



**Producción de bioelectricidad por medio de una
celda de combustible microbiana fotosintética
(PMFC)**

Luis Alejandro Bustos Alvarez

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería, Programa de Bioingeniería
Bogotá, Colombia
2019

Producción de bioelectricidad por medio de una celda de combustible microbiana fotosintética (PMFC)

Luis Alejandro Bustos Alvarez

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el
título de:

Bioingeniero

Tutor:

Juan José Carrillo Castellanos

Cotutora:

Natalia Lucía Rojas Prieto

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería, Programa de Bioingeniería

Bogotá, Colombia

2019

Dedicatoria

A Dios, a mis padres y a la persona interesada en mejorar la calidad de vida y el medio ambiente, pues con ideas pequeñas se pueden lograr grandes cambios...

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por permitirme llevar a cabo este proyecto y que, gracias a él, puedo imaginar un futuro mejor en donde pequeñas ideas logren grandes cambios.

A mi familia, en especial a mis padres, por darme su apoyo incondicional todo este tiempo y por permitirme pasar mi ciclo universitario de la mejor manera posible. Siempre estuvieron ahí, con todas las fuerzas para que tanto ahora como siempre pueda gozar de felicidad. A mi abuelo, quien fue como mi compañero de trabajo, su interés por cosas nuevas no tiene límites y disfruté llevar a cabo este proyecto a su lado.

A todos y cada uno de mis amigos y compañeros de clase, quienes estuvieron ahí para apoyarme y animarme cuando el proyecto parecía perdido, quienes se alegraban por mis triunfos.

A mi Tutor de trabajo, el profesor e ingeniero Juan José Carrillo, por su gran ayuda y apoyo en este proceso, pues nunca dudo de mis capacidades para lograr lo que he podido realizar con este proyecto. A pesar de no ser su fuerte, él siempre tuvo interés por este tema y eso me lo hizo saber y me hizo comprender la importancia del proyecto.

A mi Cotutora de trabajo, la profesora y microbióloga Natalia Rojas, por su gran apoyo especialmente en la realización del ciclo experimental del proyecto.

A todos los profesores que participaron durante mi ciclo universitario, gracias por su tiempo y por sus conocimientos que me transmitieron saber, confianza y perseverancia.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa o indirectamente a la realización de este proyecto.

Tabla de contenido

Dedicatoria	III
Agradecimientos	V
Resumen	XXI
Introducción	XXIII
1. Definición del problema	1
2. Justificación	5
3. Objetivos	9
3.1. Objetivo general	9
3.2. Objetivos específicos	9
4. Marco referencial	11
4.1. Preámbulo	11
4.2. Fotosíntesis	12
4.3. Captación de luz y transporte fotosintético de electrones	13

4.4.	Planta en sistema eutrófico	17
4.5.	Rizosfera y Rizodeposición	19
4.6.	Bacterias electroquímicamente activas	20
4.7.	Especificaciones eléctricas	24
4.8.	PMFC	27
4.9.	Resistencia interna	30
5.	Estado del arte	33
5.0.1.	Tecnología Plant-e	34
5.0.2.	PMFC utilizando compost y separador de arcilla	36
5.0.3.	PMFC con un biocátodo reductor de oxígeno integrado	37
5.0.4.	Otras investigaciones	38
6.	Metodología desarrollada	41
6.1.	Diseño de la celda	41
6.1.1.	Selección de variables de diseño	41
6.1.2.	Diseños	50
6.2.	Implementación de la celda	50
6.2.1.	Adquisición de componentes	50
6.2.2.	Recuento de la población microbiana	51
6.2.3.	Identificación presuntiva de la población microbiana	53
6.2.4.	Ensamblaje de la celda	54
6.2.5.	Estrategias para maximizar la potencia	54

6.2.6.	Determinación de la demanda de oxígeno	57
6.3.	Operación de la celda	58
6.3.1.	Evaluación de potencia y de densidad de potencia	58
7.	Resultados y discusión	61
7.1.	Diseño de la celda	61
7.1.1.	Selección de componentes	61
7.1.2.	Modelos y planos	65
7.2.	Implementación de la celda	71
7.2.1.	Adquisición de componentes	71
7.2.2.	Recuento e identificación de la población micro- biana	72
7.2.3.	Ensamblaje de la celda	81
7.2.4.	Estrategias para maximizar la potencia	83
7.2.5.	Determinación de la demanda de oxígeno	87
7.3.	Operación de la celda	92
7.3.1.	PMFC bajo condiciones iniciales	92
7.3.2.	MFC bajo condiciones iniciales	93
7.3.3.	PMFC bajo estrategias de maximización de po- tencia	93
8.	Rediseño de la Celda de Combustible Microbiana Fotosintéti- ca	97
8.1.	Metodología aplicada	97
8.1.1.	Rediseño - Celda final	97

8.1.2.	Ensamblaje según rediseño	99
8.1.3.	Evaluación según rediseño	100
8.1.4.	Análisis estadístico	101
8.2.	Resultados y discusión	101
8.2.1.	Rediseño - Celda final	101
8.2.2.	Ensamblaje según rediseño	102
8.2.3.	PMFC bajo condiciones de rediseño	105
8.2.4.	Análisis estadístico	112
9.	Conclusiones	115
10.	Recomendaciones	117
	Referencias	119
	Referencias	119
A.	Anexo A	129
A.1.	Estadísticas de consumo energético según la Unidad de Planeación Minero Energética -UPME	129
B.	Anexo B	133
B.1.	Cantidades de reactivos usados para la preparación de agares y caldos	133
C.	Anexo C	135
C.1.	Planos de diseño de la celda preliminar en Fusion360 . .	135

D. Anexo D	137
D.1. Planos del diseño del compartimento interno de la celda final en Fusion360	137
E. Anexo E	139
E.1. Anexo V. Planos de diseño de la celda final en Fusion360	139
F. Anexo F	141
F.1. Interpretación de las pruebas del sistema RapID ONE . .	141
G. Anexo G	143
G.1. Resultados de la prueba bioquímica RapID ONE System	143
H. Anexo H	145
H.1. Anexo VIII. Comparación de los resultados de la prueba bioquímica RapID ONE System	145
I. Anexo I	147
I.1. Resultados de la prueba de DQO y DBO	147

Índice de tablas

4.1. Zonas seleccionadas por regiones en Colombia que cumplen condiciones para hallar <i>Geobacter spp.</i> (Romero, 2012).	23
5.1. Características de diferentes modelos de PMFC (Nitisoravut, 2017).	39
7.1. DQO de muestras de agua de las celdas.	87
F.1. Interpretación de la prueba RapID ONE (OXOID, s.f.). .	142
G.1. Resultados de la prueba según manual instructivo. . . .	144
H.1. Comparación de la prueba según manual instructivo. . .	146
I.1. Resultados de la prueba de DQO.	148
I.2. Resultados de la prueba de DBO.	148

Índice de figuras

1.1. Árbol de problema.	4
4.1. Reacción de la fotosíntesis y de la respiración celular (Pérez, 2009).	13
4.2. Estructura del cloroplasto (Modificado) (RSC, s.f.). . . .	14
4.3. Planta <i>E. crassipes</i> (BHL, s.f.).	18
4.4. Estructura externa de una célula del género <i>Geobacter</i> <i>spp.</i> (Modificado) (A) (Robinson,2015) y modelo me- tabólico de una célula del género <i>Geobacter spp.</i> (B) (Romero, 2012).	21
4.5. Clasificación taxonómica de secuencias de ADN bacte- riano de comunidades de PMFC, control de Celda de Combustible Microbiana de Sedimento (SMFC) y sedi- mento original a nivel de género (Lu, 2015).	22
4.6. Representación del circuito bajo el equivalente de Théve- nin con una carga cualquiera (A) y una resistencia (B) (Salazar, s.f.).	26

4.7. Proceso de generación de bioelectricidad en un PMFC (Gowtham, 2015).	29
4.8. Determinación de las diferentes resistencias que conforman la resistencia interna en una PMFC.	30
4.9. Densidad de potencia en función de la densidad de corriente a diferentes resistencias internas. X: Densidad de corriente; Y: Densidad de potencia	32
5.1. Producto Plant—e (Plant—e, s.f.).	35
5.2. PMFC utilizando compost y separador de arcilla (Sophia, 2017).	37
5.3. PMFC con biocátodo reductor de oxígeno integrado (Wetser, 2015).	40
5.4. PMFC con plantas <i>P. setaceum</i> (A) (Chiranjeevi, 2012) y <i>E. crassipes</i> (B) (Mohan, 2011).	40
6.1. Forma tubular (a) y forma plana (b) de una PMFC. A=Ánodo; C=Cátodo; M=Membrana; d_{an} =Distancia ánodo-membrana.	48
7.1. Primer diseño de la PMFC realizado en Tinkercad.	66
7.2. Segundo diseño de la PMFC, realizados en Fusion 360.	68
7.3. Tercer diseño de la PMFC realizado en Fusion 360.	70
7.4. Adquisición del Jacinto de agua en la laguna de Fúquene	71
7.5. Isla de Jacinto de agua encontrada en el perimetral de la Laguna de Fúquene.	72

7.6. Único agar PlateCount cuantificable con 259 colonias (Zona 1).	73
7.7. Resultados de crecimiento de <i>P. aeruginosa</i>	75
7.8. Recuento de microorganismos en la repetición de la prueba ba (No cuantificable).	76
7.9. Colonias crecidas en el agar Cetrimide en la repetición de la prueba (Zona 2).	76
7.10. Resultados de la prueba de identificación RapID ONE.	77
7.11. Resultado de la prueba de exposición a peróxido de hidrógeno.	78
7.12. Evaluación de arginina en diferentes especies de <i>Pseudomonas</i> (King, 1978)	80
7.13. PMFC y MFC implementadas.	81
7.14. Ensamblaje de las celdas.	82
7.15. Visualización de los Jacintos de agua al cabo de dos semanas.	83
7.16. Cambios realizados a los cables conductores.	84
7.17. Efecto de la corrosión galvánica en los cables conductores en diferentes configuraciones de los cables.	85
7.18. Resultados de la tinción de Gram.	86
7.19. Demanda Química de Oxígeno en las muestras de agua.	88
7.20. Demanda Biológica de Oxígeno en las muestras de agua.	89
7.21. Valores obtenidos de las PMFC en los primeros días según el cuarto diseño implementado.	92
7.22. Valores obtenidos de las MFC en los primeros días según el cuarto diseño implementado.	94

7.23. Valores obtenidos de las PMFC después de aumentar la población de <i>P. aeruginosa</i> según el cuarto diseño implementado.	94
8.1. Diseño del compartimento interno realizado en Fusion360.	102
8.2. Diseño final de la PMFC realizado en Fusion360.	103
8.3. Implementación del compartimento interno.	104
8.4. Implementación de rediseño en todas las celdas (según diseño final) y adición de <i>E. crassipes</i> a las MFC	104
8.5. Voc final de las PMFC en un período de 15 días	106
8.6. Isc final de las PMFC en un período de 15 días	108
8.7. Valores obtenidos de la PMFC1 en 15 días de operación.	110
A.1. Participación de consumo de energía en sector industrial por energético – 2014 (UPME, 2015).	130
A.2. Distribución del consumo por energético en el sector transporte – 2015 (UPME, 2016).	131
A.3. Consumo de energía eléctrica, gas natural y GLP en el Sector Terciario (UPME, 2013).	131
A.4. Usos de la electricidad en el Sector Terciario (UPME, 2013).	132
C.1. Celda preliminar diseñada en Fusion360.	136
D.1. Compartimento interno de la celda diseñado en Fusion360.	138
E.1. Celda final diseñada en Fusion360.	140

Resumen

Este proyecto consiste en el desarrollo de una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC) aprovechando el potencial eléctrico producto de la interacción entre la planta *E. crassipes* y un cultivo mixto que contenga especies bacterianas electroquímicamente activas. Con este fin, se llevó a cabo una metodología CDIO (Concepción, Diseño, Implementación y Operación), con el agregado de la repetición de la metodología para un rediseño de la celda de combustible.

