 111.- Alavez J (2007). Estimación de Parámetros en Ecuaciones diferenciales Ordinarias: Identificabilidad y aplicaciones a Medicina. Universidad Autónoma de Yucatán.
- 112.- Ison M, Sitt J, Trevisan M (2005). Curso de Sistemas Complejos: Algoritmos Genéticos, Aplicación en Matlab. www.df.uba.ar/users/mison/genetico.tar.gz
- 113.- Maroto C, Alcazar J, Ruiz R., (2005), Investigación Operativa: Modelos y Técnicas de Optimización. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- 114.- Goldberg D (1989), Genetic Algorithms in Search Optimization and Machine Learning. Addison-Wesley Longman Inc.
- 115.- Sánchez Herrera, Diana Estela (2011). Estudio del desempeño electroquímico y microbiológico para un diseño de CCM tipo PEM en cuatro fases (*Tesis de Maestría* - Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.).
- 116.- S. Venkata Mohan, S. Srikanth, P.N. Sarma., Non-catalyzed microbial fuel cell (MFC) with open air cathode for bioelectricity generation during acidogenic wastewater treatment. *Bioelectrochem.* 75, 130-135. 2009.

- 117.- Rozendal, R. A., Jeremiasse, A. W., Hamelers, H. V. M., Buisman, C. J. N., Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environ Sci Technol* 42, 629-34. 2008.
- 118.- Blanco Cocom L.D. (2010) Modelación Matemática para un Sistema en Continuo de Generación de Hidrógeno en Fase Líquida, Tesis licenciatura, Universidad Autónoma de Yucatán.
- 119.- Lee, H.S., Torres, C.I., Rittmann, B.E., 2009. Effects of substrate diffusion and anode potential on kinetic parameters for anode-respiring bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 43, 7571–7577.
- 120.- Kissel JC, Mccarty PL, Street RL. 1984. Numerical-simulation of mixed-culture biofilm. *J Environ Eng-Asce* 110:393–411.
- 121.- Picioreanu C, Kreft JU, Van Loosdrecht MCM. 2004. Particle-based multidimensional multispecies model. *Appl Environ Microbiol* **70**(5):3024-3040.
- 122.- Reichert, P. (1994a). AQUASIM - A tool for simulation and data analysis of aquatic systems, *Wat. Sci. Tech.*, 30(2):21-30.
- 123.- Reichert, P. (1994b). Concepts underlying a computer program for the identification and simulation of aquatic systems. *Schriftenreihe der EAWAG 7*, Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG), CH-8600, Dübendorf, Switzerland.
- 124.- Wanner O. y Morgenroth E., Biofilm modeling with AQUASIM, *Water Science and Technology* Vol 49 No 11–12 pp 137–144.
- 125.- Logan, Bruce E. © 2008, *Microbial fuel cells*, John Wiley & Sons.
- 126.- Escalas A (2006). Modelación Matemática de Procesos Biológicos de Tratamiento. Centro de Investigaciones y Estudios de Posgrado, S.L.P., México.
- 127.- Bamford CH & Compton RG (1986) *Electrode Kinetics: Principles and Methodology*. Elsevier Science Ltd, Amsterdam.

- 128.- Paalme T, Elken R, Kahru A, Vanatalu K & Vilu R , The growth rate control in *Escherichia coli* at near to maximum growth rates: the A-stat approach. *Anton Leeuw Int J G*, 1997, 71: 217–230.
- 129.- Xu B, Jahic M & Enfors SO (1999) Modeling of overflow metabolism in batch and fed-batch cultures of *Escherichia coli*. *Biotechnol Progr* 15: 81–90.
- 130.- Siegrist H & Gujer W, Mass transfer mechanisms in a heterotrophic biofilm. *Water Res*, 1985 , 19: 1369–1378.
- 131.- Nevin KP & Lovley DR Mechanisms for accessing insoluble Fe(III) oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by *Geothrix fermentans*. *Appl Environ Microb*, 2002b, 68:2294–2299.
- 132.- Kubota LT & Gorton L, Electrochemical study of flavins, phenazines, phenoxazines and phenothiazines immobilized on zirconium phosphate. *Electroanalysis*, 1999, 11: 719–728.
- 133.- Marsili E, Rollefson JB, Baron DB, Hozalski RM & Bond DR Microbial biofilm voltammetry: direct electrochemical characterization of catalytic electrodeattached biofilms. *Appl Environ Microb*, 2008, 74: 7329–7337.
- 134.- Catal T, Xu ST, Li KC, Bermek H & Liu H, Electricity generation from polyalcohols in single-chamber microbial fuel cells. *Biosens Bioelectron*, 2008, 24: 849–854.
- 135.- El-Naggar MY, Gorby YA, Xia W & Nealson KH, The molecular density of states in bacterial nanowires. *Biophys J*, 2008, 95: L10–L12.
- 136.- Busalmen JP, Esteve-Nunez A, Berna A & Feliu JM, C-type cytochromes wire electricity-producing bacteria to electrodes. *Angew Chem Int Edit*, 2008, 47: 4874–4877.
- 137.- Dumas C, Basseguy R & Bergel A, DSA to grow electrochemically active biofilms of *Geobacter sulfurreducens*. *Electrochim Acta*, 2008, 53: 3200–3209.