Para el diseño se tuvieron en cuenta variables de diseño, tales como el tipo de planta, de sustrato, de electrodos y demás, que permitieron un mejor entendimiento del funcionamiento de la celda y mejores resultados, como un voltaje de circuito abierto superior a los 800mV.

En la implementación se realizaron pruebas de laboratorio, cualitativas y cuantitativas, como pruebas de identificación microbiana y pruebas de calidad del agua; esto con el fin de asegurar los resultados deseados en las celdas de combustible, además de realizar su montaje.

Para la operación se tomaron medidas de variables eléctricas como el voltaje de circuito abierto y la corriente de cortocircuito, con el fin

de obtener la resistencia de Thévenin, y a partir de esta, hacer pruebas experimentales para obtener la densidad de potencia de los sistemas, que era la variable de interés.

Los resultados obtenidos mostraron que la máxima densidad de potencia resultante de la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética rediseñada fue de $0,34\text{mW/m}^2$, a partir de la corriente de cortocircuito de $52\mu\text{A}$ y la tensión de circuito abierto de 795mV , teniendo en cuenta que la celda es de 17cm de diámetro por 15cm de longitud. Es importante resaltar que la tensión obtenida durante el ciclo de operación del rediseño logró valores mayores a 820mV , superando valores obtenidos en el estudio de (Mohan, Mohanakrishna, y Chiranjeevi, 2011), en el que se utilizó la misma especie vegetal.

Este trabajo presenta el proceso del desarrollo de un producto que genera electricidad sin un daño ambiental directo hacia la planta, comparado con otras fuentes alternas de energía que usa el ser humano. Finalmente, se espera que este trabajo incentive, en Colombia y la Universidad el Bosque, el estudio y la investigación en el tema de energías renovables, específicamente la Celdas de Combustible Microbiana Fotosintética.

Palabras clave: Bioelectricidad, densidad de potencia, celda de combustible, bioenergía.

Introducción

La necesidad de obtener energía ha sido y será uno de los mayores focos de evolución tecnológica para la especie humana, pues las fuentes de energía renovable jugarán un rol muy importante para el futuro (Demirbas y Demirbas, 2007), debido a que la demanda energética va en aumento, así como el daño ambiental debido al uso de combustibles fósiles. La dependencia continua a esta fuente NO renovable de energía hará muy complicado reducir las emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI) que contribuyen al calentamiento global (Popp, Lakner, Harangi-Rákosa, y Fáric, 2014). Las fuentes de energía solar, eólica, geotérmica e hidroeléctrica, indudablemente, disminuyen la huella de carbono mundial; sin embargo, presentan ciertas desventajas, tales como una transformación del ecosistema/paisaje y algunas limitaciones geográficas (Nitisoravut y Regmi, 2017).

Uno de los campos de trabajo emergente, en cuanto a las energías renovables se refiere, es la bioenergía. La bioenergía es considerada como aquella rama de las energías renovables donde el componente básico de transformación química es la biomasa. Actualmente, la bioenergía

proporciona aproximadamente el 10 % de los suministros mundiales y representa aproximadamente el 80 % de la energía derivada de fuentes renovables (Popp y cols., 2014),(Demirbas y Demirbas, 2007).

Dentro del campo de la bioenergía existe una rama que por medio de diferentes procesos químicos naturales es capaz de generar electricidad y se le conoce como la rama de las celdas de combustible; estas celdas usan microorganismos capaces de producir energía naturalmente para que ésta sea obtenida por medio de receptores conductores y así lograr la producción de bioelectricidad. El foco de este proyecto se orienta a una clase de celdas de combustible que se denominan como Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC). Una PMFC es una celda biológica que convierte la energía solar en bioelectricidad con la ayuda de la microbiota presente en la rizósfera de una planta. Estas celdas, actualmente, y a pesar de tener algunas limitaciones técnicas, son consideradas como unas de las mejores ideas para la producción de energía limpia que favorezca tanto al humano como al ambiente, pues la sinergia de los distintos actores del sistema permiten que no exista un daño ambiental local, ni que las plantas se vean afectadas (Nitisoravut y Regmi, 2017),(Gowtham y Shunmug, 2015).

Con respecto a las PMFC, se han desarrollado algunos avances en la producción de electricidad que se presentarán a lo largo del documento; sin embargo, es relevante enfatizar que a pesar que existen avances significativos para la producción de bioenergía para uso doméstico (por ejemplo, cargar un *smartphone*), el campo de estudio sigue necesitando de profesionales que logren maximizar y optimizar el proceso en general

para que a mediano plazo esta fuente de energía pueda estar ubicada entre las más importantes, pues parece ser una fuente emergente de energía sostenible (Nitisoravut y Regmi, 2017). El enfoque de este modelo bioenergético emergente está desarrollado con base en distintas ramas de la ciencia (botánica, bioquímica y microbiología) y la ingeniería (ing. química, ing. eléctrica e ing. ambiental), lo que permite que una PMFC pueda ser desarrollada por un bioingeniero.

Dentro de la problemática del desarrollo de nuevos modelos de energía y los diferentes temas relacionados que se investigan, en este trabajo de grado se planteó el desafío de diseñar, implementar y operar una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética, utilizando elementos naturales que estén disponibles en el territorio colombiano. Recientemente, se han desarrollado algunos modelos de celdas con diferentes especies vegetales e investigaciones en este campo pero dicha investigación no se ha realizado a nivel nacional (sólo se identificaron investigaciones en el territorio europeo y proyectos escolares no documentados en Colombia) y teniendo en cuenta la biodiversidad de flora colombiana, es Colombia quien se convierte en un candidato para promover el modelo bioenergético de estas celdas de combustible.

El objetivo principal de este proyecto fue desarrollar un sistema PMFC aprovechando el potencial eléctrico producto de la interacción entre la planta *E. crassipes* (también conocida como el Jacinto de agua) y un cultivo mixto que contenga especies bacterianas electroquímicamente activas. El método por el cual obtuvo bioelectricidad es el proceso general de obtención de energía que, según la teoría, se usa para cualquier cel-

da a desarrollar, y es conocido como el método de Plant-e (Gowtham y Shunmug, 2015).

Con este proyecto se obtuvo un documento de trabajo de grado que reflejó el desarrollo del proyecto; conforme a los objetivos propuestos, se tuvo un prototipo funcional junto con su modelo 3D y planos desarrollados en un software de diseño, un manual de usuario y un informe de evaluación de los resultados obtenidos de la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética.

Definición del problema

El uso excesivo de combustibles fósiles plantea riesgos ambientales y ha dado lugar a la búsqueda de fuentes de energía sostenibles (Nitisoravut y Regmi, 2017). Desde la última década, los combustibles fósiles han representado la mayor fuente de energía primaria para consumo mundial, donde los líquidos aportan 35 % y el carbón 27 % (Narváez, 2010); y para Colombia en el 2015, según la Unidad de Planeación Minero Energético (UPME), el consumo de carbón alcanzó un 28 % en el sector industrial, pero sobretodo la energía eléctrica se consumió alrededor de un 66 % en el sector terciario (UPME, 2016),(Narváez, 2010)(Ver Anexo I).

En los últimos años, la investigación en nuevos modelos de obtención de energía ha permitido el desarrollo de diferentes sistemas novedosos basados en campos como el de la bioenergía, algunos de los cuales se fundamentan en el principio de una celda electroquímica, como las celdas de hidrógeno, las Celda de Combustible Microbiana (MFC), las Celda de Combustible Enzimática (EFC), las Celda de Combustible

de Óxido Sólido (SOFC), las Celda de Combustible de Carbonato Fundido (MCFC), las Celda de Combustible de Membrana de Intercambio Protónico (PEMFC), entre otras (Santoro, Arbizzani, Erable, y Ieropoulos, 2017) (Chamousis, s.f.).

El desarrollo de este tipo de energía ha sido limitado, debido a varias características no beneficiosas que presentan dichas celdas, tales como altas temperaturas de funcionamiento, medios corrosivos, altos costos, la estabilidad del sistema, poca autosostenibilidad, baja densidad de potencia, entre otras (Santoro y cols., 2017). Estas limitaciones generalmente conducen a la imposibilidad de implementar los modelos a nivel comercial; no todos los tipos de celdas comparten todas o las mismas limitaciones, pero precisamente se evidencia el hecho que se necesita que se desarrollen nuevos tipos de celdas con el menor número de limitaciones posible.

Por ejemplo, las MFC necesitan un suministro externo del alimento de consumo para la microbiota del sistema, lo que genera inestabilidad en la potencia suministrada y la necesidad de la intervención de terceros para proveer el sustrato a la microbiota y que funcione correctamente la celda de combustible (Santoro y cols., 2017); las celdas de hidrógeno requieren de un almacenamiento y transporte del hidrógeno, lo cual aumenta los costos de operación de este tipo de celdas, además que el compuesto es altamente inflamable y no se encuentra de forma libre en la naturaleza (Chamousis, s.f.). Celdas como las MCFC y SOFC requieren de temperaturas altas de funcionamiento que ocasionan tiempos de arranque lentos y, por ende, demora en la producción de energía

(Santoro y cols., 2017),(Narváez, 2010); con respecto a las EFC, basadas en procesos enzimáticos, se debe tener en cuenta que las enzimas tienen un mejor rendimiento catalítico electroquímico, pero son insostenibles y menos duraderas en comparación con los microbios (Santoro y cols., 2017), lo que hace inconstante su producción de potencia y demanda una permanente supervisión. Las PEMFC necesitan metales preciosos como catalizadores para mejorar la velocidad de disociación de Hidrógeno (H_2) en el ánodo y, en mayor medida, para acelerar la descomposición del intermedio estable, Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que se produce en el cátodo durante la reacción de reducción de Oxígeno (O_2) en dos etapas (Santoro y cols., 2017); la necesidad de este tipo de metales, aumenta el costo y por consiguiente perjudica su producción.

Todos los ejemplos anteriores son necesarios para ilustrar que debido a dichas limitaciones (no sostenibilidad y altos costos), los sistemas pierden factibilidad, lo cual lleva al uso de energías no renovables, que repercuten negativamente en el ambiente (figura 1.1). Es por ello que es necesario el desarrollo de nuevos sistemas que permitan una producción constante de bioelectricidad y que sean autosostenibles, de tal modo que una PMFC puede solventar esa deficiencia de base de una MFC, puesto que, al introducir la planta en el sistema, el suministro de alimento a la microbiota está dado por ella misma y, por ende, se genera una producción de energía con mayor estabilidad y sostenibilidad (Nitorisavut y Regmi, 2017).

Por lo anterior, se realiza un proyecto con el objetivo de desarrollar un sistema PMFC aprovechando el potencial eléctrico producto de

la interacción entre la planta *E. crassipes* y un cultivo mixto que contenga especies bacterianas electroquímicamente activas; el proyecto se basa en la metodología CDIO (Concepción, Diseño, Implementación, Operación) y con ello se espera obtener un prototipo que, en lo posible, permita alimentar eléctricamente un dispositivo de bajo consumo de potencia, además de un manual de operación, un diseño 3D con sus especificaciones y un informe de evaluación de resultados.

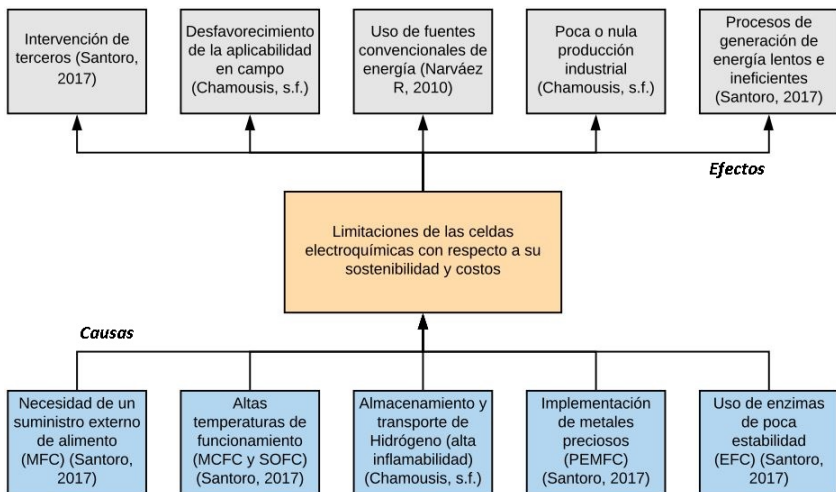


Figura 1.1: Árbol de problema.

Justificación

Durante los últimos años, el desarrollo de celdas electroquímicas, como medio para la producción de electricidad, ha tenido un mayor impacto y relevancia debido a que la oferta de energía no es suficiente frente a la demanda de la misma; además, la evolución en su desarrollo, obteniendo así celdas como las MFC y PMFC, contribuye a disminuir el impacto ambiental generado por las fuentes de energía fósiles ya que genera el mínimo impacto en la vitalidad de la planta y el ecosistema en general (Helder, 2012), además de poseer otras ventajas transversales a la producción eléctrica como el tratamiento de aguas (Mohan y cols., 2011) y remoción de hasta el 99 % de contaminantes como el Cromo hexavalente (Guan, Tseng, Tsang, Hu, y Yu, 2019).

Los sistemas PMFC son celdas electroquímicas que presentan una serie de beneficios como la mejora de las condiciones del proceso de obtención de energía y la reducción de emisiones de GEI, sobretodo de CO₂, debido al consumo natural de las plantas en la fotosíntesis (Helder, 2012), y de otros compuestos como el metano al lograr una reducción

de hasta 50 % de sus emisiones en PMFC con plantas de arroz (Deng, Chen, y Zhao, 2012). Las PMFC tienen la ventaja sobre las MFC de no necesitar suministros externos de sustratos porque la planta es capaz de dárselos a las bacterias por medio de los desechos de su fotosíntesis. En comparación con una SOFC o una MCFC, las PMFC no necesitan altas temperaturas de funcionamiento para producir energía. Asimismo, las PMFC son celdas de mayor duración en el tiempo que las EFC, y con respecto a las PEMFC, no necesitan de metales preciosos para la catálisis de reactivos. Finalmente, las PMFC no necesitan almacenar el Hidrógeno como en el caso de una celda de Hidrógeno, ya que el elemento se asocia con las moléculas de Oxígeno para formar moléculas de Agua y así cerrar el ciclo del sistema, permitiendo una mayor sostenibilidad (Helder, 2012).

Además, el desarrollo de las PMFC permite mejorar las condiciones de estabilidad del sistema gracias a la especie vegetal involucrada y reduce costos de operación y de transporte al poder crear sistemas donde algunos materiales se pueden obtener directamente en el campo. Una característica a destacar, en el modelo PMFC a desarrollar, es que sus componentes (planta, suelo, microorganismos, electrodos) se pueden encontrar en el territorio colombiano, es decir, que no se debe recurrir a la importación de recursos, con lo cual se reduce el costo y lo convierte en un producto más accesible para la población en general.

Por lo anteriormente mencionado, este trabajo plantea el desarrollo de un sistema PMFC que use la planta *E. crassipes*, pues es una planta de sistema eutrófico que se encuentra presente en el territorio colombiano

en cuerpos de agua como la Laguna de Fúquene, Cundinamarca y, que a su vez, la celda pueda ser implementada como fuente de energía eléctrica en aplicaciones domésticas de bajo consumo de potencia.

En Colombia, se han reportado estudios relacionados con el uso de algunas celdas electroquímicas, enfatizando en las MFC; sin embargo, cabe destacar que, hasta la fecha, no hay un registro claro en la literatura que implique el desarrollo de sistemas PMFC como alternativa energética renovable en el país, lo cual permite que sea un trabajo novedoso en el área, con relevancia actual en parámetros ambientales, económicos, sociales y científicos.

Este proyecto debe ser aplicado desde la perspectiva de un bioingeniero, ya que un PMFC es considerado como un biosistema, es decir, que no sólo es un sistema que deba ser establecido puramente desde la ingeniería (eléctrica, electrónica o de sistemas), sino que también deben considerarse todos los componentes biológicos del mismo y que, por ende, requiere de conocimientos en ciencias básicas de (fisiología vegetal, bioquímica y microbiología). Además, se encuentra en el campo laboral de un bioingeniero, puesto que el proyecto se desarrolla bajo el eje temático de Energías Renovables, permitiendo así, la solución a problemas socioambientales de disponibilidad de recursos energéticos a través de sistemas integrales.

Objetivos

3.1. Objetivo general

Desarrollar un sistema PMFC aprovechando el potencial eléctrico producto de la interacción entre la planta *E. crassipes* y un cultivo mixto que contenga especies bacterianas electroquímicamente activas.

3.2. Objetivos específicos

Diseñar una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC) a partir de la interacción entre la planta *E. crassipes* y un cultivo mixto que contenga especies bacterianas electroquímicamente activas.

Implementar la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC) bajo condiciones de laboratorio.

Evaluar experimentalmente la densidad de potencia obtenida por la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC).

Marco referencial

4.1. Preámbulo

Las Celdas de Combustible son dispositivos electroquímicos que convierten la energía química de reacción directamente en energía eléctrica (Calderón y Mesa, 2004). Presentan diferencias con respecto a las baterías convencionales, ya que estas son acumuladoras de energía en las que la máxima energía depende de la cantidad de reactivos químicos almacenados en ellas, mientras que el principio de funcionamiento de estas celdas es el inverso al de la reacción electrolítica (Calderón y Mesa, 2004).

En las celdas de hidrógeno, el oxígeno e hidrógeno se combinan para formar agua con producción de energía eléctrica y calor. Se trata, por lo tanto, de una reacción limpia, en la que el producto principal es el vapor de agua que puede ser liberado a la atmósfera sin ningún peligro para el medio ambiente (Calderón y Mesa, 2004).

El hidrógeno (H_2) penetra por el electrodo positivo (ánodo) y se di-

socia, en presencia del catalizador, en iones positivos H^+ y electrones. El oxígeno (O_2) procedente del aire penetra por el electrodo opuesto (cátodo) y se disocia igualmente en presencia del catalizador en iones O^{2-} . Los iones positivos del hidrógeno se escapan a través del electrolito en dirección al cátodo, dejando a los electrones libres en el ánodo (Calderón y Mesa, 2004). Al existir un camino eléctrico entre el ánodo y el cátodo, los electrones lo recorrerán produciendo corriente eléctrica. En el cátodo se asocian los iones hidrógeno, el oxígeno y los electrones, es decir, se vuelven a combinar para formar moléculas de agua. Ahora bien, varios procesos se llevan a cabo para lograr la transducción energética en una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética.

4.2. Fotosíntesis

La fotosíntesis es un proceso físico-químico por el cual plantas, algas, bacterias fotosintéticas y algunos protistas como diatomeas utilizan la energía de la luz solar para sintetizar compuestos orgánicos. Se trata de un proceso fundamental para la vida sobre la tierra y tiene un profundo impacto sobre la atmósfera y el clima terrestres: cada año los organismos con capacidad fotosintética convierten en carbohidratos más del 10 % del dióxido de carbono atmosférico (Pérez, 2009). A su vez, puede ser definida como el proceso por el cual las plantas, las algas eucarióticas y las cianobacterias usan la luz en el rango de longitud de onda aproximado de 400-700 nm para dividir el agua, formando O_2 y reduciendo CO_2 a una forma orgánica, convirtiendo parte de la luz absorbida en energía

química (Pérez, 2009)(YourArticleLibrary, s.f.). La figura 4.1 ilustra la reacción base por la cual se lleva a cabo el proceso de fotosíntesis:

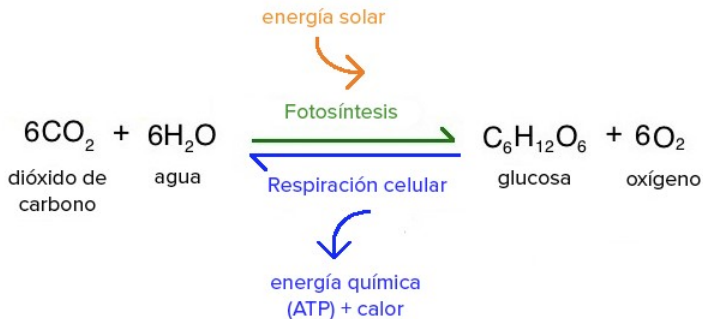


Figura 4.1: Reacción de la fotosíntesis y de la respiración celular (Pérez, 2009).

4.3. Captación de luz y transporte fotosintético de electrones

Todos los organismos con capacidad fotosintética contienen uno o más pigmentos capaces de absorber radiación visible que desencadena las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis. Estos pigmentos se pueden extraer de los organismos que los contienen con alcohol o con disolventes orgánicos. Se piensa que la energía de excitación se transfiere desde la clorofila que absorbe la luz hasta el centro de reacción por resonancia (es un mecanismo de transferencia de energía que no implica radiación, no requiere contacto físico entre moléculas y no implica transferencia de electrones) (Pérez, 2009).

La fotosíntesis se compone de dos etapas: las reacciones dependientes de la luz o la fase luminosa, y el ciclo de Calvin o la fase oscura. Las reacciones dependientes de la luz tienen lugar en la membrana del tilacoide dentro del cloroplasto. Durante esta etapa, la energía de la luz se convierte en Adenosín Trifosfato (ATP) (energía química) y Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) (potencia de reducción). Por otra parte, las reacciones del ciclo de Calvin ocurren en el estroma del cloroplasto, donde la energía del ATP y los electrones del NADPH se utilizan para convertir el dióxido de carbono en glucosa y otros productos (figura 4.2) (RSC, s.f.);(Pérez, 2009).

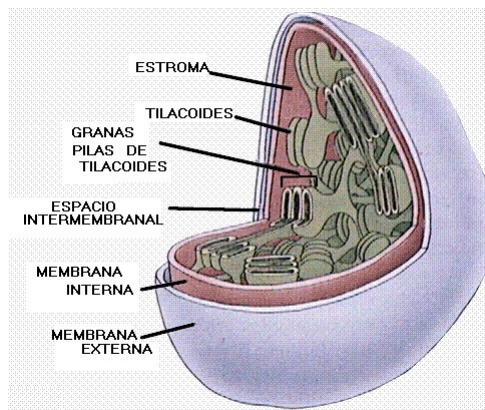


Figura 4.2: Estructura del cloroplasto (Modificado) (RSC, s.f.).