- 138 .- Lloyd JR, Blunt-Harris EL & Lovley DR, The periplasmic 9.6-kilodalton c-type cytochrome of *Geobacter sulfurreducens* is not an electron shuttle to Fe(III). *J Bacteriol*, 1999, 181: 7647–7649.
- 139 .- Gil, G. C.; Chang, I. S.; Kim, B. H.; Kim, M.; Jang, J. K.; Park, H. S.; Kim, H. J. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosens. Bioelectron.* 2003, 18, 327-334.
- 140 .- Rozendal, R. A., Hamelers, H. V. M., Buisman, C. J. N. Effects of membrane cation transport on pH and microbial fuel cell performance. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, 5206-5211.
- 141.- Rozendal, R. A., Hamelers, H. V. M., Euverink, G. J. W., Metz, S. J., Buisman, C. J. N. Principle and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis. *Int. J. Hydrogen Energy* 2006, 31, 1632-1640.
- 142.- Bishop, PL, Rittmann, BE, Modelling heterogeneity in biofilms: report of the discussion session. *Water Sci Tech*, 1995, 32, 263-265.
- 143.- Lapidou, CS, Rittmann, BE., Modeling the development of biofilm density including active bacteria, inert biomass, and extracellular polymeric substances. *Water Res*, 2004, 38, 3349-3361.
- 144.- Costerton, JW, Lewandowski, Z, DeBeer, D, Caldwell, D, Korber, D, and James, G.1994. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 176, 2137-2142.
- 145.- Hibiya, K, Terada, A, Tsuneda, S, and Hirata A. Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor. *J Bacteriol*, 2003, 9, 23-32.
- 146.- Eberl, HJ, Parker, DF, and van Loosdrecht, MCM., A new deterministic spatiotemporal continuum model for biofilm development. *J Theor Med*, 2001, 3, 161-175.
- 147.- Rittmann, BE, Manem, JA., Development and experimental evaluation of a steady-state, multispecies biofilm model. *Biotechnol Bioeng*, 1992, 39, 914-922.

- 148.- Rittmann, BE, McCarty, PL. 1980. Model of Steady-State-Biofilm Kinetics. *Biotechnol Bioeng* 22, 2343-2357.
- 149.- Franks, A.E., Nevin, K.P., Jia, H., Izallalen, M., Woodard, T.L., Lovley, D.R., 2009. Novel strategy for three-dimensional real-time imaging of microbial fuel cell communities: monitoring the inhibitory effects of proton accumulation with the anode biofilm. *Energy Environ. Sci.* 2, 113–119.
- 150.- VanBriesen, J.M., Rittmann, B.E., Modeling speciation effects on biodegradation in mixed metal/chelate systems. *Biodegradation*, 1999, 10, 315–330.
- 151.- Snoeyink, V.L., Jenkins, D., 1980. *Water Chemistry*. John Wiley, New York.
- 152.- Szwedzinski, H., Arvin, E., Harremoes, P., 1986. PH-decrease in nitrifying biofilms. *Water Res.* 20, 971–976.
- 153.- Picioreanu, C., Van Loosdrecht, M.C.M., 2002. A mathematical model for initiation of microbiologically influenced corrosion by differential aeration. *J. Electrochem. Soc.* 149 (6), B211–B223.
- 154.- Heijnen, J.J., Bioenergetics of microbial growth. In: Flickinger, M.C., Drew, S.W. (Eds.), *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation*. Wiley-Interscience, 1999, New York, pp. 267–291.
- 155.- Kim, GT et al. Bacterial community structure, compartmentalization and activity in a microbial fuel cell. 2006. *J Appl Microbiol* 101(3):698–710.
- 156.- Zill Dennis, *Differential Equations with Modeling Applications* Brooks/Cole Publishing, 6th ed. ISBN 0-534-95574-6