Las rutas fotosintéticas que siguen las plantas pueden considerar la clasificación en plantas C3 y C4; esta diferenciación de rutas fotosintéticas es importante para el diseño de un PMFC, ya que:

- Se considera que las plantas C4 poseen una mayor eficiencia fo-

tosintética, ya que pueden utilizar CO_2 hasta alcanzar un nivel de 5 partes por millón (ppm), pero las plantas del ciclo de Calvin no pueden utilizar CO_2 si el nivel cae por debajo de 40-50 ppm (YourArticleLibrary, s.f.).

- Las plantas C4 pueden utilizar intensidades de luz mayores con respecto a las plantas C3 y su temperatura óptima para la fotosíntesis excede a la de las plantas C3 (YourArticleLibrary, s.f.).
- Los cloroplastos de estas plantas parecen generar más ATP que, por consiguiente, mejora el trabajo celular (YourArticleLibrary, s.f.)(Pérez, 2009).

Por último, para seleccionar el tipo de planta a usar en un sistema PMFC, es necesario tener en cuenta algunas variables propias de la planta como las siguientes (RSC, s.f.):

Índice de área foliar: Medida del área foliar total por unidad de superficie (Zhang y cols., 2018).

P_{max} : También conocido como A_{max} , es la velocidad fotosintética máxima de una hoja en condiciones de luz saturada; también se puede considerar como la capacidad fotosintética de la planta (Flood, Harbinson, y Aarts, 2011).

Tasa fotosintética: Es la tasa de fijación de CO_2 por unidad de área de hoja, generalmente expresada en $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\text{s}$ debido a que la fotosíntesis ocurre simultáneamente con la respiración, la tasa de fotosíntesis puede calificarse como una tasa bruta o neta (Flood y cols., 2011). A

su vez, la tasa fotosintética es dependiente de una serie de fenómenos llamados como factores limitantes, algunos de los cuales son la intensidad de la luz, la concentración de dióxido de carbono y la temperatura (RSC, s.f.).

Por ejemplo, a medida que aumenta la intensidad de la luz, la velocidad de la reacción dependiente de la luz, y por lo tanto la fotosíntesis en general, aumenta proporcionalmente. Sin embargo, a medida que aumenta la intensidad de la luz, la tasa de fotosíntesis es eventualmente limitada por algún otro factor. Este factor se ve representado en la clorofila que se usa en ambos fotosistemas, puesto que el fotosistema I (PSI) absorbe la energía más eficientemente a 700 nm y el fotosistema II (PSII), a 680 nm. Por ende, la luz con una alta proporción de energía concentrada, en estas longitudes de onda, producirá una alta tasa de fotosíntesis (RSC, s.f.).

Por otra parte, un aumento en la concentración de dióxido de carbono aumenta la velocidad a la que el carbono se incorpora en los carbohidratos en la reacción independiente de la luz y, por lo tanto, la tasa de fotosíntesis generalmente aumenta hasta que se ve limitada por otro factor. Por último, la fotosíntesis depende de la temperatura, ya que el proceso en sí es una reacción catalizada por enzimas; a medida que las enzimas se acercan a sus temperaturas óptimas, la tasa global aumenta. Por encima de la temperatura óptima, la velocidad comienza a disminuir hasta que se detiene (RSC, s.f.).

4.4. Planta en sistema eutrófico

Entre los problemas ambientales de lagos y embalses, la eutrofización es uno de los más frecuentes, el cual es un proceso de deterioro de la calidad del recurso, originado por el enriquecimiento de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, condicionando la utilización de los mismos y ejerciendo grandes impactos ecológicos, sanitarios y económicos a escala regional (Ledesma, Bonansea, Rodríguez, y Sánchez, 2013). El aumento del estado trófico de un sistema es el resultado de aportes internos o externos. La carga externa se genera a partir de materiales arrastrados por la acción de la precipitación y la erosión de la cuenca. A ello se suman el vertido de efluentes industriales y domésticos y el uso de fertilizantes en la explotación agrícola (y Desarrollo), s.f.).

Justamente la concentración de nutrientes en estos sistemas permite el desarrollo de distintas especies vegetales que se ven favorecidas, por el aumento de compuestos como nitratos o fosfatos, en cuestiones como su crecimiento; existe un gran número de plantas de sistema eutrófico que se consideran como especies invasoras, algunas de las cuales son el junco, el jacinto de agua, la lechuga de agua, el buchón de agua, entre otras, donde el jacinto de agua se le considera la de mayor impacto en el ecosistema (González y González, 2015).

La planta *E. crassipes*, también conocida como Jacinto de agua o Lirio acuático, es considerada en muchos países como una plaga debido a que se caracteriza por ser una de las especies vegetales con mejor reproducción y tasa de crecimiento, en ecosistemas acuáticos, por lo cual

se extiende rápidamente y forma tapetes o esteras que constriñen a las plantas nativas sumergidas y flotantes en los cuerpos de agua y disminuye la entrada de luz y merma el oxígeno disuelto en el agua (figura 4.3) (Carrión y cols., 2012).



Figura 4.3: Planta *E. crassipes* (BHL, s.f.).

Lo que hace al jacinto de agua idóneo para ser utilizado en una PMFC son características tales como el largo de sus raíces (permite una mayor interacción con los electrodos), sus condiciones de crecimiento, y su disponibilidad en el territorio colombiano pues esta planta, al encontrarse en sistemas eutrofizados, se puede localizar en lagunas como la de Fúquene en Cundinamarca (González y González, 2015).

4.5. Rizosfera y Rizodeposición

Después de que la planta realiza el proceso de fotosíntesis, y como ella no metaboliza todos los componentes, se producen desechos llamados exudados que se expulsan por medio de las raíces. La rizósfera es la parte del suelo inmediata a las raíces de las plantas. En esta región se llevan a cabo una serie de reacciones físicas y químicas que afectan a la estructura del suelo y a los organismos que viven en él (Martín y Rivilla, 2012). Es el lugar de destino de carbohidratos producto de la fotosíntesis que son utilizados por los microorganismos allí presentes como fuente de energía. Así, el número de bacterias que hay en la rizósfera es entre 10 y 1000 veces superior al de las bacterias que se encuentran en el suelo no rizosférico (Martín y Rivilla, 2012). La rizodeposición proporciona sustratos para la producción de bioelectricidad en un PMFC. Existen varios depósitos de raíces que contienen compuestos de bajo peso molecular como ácidos orgánicos, carbohidratos que se degradan fácilmente por microorganismos y compuestos de alto peso molecular como celulosa, células muertas y desechos orgánicos de la raíz que tardan un tiempo prolongado en generar voltaje (Nitisoravut y Regmi, 2017).

El rendimiento de un PMFC depende de estas exudaciones y de la naturaleza de la descomposición microbiana (Nitisoravut y Regmi, 2017). La eficiencia de Coulomb (CE) es el porcentaje de electrones presente en los rizodepositos que terminan como electrones en el circuito eléctrico para obtener electricidad. El CE está afectado por aceptores de electrones alternativos (oxígeno), microorganismos y otros parámetros (concentra-

ción bacteriana, tipo de electrodos, conducción eléctrica) en el PMFC (Gowtham y Shunmug, 2015).

4.6. Bacterias electroquímicamente activas

Una gran variedad de microorganismos del suelo puede usar ánodos sólidos como aceptor de electrones para su metabolismo, creando así alguna corriente eléctrica; a éstos se les denomina como bacterias electroquímicamente activas. *Geobacter spp.*, *Clostridium spp.* y *Pseudomonas spp.* se encuentran entre ellos (Exchange, s.f.). Los microorganismos capaces de usar ánodos como sumideros de electrones para su metabolismo se llaman electrógenos.

Por ejemplo, la bacteria del género *Geobacter spp.* tiene la capacidad de transferir electrones a moléculas como el Hierro (III) [Fe (III)] y el Manganese (IV) [Mn (IV)], óxidos de nitrógeno, sustancias de alto peso molecular formadas por la degradación química y biológica de restos de plantas y de animales (Romero, Vásquez, y Lugo, 2012). Además permite la transferencia de electrones de forma directa a los electrodos, generando pequeñas corrientes eléctricas. Esta característica le permite a *Geobacter spp.* jugar un papel importante en el ciclo natural de la materia orgánica y de los metales en los sedimentos acuáticos y subsuelos, en la biorremediación de compuestos orgánicos y en el metal contaminante presente en ambientes subterráneos (Romero y cols., 2012). En la figura 4.4 se ilustra tanto la estructura externa como su ruta metabólica.

La capacidad de las especies de *Geobacter spp.* para transferir elec-

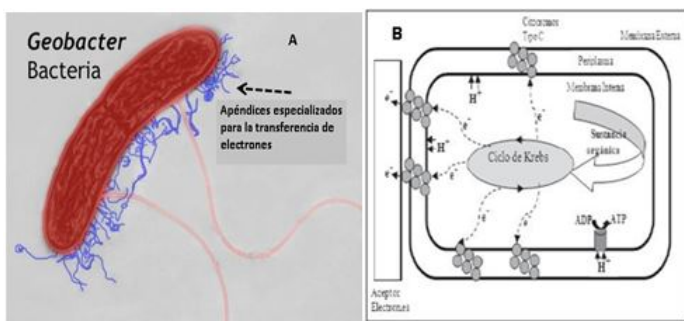


Figura 4.4: Estructura externa de una célula del género *Geobacter spp.* (Modificado) (A) (Robinson,2015) y modelo metabólico de una célula del género *Geobacter spp.* (B) (Romero, 2012).

trones desde y hacia electrodos permite obtener electricidad a partir de materia orgánica, o el uso de electrodos como donador de electrones para la reducción de contaminantes tales como: nitrato, uranio y disolventes clorados (Romero y cols., 2012). *Geobacter spp.* se puede encontrar en sedimentos de agua dulce, sedimentos marinos anóxicos, sedimentos de sal de pantano, ambientes subterráneos y acuíferos. Estos ambientes se caracterizan principalmente por ser ricos en nitratos y sulfatos, pero al mismo tiempo deben ser espacios libres de oxígeno puro (Romero y cols., 2012).

Las bacterias del género *Geobacter spp.* son ampliamente utilizadas para el desarrollo de distintas PMFC (Bond y Derek, 2003), y en muchos casos donde no se tiene en cuenta la microbiota presente para la celda, se realiza una caracterización posterior de la microbiota y se encuentra que *Geobacter spp.* es el género predominante en dichos sistemas (figura

4.5) (Lu, Xing, y Ren, 2015);(Revelo, Hurtado, y Ruiz, 2013).

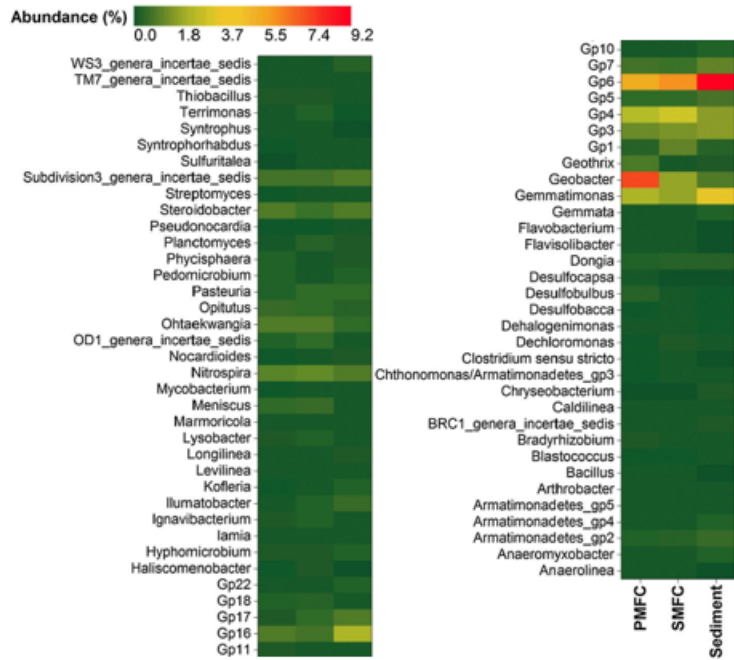


Figura 4.5: Clasificación taxonómica de secuencias de ADN bacteriano de comunidades de PMFC, control de SMFC y sedimento original a nivel de género (Lu, 2015).

Un estudio realizado en Colombia muestra posibles lugares o ambientes en los cuales se puede encontrar, por ejemplo, una variedad de especies del género *Geobacter* (Romero y cols., 2012).

Tabla 4.1: Zonas seleccionadas por regiones en Colombia que cumplen condiciones para hallar *Geobacter spp.* (Romero, 2012).

Departamento	Zonas
La Guajira	Punta de: Tarolta, Huayapain, Taroa, Gallinas y Coco. Arroyos de: Topio, Mashurahu, Patsua y Orocho
Magdalena, Atlántico, Cesar, Bolívar	Río Tapias en intercepción con Falla de la Oca. Hato Nuevo. Punta de: Sabanilla, Manzanillo Puerto Colombia
Bolívar, Sucre, Córdoba, Antioquia, Chocó y Norte de Santander	Falla de: San Sebastián, Canalette, Turbaná, La bonga, Punta de Piedra. Anticlinal del Guamo. Arrollo el Burrito. Sinclinal de Doguado. Río Pichicora y Pogue
Arauca	Sinclinal de las Mercedes. Falla de: Mesón, Aguablanca, Sacama y Samaria.
Caldas, Risaralda, Tolima, Valle y Quindío	Falla de: Quebrada Santa Bárbara, Río Pepe, Río Condotico, Río Nauca, Río Certegui y Río Orpua. El litoral del San Juan. Santa Genoveva de Docordó.

Otro ejemplo de bacterias electroquímicamente activas es *Pseudomonas aeruginosa*. *P. aeruginosa* es una bacteria Gram-negativa, organismo anaeróbico facultativo capaz de sobrevivir bajo la oscuridad y condiciones fermentativas que producen diferentes metabolitos intermedios como acetato, succinato, lactato y etanol, cada uno en rutas bioquímicas distintas. La transferencia redox puede tener lugar a través de las proteínas de membrana (DET) o lanzaderas solubles (MET) o algunas veces a través de un biofilm conductivo (nanocables) (Raghavulu, Sarma, y

Mohan, 2012).

La velocidad de transferencia extracelular está influenciada por la diferencia de potencial entre el portador final y el ánodo, independientemente del mecanismo. *Pseudomonas aeruginosa* es especialmente conocida por su autoexcreción de oxidorreducción pues produce mediadores, como piocianina, fenazina y carboxamida que interfieren directamente en la transferencia de electrones al medio extracelular (Rabaey y Verstraete, 2005); las proteínas del citocromo y otras proteínas unidas a la membrana también son numerosas (Raghavulu y cols., 2012).

Teniendo en cuenta las características de las diferentes bacterias electroquímicamente activas, la razón del uso de un cultivo mixto se basa en que permite que las cualidades naturales de las diferentes especies se complementen. Se realiza cuando dos o más especies de microorganismos, se desarrollan en su conjunto en un solo medio. Debido a que este tipo de cultivo es común este tipo en la naturaleza, se espera encontrar una diversa variedad de microorganismos entre los cuales se encuentren diferentes géneros de bacterias electroquímicamente activas como *Pseudomonas* sp.

4.7. Especificaciones eléctricas

Como última etapa general del proceso, cuando las bacterias ya metabolizan los exudados y producen como desecho los electrones libres a capturar, se debe cuantificar la obtención de energía para así determinar la capacidad del sistema de alimentar los aparatos electrónicos de baja

potencia.

Primero, la potencia se puede definir como “la tasa a la que la energía (U) se transforma o se transfiere en el tiempo. Se mide en unidades de joules/segundo (J/s), también conocida como watts (W) [26]. Luego, es importante definir la densidad de potencia, la cual es “la potencia por unidad de área, usualmente expresada en unidades de watts por metro cuadrado (W/m^2) o miliwatts por centímetro cuadrado (mW/cm^2)” [27]. Además, la tensión de circuito abierto (Voc) es el máximo valor de tensión a la salida de la celda y se da cuando esta no está conectada a ninguna carga y la corriente de cortocircuito (Isc) es el máximo valor de corriente que circula por una celda y se da cuando la salida de la celda está en cortocircuito [28].

Estas definiciones son importantes para entender el proceso por el cual se pueden establecer equivalentes de Thévenin, ya que el teorema de Thévenin dice que “Dado un circuito lineal cualquiera N, para un par de terminales A y B de dicho circuito, es posible encontrar un circuito equivalente formado por una fuente de voltaje ideal en serie con una resistencia, de manera tal que ese circuito de dos terminales produzca los mismos valores de voltaje y corriente en esos terminales (conectados o no a otro circuito) que el circuito original. La fuente de voltaje tendrá un valor conocido como Voltaje de Thévenin (V_{TH}) y la resistencia tendrá un valor conocido como Resistencia de Thévenin (R_{TH})” (Salazar, s.f.). Cuando una fuente o un circuito se conectan a una carga cualquiera es deseable que tal fuente o circuito pueda transmitir la mayor cantidad de potencia a la carga que la recibe.

La Figura 10(A) muestra un equivalente de Thévenin de un circuito cualquiera conectado a una carga cualquiera. “Al conectar esta carga aparece un voltaje (V_c) y una corriente (I_c) entre los nodos A y B. La máxima transferencia de potencia se presenta cuando el valor de la resistencia de carga es igual al de la resistencia de Thévenin (Salazar, s.f.).

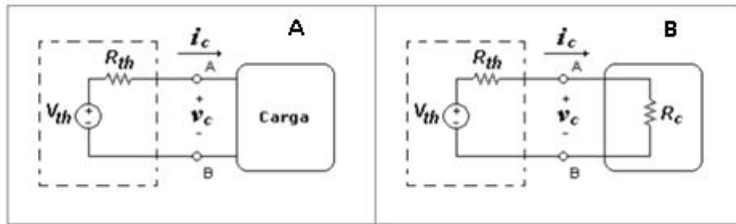


Figura 4.6: Representación del circuito bajo el equivalente de Thévenin con una carga cualquiera (A) y una resistencia (B) (Salazar, s.f.).

Por ultimo, es importante tener en cuenta las ecuaciones para determinar la máxima transferencia de potencia a partir del equivalente de Thévenin, las cuales son las siguientes:

$$P_{max} = \frac{V^2}{R} = \frac{(V_{R_C})^2}{R_C} \quad (4.1)$$

Donde,

$$V_{R_C} = \frac{(V_{TH}) \times (R_C)}{(R_{TH}) + (R_C)} \quad (4.2)$$

Si se conoce, al realizar el equivalente de Thévenin del sistema, la resistencia de Thévenin asociada, y teniendo presente que la máxima transferencia de potencia ocurre cuando la resistencia asociada a la carga

(R_c) es igual a R_{TH} , entonces se tiene la siguiente ecuación:

$$V_{R_C} = \frac{(V_{TH}) \times (R_C)}{2R_C} \quad (4.3)$$

Por tanto,

$$P_{max} = \frac{((V_{TH})/2)^2}{R_C} = \frac{(V_{TH})^2}{4R_C} \quad (4.4)$$

4.8. PMFC

Una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética (PMFC) es una modificación de la Celda de Combustible Microbiana (MFC) que ejerce la relación única planta-microbio en la región de la rizosfera de una planta y convierte la energía solar en bioelectricidad (Nitisoravut y Regmi, 2017). La bioelectricidad *in situ* y la producción de biomasa por procesos naturales de fotosíntesis y la automatización del suministro de sustratos a la microbiota, en lugar del suministro de sustratos externos, hacen que esta tecnología sea diferente de los MFC tradicionales (Exchange, s.f.).

Desde el comienzo de este siglo, las células de combustible microbianas obtienen una atención renovada debido, posiblemente, a la necesidad de tecnologías sostenibles. Esto demostró por primera vez que los rizodepósitos de raíces de plantas se pueden usar como una nueva fuente para la obtención de energía eléctrica (Gowtham y Shunmug, 2015). La producción de electricidad por un PMFC depende de varios procesos principales: la fotosíntesis, posterior a ello la asignación de carbono a

las raíces, luego la rizodeposición de fuentes de carbono a la rizósfera, siguiendo a ello la generación de electrones por los microorganismos en la rizósfera y por último, la conducción eléctrica por medio de la celda de combustible (Nitorisavut y Regmi, 2017).

Adicionalmente, la potencia de salida del PMFC depende de la eficiencia fotosintética de la planta (que a su vez es dependiente de su tasa fotosintética), la rizodeposición (también dependiente de las raíces y el metabolismo de la planta) y la eficiencia energética del MFC que es una combinación de la eficiencia de Coulomb y resistencias internas iguales a la eficiencia de voltaje (figura 4.7) (Nitorisavut y Regmi, 2017).

Para determinar la eficiencia del sistema PMFC se calcula la eficiencia de conversión (CE) de la energía solar en energía eléctrica utilizando la siguiente ecuación:

$$CE = Pe \times Rp \times Pa \times Er \quad (4.5)$$

La eficiencia de conversión en la fase de crecimiento se encuentra dentro del 70 % de estos límites, por lo tanto, 3,2 % y 4,2 % se asignan como (Pe) a las plantas de C3 y C4, respectivamente. Hay una proporción del 20 % de eliminación de raíces a carbohidratos fotosintéticos (Rp), 30 % de disponibilidad de rizodatos para microorganismos (Ra), y 9 % de recuperación de energía de células microbianas (Er). Las estimaciones de CE para las plantas C3 y C4 son 0.017 y 0.022 %, respectivamente (Deng y cols., 2012). La irradiación solar media anual en una superficie horizontal (As) es de aproximadamente 170 W/m² y la media de la tem-

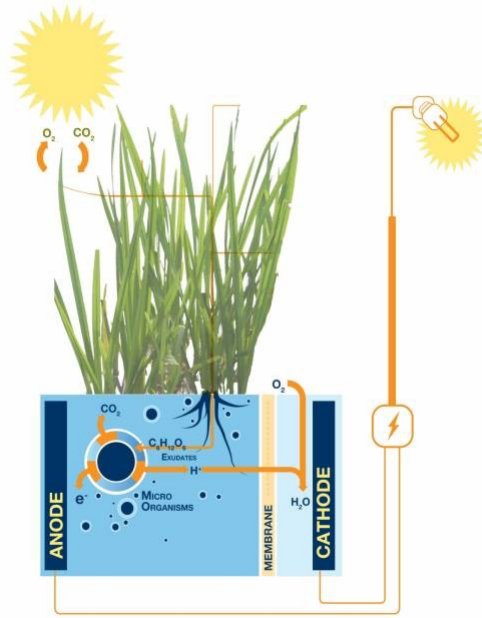


Figura 4.7: Proceso de generación de bioelectricidad en un PMFC (Gowtham, 2015).

porada de crecimiento (G_s) es de seis meses. Las salidas brutas anuales de PMFC son $A_s \times G_s \times CE = 1266$ y 1638 kWh/ha para las plantas C3 y C4, respectivamente. Aumentar el valor E_r es una forma de mejorar el valor CE. La siguiente ecuación describe la relación entre E_r (denotado como $E_{r_{PMFC}}$) y la densidad de potencia:

$$E_{r_{PMFC}} = \frac{pW \times A_a}{A_f \times A_s \times P_e \times R_p \times R_a} \quad (4.6)$$

Donde pW es la densidad de potencia, A_a es el área del ánodo y A_f es el área foliar. Mejoras en los valores del área foliar, P_e , R_p y R_a están li-

mitadas porque el tipo de planta es fijo, y As no se puede cambiar por ser en un lugar específico. Sin embargo, la densidad de potencia puede mejorarse adoptando una configuración de PMFC adecuada, un electrodo de alto rendimiento, un catalizador y un microorganismo (Deng y cols., 2012).

4.9. Resistencia interna

Como se puede observar en la figura 4.8, la resistencia interna se considera como la suma de las diferentes resistencias "dentro" de la celda. Estas resistencias están dadas por los elementos que la componen (electros, membrana, cables conectores), y por tal motivo se puede ver una PMFC como un gran sistema conformado por varios subsistemas.

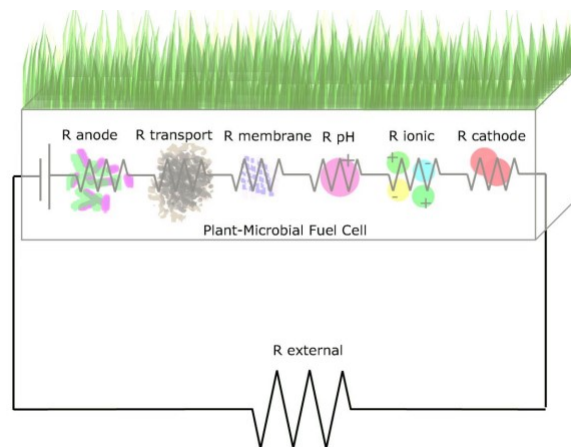


Figura 4.8: Determinación de las diferentes resistencias que conforman la resistencia interna en una PMFC.

Por lo tanto, cambios en dichas variables podrán permitir un mayor rendimiento en la producción eléctrica. Al calcular la densidad de potencia en función de la resistencia interna, se tiene la ecuación 4.7:

$$P = V_{max} \times i - (i^2 \times R_i) \quad (4.7)$$

En la cual la densidad de potencia (P) se obtiene en función de la tensión máxima o de circuito abierto (V_{max} , V), densidad de corriente (i, A/m²) y la resistencia interna (R_i , Ω/m^2) de la celda. A partir de dicha ecuación se determina que las densidades de corriente y potencia dependen de la resistencia interna del sistema.

En la siguiente figura se expresa gráficamente la relación entre la densidad de potencia y la densidad de corriente a diferentes resistencias internas; la figura muestra que, por ejemplo, una resistencia interna puede ser menor de 0,094 Ω/m^2 para lograr una densidad de potencia teórica de 3,2 W/m² a una densidad de corriente mayor a 2 A/m², que fue una aproximación obtenida al realizar las celdas Plant-e (Helder, 2012).

A su vez, y teniendo en cuenta la gráfica, se podría demostrar la correlación existente entre la resistencia interna y la densidad de potencia, que es de carácter inverso pues la reducción de la resistencia conduce a un aumento en la potencia; sin embargo, debe tenerse en cuenta que la resistencia siempre existirá debido a los elementos del sistema, por lo que no se puede esperar una potencia infinita.

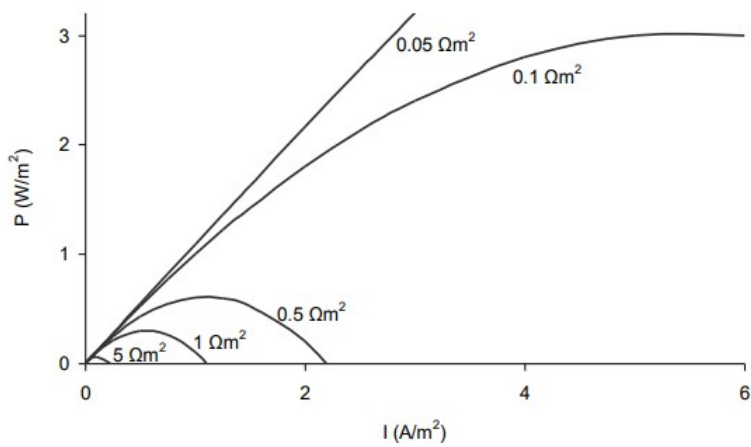


Figura 4.9: Densidad de potencia en función de la densidad de corriente a diferentes resistencias internas. X: Densidad de corriente; Y: Densidad de potencia

Estado del arte

La tecnología de las Celdas de Combustible Microbianas y sistemas basados en sus configuraciones, estructuras y propósitos han sido investigados ampliamente durante los últimos años; algunas de sus divisiones son el MFC de sedimentos, MFC de barro, MFC fotosintética, entre otros (Nitisoravut y Regmi, 2017). Una celda de combustible microbiana fotosintética (Plant Microbial Fuel Cell - PMFC) es una modificación de la MFC que promueve la relación única planta-microbio en la región de la rizosfera de una planta y convierte la energía solar en bioelectricidad. La bioelectricidad *in situ* y la producción de biomasa, en lugar del suministro de sustratos externos, hacen que esta tecnología sea diferente de los MFC tradicionales (Nitisoravut y Regmi, 2017). Por lo tanto, el desarrollo y la comprensión de los PMFC, desde su concepción, debe considerarse desde una perspectiva de la ingeniería de biosistemas (bioingeniería) evaluando la tecnología con mayor complejidad que sólo una MFC. Es importante destacar que hasta la fecha, a nivel nacional, no se encontró información relacionada con el tema de trabajo específico,

es decir, en las PMFC, pero se encontró información como proyectos académicos; sin embargo, esta información no está reportada como, por ejemplo, en artículos científicos y por lo tanto no se incluyó dentro de la información recolectada.

A continuación, se revisarán algunos de los modelos de PMFC que se han investigado para dar a conocer el potencial de estos sistemas de obtención de energía eléctrica emergentes. Es necesario aclarar que no muchos productos se han desarrollado hasta la fecha y se ha encontrado información de dos de ellos: Plant-e, un producto de origen holandés y Bioo Lite, un producto desarrollado por Bioo, una empresa española, en el 2016 pero debido a su reciente desarrollo no se ha encontrado suficiente información para introducirla en este documento; sin embargo, es relevante conocer y destacar la aplicabilidad de los productos, pues éstos permiten la carga eléctrica a celulares y el segundo, también permite una conexión WiFi, con lo cual presentan un impacto social positivo en su implementación en los hogares.

5.0.1. Tecnología Plant-e

Plant-e es una tecnología patentada y desarrollada desde el 2007 por la Universidad de Wageningen, Holanda (figura 5.1). El principio de funcionamiento consiste en que el dióxido de carbono se fija mediante las hojas de las plantas usando energía solar. Parte del carbono fijo se transporta a las raíces y es liberado como componentes de bajo peso molecular. Estos componentes, llamados exudados, son utilizados por

microorganismos electroquímicamente activos que producen dióxido de carbono, protones y electrones (Gowtham y Shunmug, 2015).

El dióxido de carbono regresa a la atmósfera, en tanto los electrones son transferidos por microorganismos electroquímicamente activos al ánodo del sistema para ganar energía metabólica. El ánodo está acoplado a un cátodo por medio de una red de conducción eléctrica. Debido a la conducción de los electrones provenientes del metabolismo bacteriano, se genera una diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo, los electrones fluyen desde el ánodo a través un circuito eléctrico con una carga al cátodo. Para conservar la electro—neutralidad en el sistema, un protón se transporta a través de la membrana del ánodo al cátodo. En el cátodo el oxígeno se reduce, con protones y electrones, formando agua (Gowtham y Shunmug, 2015).



Figura 5.1: Producto Plant—e (Plant—e, s.f.).

5.0.2. PMFC utilizando compost y separador de arcilla

Este trabajo presenta una investigación sobre la influencia de tres plantas diferentes (*Brassica juncea*, *Trigonella foenum-graecum* y *Canna stuttgart*) y la adición de compost en la generación de bioenergía en un PMFC. Los estudios revelaron que *Trigonella foenum-graecum* y *Canna stuttgart* exhiben una mayor generación de bioenergía en comparación con *Brassica juncea*. *Trigonella foenum-graecum* es una leguminosa y *Canna stuttgart*, la planta tuberosa, pueden albergar altas densidades de exudados y, por lo tanto, microorganismos. *Canna stuttgart* (planta tuberosa) mostró la mayor potencia de salida (densidad de potencia de 222 mW/m^2 , eficiencia de conversión de 0,022 %) con fluctuaciones diurnas mínimas (Sophia y Sreeja, 2017).

En el estudio, se determinó que la alta densidad de potencia puede atribuirse al tipo de planta y a la adición de compost al suelo, lo que origina depósitos de raíz o también llamados rizodepósitos. Un novedoso separador de mezcla de arcilla en lugar de membranas fue utilizado por primera vez en el presente estudio. Se ha evitado el uso de materiales de laboratorio como medio de crecimiento artificial, ferricianuro y membranas comerciales, lo que simplifica el diseño y el costo del sistema (Sophia y Sreeja, 2017).

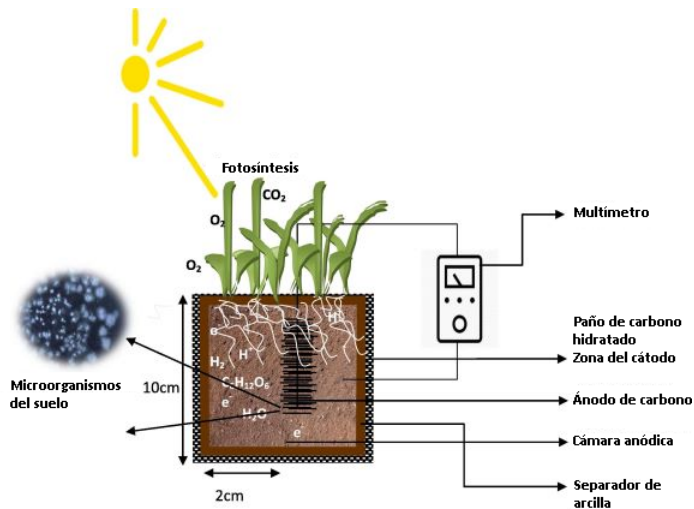


Figura 5.2: PMFC utilizando compost y separador de arcilla (Sophia, 2017).

5.0.3. PMFC con un biocátodo reductor de oxígeno integrado

En este estudio, se demostró que un cátodo de ferricianuro químico puede ser reemplazado por un cátodo reductor de oxígeno biológico en una pila de combustible microbiana de planta (PMFC) con una nueva producción de potencia récord. Un biocátodo se integró con éxito en un PMFC y funcionó durante 151 días. El crecimiento de las plantas continuó y la densidad de potencia aumentó, alcanzando una producción de potencia máxima de 679 mW/m^2 de área de crecimiento de la planta. Las densidades de potencia promedio récord de dos semanas fueron de 240 mW/m^2 (Wetser, Sudirjo, Buisman, y Strik, 2015).

Los nuevos registros se alcanzaron debido al alto potencial redox de reducción de oxígeno que fue efectivamente catalizado por microorganismos en el cátodo. Esto dio como resultado 127 mV de mayor potencial de cátodo del PMFC con un biocátodo que un PMFC con un cátodo de ferricianuro. También se encontró que la disponibilidad del sustrato en el ánodo probablemente limita la generación actual. Este trabajo es crucial para la aplicación de PMFC, ya que muestra que el PMFC puede ser una biotecnología completamente sostenible con una potencia de salida mejorada (Wetser y cols., 2015).

5.0.4. Otras investigaciones

Adicionalmente, más trabajos e investigaciones se han realizado con motivos de aumentar la eficiencia del sistema y, por consiguiente, aumentar los valores de la densidad de potencia; en la siguiente tabla se puede apreciar con mayor precisión dos investigaciones que son relevantes para la aplicación de este proyecto, pues tienen que ver con la especie vegetal a implementar como con un parámetro de diseño que se explicará más a detalle en la siguiente sección. Ahora bien, la tabla 5.1 y la figura 5.4 ilustran algunos de los estudios encontrados más relevantes para el proyecto porque usan el Jacinto de agua y estudian la distancia entre electrodos.

Tabla 5.1: Características de diferentes modelos de PMFC (Nitisoravut, 2017).

Tipo de planta	<i>P. setaceum</i> (Chiranjeevi, Mohanakrishna, y Mohan, 2012)	<i>E. crassipes</i> (Mohan y cols., 2011)
Ruta fotosintética	C4	C3
Fabricación del ánodo	Platos de grafito	Discos de grafito
Fabricación del cátodo	Platos de grafito	Discos de grafito
Medio de crecimiento/sustrato	Suelo rojo	Aguas residuales destiladas domésticas
Condición de operación	Ambiente	Sistema bentónico en miniatura
Máxima densidad de potencia (mW/m^2)	163	224.93

En estas investigaciones se resalta la de Mohan, 2011, ya que se usa el Jacinto de agua como especie vegetal en la celda de combustible implementada; como valores de referencia para el análisis de los datos a obtener, se tiene que el voltaje máximo logrado es de 809mV y la corriente máxima de 4,24mA, obteniendo una densidad de potencia de 21,03mW/m².

A partir de la información obtenida y la tabla se pueden establecer diferentes condiciones que permiten un buen modelo de PMFC, cuyas características permitan obtener la mayor densidad de potencia posible. Por ejemplo, una de las condiciones que se pueden establecer es que la densidad de potencia generada dependerá de la planta usada en el sistema; además, las condiciones del medio (suelo, agua, ambiente) en los que se encuentre la planta permitirá, también, el aumento en la densidad de potencia; por último, la microbiota presente en la rizósfera puede intensificar la producción de bioelectricidad y, por consiguiente, aumentar la densidad de potencia del sistema.

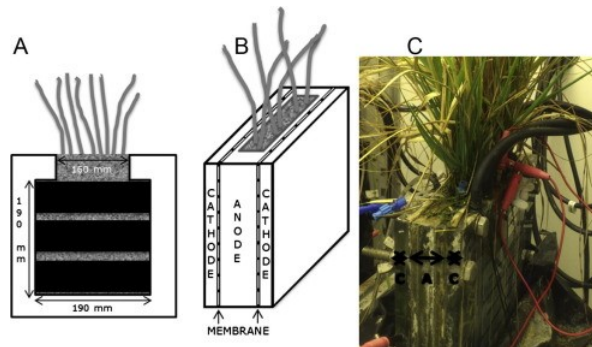


Figura 5.3: PMFC con biocátodo reductor de oxígeno integrado (Wetser, 2015).

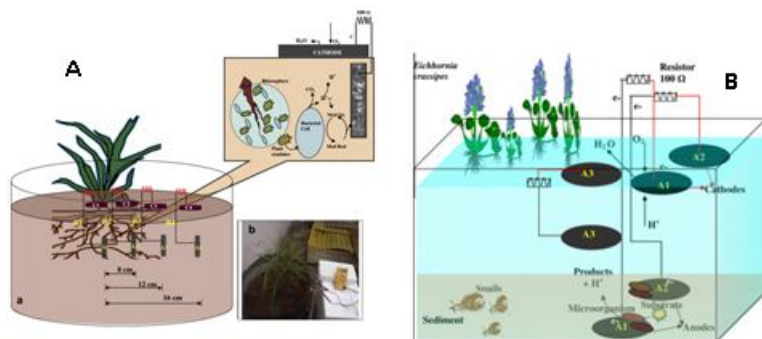


Figura 5.4: PMFC con plantas *P. setaceum* (A) (Chiranjeevi, 2012) y *E. crassipes* (B) (Mohan, 2011).

Metodología desarrollada

6.1. Diseño de la celda

Según se indicó anteriormente, la metodología a seguir se basa en el CDIO, *Conceiving, Designing, Implementing and Operating*; por tanto en esta sección se desarrolla tanto la concepción de la celda como su diseño en software. Lo primero a tener en cuenta en la concepción son las variables de diseño, pues son aquellas las que permiten que los siguientes pasos (Implementación y Operación) sean realizados correctamente con los materiales y herramientas adecuados.

6.1.1. Selección de variables de diseño

La densidad de potencia de una PMFC está determinada por varios aspectos: radiación solar, eficiencia fotosintética de la planta, asignación de materia orgánica de la planta al suelo y eficiencia de la celda de combustible microbiana (MFC), entre otros. Es importante saber cuales son las variables de diseño de la celda de combustible para tener control so-

bre el diseño de esta . Las variables consideradas como las más relevantes para el proyecto son: población bacteriana, tipo de especie vegetal, medio de implementación y resistencia interna. A continuación se presentan dichas variables con mayor profundidad.

Tipo de planta

Uno de los parámetros más relevantes para la realización del proyecto, si no el más importante, es determinar la especie vegetal a utilizar, pues de ella depende la producción de materia orgánica disponible para el consumo bacteriano. Para seleccionar la planta, se debe tener presente una idea de cual va a ser el uso de la celda y su ubicación (ambiente), y que condiciones necesita para su supervivencia.

Algunas de la especies vegetales más utilizadas como proveedor alimenticio de PMFC son: *Glyceria maxima* (Great Manna Grass, Europa), *Spartina anglica* (Espartina, Inglaterra), *O. sativa* (Arroz, Mundial), *Pennisetum setaceum* (Fountaingrass, África y Asia), *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua, Suramérica), entre otras (Nitisoravut y Regmi, 2017); (Kumar, Vishnuprasad, y Das, 2018). Cabe destacar que estas especies comparten, en cierta medida, algunas características (Ecosistema, características de sus raíces), que permiten evidenciar cuales plantas son las mejores opciones y se tienden a implementar en una PMFC, de tal manera que estas plantas, que fueron usadas en investigaciones en el tema de este proyecto, fueron pre-seleccionadas.

Para seleccionar la especie vegetal a implementar, dentro de las pre-

seleccionadas, se usaron los siguientes criterios: largo de las raíces, lugar de hábitat, condiciones ambientales de crecimiento, área de distribución (si son especies invasoras) y mantenimiento.

Población microbiana

Las bacterias electroquímicamente activas son las encargadas de la producción bioeléctrica en la celda a implementar; es por ello que se decide tomar muestras de agua directamente del lugar de donde se tome las plantas.

Se realizó una revisión conceptual sobre bacterias electroquímicamente activas por medio de buscadores booleanos como Google académico y revistas de divulgación científica como Science Direct, donde se encontró que entre las más comunes están las bacterias *Clostridium butyricum*, *Geobacter sulfurreducens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shewanella oneidensis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otras (Romero y cols., 2012). En este trabajo, con el fin de determinar la presencia de bacterias electroquímicamente activas en la rizósfera de la planta, se realizaron pruebas de identificación microbiológica e identificación bioquímica.

Sustrato

Además de asegurar las plantas y las bacterias dentro de la celda de combustible, se debe establecer el ambiente en el cual se introducen estos organismos, es decir, se debe tener cuenta el sustrato, puesto que la

supervivencia de los organismos vivos depende de ello. Por tanto, los nutrientes que se agreguen al suelo o al agua (en caso de ser necesario) deben permitir un aumento en el rendimiento general de la planta. Además, se agregó un compuesto nutritivo con Nitrógeno, Fósforo y Potasio (NPK). El fertilizante seleccionado contuvo una mayor concentración de nitrógeno que, dentro de los elementos mayores, es el más importante para las especies vegetales preseleccionadas (Valderrama, 1996).

Resistencia interna

Luego de haber definido las variables biológicas (tipo de planta, sustrato) del sistema, se continuó con la definición de las variables eléctricas de las celdas, donde una de las limitaciones más relevantes de estas celdas es su resistencia interna, pues esta tiende a ser alta y limita la densidad de potencia a generar (Helder, 2012).

Resistencia de membrana

Con respecto a esta clase de resistencia, es importante aclarar que la primera condición de diseño al respecto dependerá de si una membrana se debe implementar en la celda. Generalmente, se usan membranas de intercambio iónico para mejorar la conducción de iones que faciliten la generación de energía, pero es importante ya tener definida la potencia del sistema porque la membrana influye directamente en la conducción eléctrica. Por consiguiente, la membrana puede llegar a mejorar dicho proceso de obtención de energía.

En este caso en particular, la implementación de una membrana (o resina) de intercambio iónico es opcional, debido a factores económicos y porque no se tenía definida la potencia inicial del sistema, la cual se define al realizar el ciclo de operación. Es por ello que se planteó la posibilidad de implementar la membrana dentro de las celdas pero evaluando los pros y contras, teniendo en cuenta que no se tenía conocimiento del valor de densidad de potencia teórico resultante del sistema.

Tipo de electrodos

Otro parámetro de diseño a tener en cuenta es el tipo de electrodos que se usen como receptores eléctricos, pues son los encargados de captar los electrones producto del metabolismo bacteriano y de permitir la formación de moléculas de agua por asociación de iones H^+ y O_2^- (Kumar y cols., 2018). Los materiales del electrodo deben ser conductivos, biocompatibles y químicamente estables en la solución del reactor (Bensaid, Ruggeri, y Saracco, 2015). Se realizó una revisión conceptual de diferentes materiales que podría ser utilizados como electrodos en las celdas, entre los cuales se encontraron elementos como el cobre, cromo, carbono y zinc; se evaluaron características de: versatilidad, conductividad, presentación y precio (Bensaid y cols., 2015).

El posicionamiento de los electrodos dentro de una celda no ha sido investigado a profundidad, ya que los investigadores implementan distintos tipos de electrodos en diferentes presentaciones y por lo tanto no se tiene una guía de cómo proceder en este sentido; sin embargo, es im-

portante tener en cuenta que deben ubicarse muy próximos a la rizósfera de la planta (menor a 5cm), sobretodo el ánodo, para facilitar el proceso de obtención de energía del potencial redox (Chiranjeevi y cols., 2012). Adicionalmente, se ubicaron los electrodos teniendo en cuenta que la teoría sugiere que el ánodo debe encontrarse idealmente en una condición anaeróbica, es decir, sin presencia de oxígeno, y el cátodo en condición aeróbica pero también en contacto con el sustrato (para este caso el agua) (Groen, 2019).

Distancia entre electrodos y distancia rizósfera-electrodos

Uno de los factores que influye en la resistencia interna. como fue mencionado, es la distancia promedio entre el ánodo y el cátodo, pues una larga distancia del ánodo al cátodo (mayor a 15cm) conduce a pérdidas de transporte bioeléctrico en el ánodo (Chiranjeevi y cols., 2012). En general, resulta que se ha demostrado que la resistencia interna del PMFC, especialmente la resistencia del transporte, es un importante factor limitante en la potencia de salida del sistema. Investigaciones, como las de (Chiranjeevi y cols., 2012), demuestran que a una mayor distancia (+15cm), ya sea entre los electrodos o entre la rizósfera y los mismos, se producen pérdidas en la potencia de salida del sistema, debido tanto al tiempo de transporte como a la resistencia que pueden encontrar en el camino”.

A su vez, debe tenerse en cuenta que la distancia debe ser la menor posible (menor a 10cm), buscando conservar todos los elementos en sus

proporciones; también, esta clase de resistencia no solo puede llegar a determinar la resistencia de transporte, sino que también determina otras clases de resistencia como la resistencia de membrana y la resistencia iónica, puesto que una distancia mayor conducirá a una mayor resistencia iónica y con eso a una mayor resistencia a la membrana (Helder, 2012).

Para mejorar esta condición, se han estudiado algunos diseños para establecer una forma de la celda que permita una mayor captación de electrones y que reduzca la resistencia dada por el transporte. Para definir la distancia entre los electrodos, se procedió a establecer una aproximación de las dimensiones de la celda tomando como referente las dimensiones del jacinto de agua que fueron de 15cm de ancho y 20cm de largo aproximadamente. Sin embargo, la distancia entre los electrodos fue determinada *in situ*, cuando ya se tuvo presente la forma de la celda, que es el siguiente factor determinante en el diseño.

Forma de la celda

Típicamente, se tienen dos formas de celda: la PMFC tubular y la PMFC de placa plana. La siguiente figura ilustra las formas que puede tener una PMFC:

Ahora bien, es relevante resaltar las características de cada celda. La celda tubular usualmente cuenta con un ánodo de forma tubular con una membrana en el fondo del tubo y el cátodo está situado debajo del ánodo. Cuando los electrones se producen homogéneamente en el compartimento anódico, la distancia de transporte promedio para que un protón

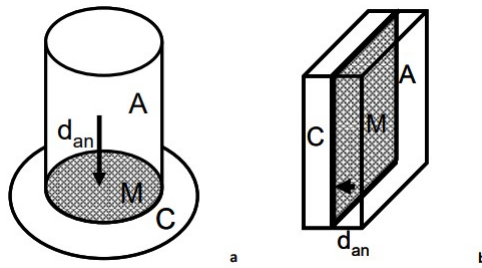


Figura 6.1: Forma tubular (a) y forma plana (b) de una PMFC. A=Ánodo; C=Cátodo; M=Membrana; d_{an} =Distancia ánodo-membrana.

se desplace desde el ánodo a través de la membrana hasta el cátodo es relativamente larga (Helder, 2012).

En la celda de placa plana, el ánodo y el cátodo se colocan uno al lado del otro con una membrana verticalmente en el medio. De esta forma, la distancia desde el ánodo hasta el cátodo es menor y la resistencia al transporte será limitada. La figura 6.1.1 ilustra las dos formas de celda, la tubular (a) y la de placa plana (b); Para determinar en ambos casos la mejor distancia, se debe visualizar los componentes que estarán en ella y también se debe tener en cuenta que no se puede reducir la distancia al mínimo (tendencia a cero), porque la relación entre las dimensiones de la celda y la potencia de salida tiene una tendencia hacia la proporcionalidad (Helder, 2012).

Por consiguiente, la selección de la forma de la celda a implementar dependerá de cómo se requiere aceptar los electrones libres, como se quieren conducir, y cómo está compuesto el sustrato en la celda, que para este caso en particular, se definió según las características morfológicas

del Jacinto de agua.

Otras variables relevantes

Dentro de otras variables que podrían ser considerados relevantes para el diseño e implementación del sistema, se encuentran las dimensiones de la celda y la concentración de las bacterias electroquímicamente activas; a pesar de su importancia, las relaciones de éstas con la generación de bioenergía están en construcción aún, y por lo tanto la determinación de estas variables se llevó a cabo teniendo en cuenta las dimensiones del jacinto anteriormente descritas.

Para las medidas de las dimensiones de la celda se tuvo en cuenta principalmente la especie vegetal utilizada; por ejemplo, una investigación mostrada en los antecedentes que utilizó la misma especie vegetal, dimensionó su celda de 38 x 25 x 28 cm, ya que las raíces logran longitudes de hasta 30cm (Mohan y cols., 2011). De la misma manera, dependiendo del número de plantas a ubicar dentro de la celda, las dimensiones deben aumentarse. Si es un número par de plantas, se considera aumentar de forma cuadrada pero si es impar, de forma rectangular, para mantener un equilibrio en la disposición de nutrientes a la rizósfera. En cuanto a la concentración bacteriana tampoco se tiene información relevante en este campo de trabajo y, por ello, se caracterizó la población microbiológica en el suelo para demostrar la presencia de bacterias electroquímicamente activas.

6.1.2. Diseños

Se realizaron diferentes diseños conforme las necesidades particulares del sistema en un momento dado, es decir que se fueron diseñando diferentes celdas a medida que se requerían cambios para mejorar la eficiencia de las mismas.

De esta manera, se utilizaron los componentes seleccionados para diseñar en un software algunas posibilidades o candidatos como diseño final de celda, determinando las ventajas y desventajas de cada uno de ellos y así lograr el diseño más eficiente posible.

6.2. Implementación de la celda

Para poder implementar la celda diseñada, primero que todo se adquirieron los componentes necesarios para su funcionamiento, componentes tanto biológicos como otros materiales; además, para asegurar la presencia de bacterias electrógenas en las celdas se decidió realizar un análisis de identificación de la población microbiana en las muestras obtenidas.

6.2.1. Adquisición de componentes

Primero que todo se adquirieron comercialmente componentes tales como los electrodos de grafito, las celdas (recipientes), el sustrato que fue granito y cables de pinza tipo caimán como cables conductores para conectar a los electrodos.

Por otra parte, algunos de los elementos como las plantas y el agua con posible concentración de bacterias electrogénicas, se pueden encontrar en cuerpos de agua eutróficos como algunas lagunas. Por lo tanto, para efectos de la obtención del Jacinto de agua, se procedió a extraer especímenes de la laguna de Fúquene, en Cundinamarca, Colombia.

Con respecto al agua, se tomaron muestras en botellas de vidrio de 250mL previamente esterilizadas. Cada muestra contenía 200mL aproximadamente de agua (se dejó una altura de 4cm de aire para la oxigenación de las muestras). El agua se tomó de dos zonas diferentes; la zona 1 consta de la orilla de la laguna y la zona 2 se refiere a la ubicación de la isla flotante; el objetivo de recolectar muestras de agua de dos zonas diferentes, pero relativamente cercanas, entre sí era determinar si la población de las bacterias electrógenas era mayor en alguna de las dos. Las muestras se recolectaron a temperatura ambiente, de unos 14°C y se conservaron en nevera a unos 4°C aproximadamente hasta su análisis.

6.2.2. Recuento de la población microbiana

Se realizó el análisis microbiológico sobre las muestras de agua obtenidas; para ello, se realizó recuento de colonias por medio de cultivo en agar PlateCount. Es importante enfatizar en que se realizó el análisis a dos clases de muestras diferentes: se tiene la Zona 1 (Z1) como la orilla de la laguna y la Zona 2 (Z2) como la zona de la isla flotante del Jacinto de agua.

Entonces, se tomó una botella de muestra de agua de cada zona al

azar y de ellas se realizaron tres diluciones de relación 1:10 y tres repeticiones de cada una de las diluciones. En total se realizó el análisis a 28 muestras, 20 de PCA y 8 de Cetrimide, contando las muestras Stock.

Primero, se procedió a realizar la preparación de los medios de cultivo necesarios para el recuento. Para preparar el medio de cultivo, se utilizó agar PlateCount (PCA) y se preparó de acuerdo a lo especificado de la marca (Ver anexo B). Además, se procedió a preparar solución salina al 80 % p/v, que permite mezclarse con las muestras de agua y así preparar las diluciones de la muestra.

Ya preparados los agares y la solución salina, se esterilizó todo en autoclave (MaXterile 80, DAIHAN Scientific) a 121°C por 15 minutos a 15 libras de presión. Siguiendo a ello, se realizaron diluciones seriadas en base diez, por lo que 10mL de solución contenía 1mL de la muestra de agua de la laguna y el resto de la solución era la solución salina previamente hecha. Las diluciones se realizaron hasta 10^{-3} , ya que se recomienda llegar hasta este orden cuando se realiza análisis de muestras de agua (Sebek y Randles, s.f.).

Luego, se procedió a realizar el vertimiento en cajas de Petri previamente esterilizadas en una cabina de flujo laminar (*Purifier Class II Biosafety Cabinet*, Labconco). Por último, y cuando el agar ya estaba sólido y listo para usar, se procedió a realizar la siembra de las diluciones, la cual se hizo en superficie, teniendo en cuenta tres réplicas para cada una de las diluciones (Stock, 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}). Después de sembradas, las muestras se llevaron a incubadora (HERATharm, Thermo Scientific) a 37°C por 48 horas. Pasado el ciclo de incubación se hizo lectura de los

resultados, partiendo de que la dilución que cumple con la norma de más de 30 colonias y menos de 300 es a la que se hace el recuento y luego se multiplica por el inverso del factor de dilución.

6.2.3. Identificación presuntiva de la población microbiana

Luego, se procedió a revisar que las muestras de agua recolectadas tuviesen presentes bacterias electroquímicamente activas, pues de esto depende la producción bioenergética. Se realizó la identificación de *Pseudomonas* sp. por medio de cultivo en agar Cetrimide. La metodología seguida fue similar a la realizada para el recuento, exceptuando que el agar a preparar según lo especificado, es agar Cetrimide (Ver anexo B). Con respecto a la siembra de muestras, también se realizaron tres diluciones pero sólo una réplica de cada dilución.

Además de realizar la identificación presuntiva de *Pseudomonas* sp. en las muestras de agua, se realizó un análisis bioquímico de las mismas; dicho análisis se realizó por medio de un kit llamado RapID System, específicamente RapID ONE System de laboratorios Remel®. Por lo tanto, se realizó la identificación según manual instructivo del kit y se analizaron los resultados según la interpretación de las pruebas del sistema RapID ONE, tabla que se encuentra en el anexo E. Este procedimiento se realizó con una réplica adicional, es decir que se utilizaron dos kits para corroborar los resultados y así asegurar la confiabilidad de los mismos.

6.2.4. Ensamblaje de la celda

La celda se ensambló preliminarmente según el diseño establecido (cuarto diseño), sin embargo, se tuvo que realizar una serie de cambios en el prototipo y por lo tanto, se recurrió a planificar algunas estrategias para aumentar la potencia de las celdas.

Además se implementaron un total de tres celdas para ayudar en el análisis estadístico y como control de errores; adicionalmente, se implementaron tres celdas MFC, con el objetivo de contrastar los resultados en la generación de bioenergía y así asegurar la importancia de la planta en el sistema.

6.2.5. Estrategias para maximizar la potencia

La primera estrategia constó de cambios en los cables conductores debido a que se presentaron inconvenientes con las pinzas caimán. La segunda fue la bioaumentación de *Pseudomonas* sp. en las celdas de combustible.

Cambios en los cables conductores

Con respecto a esta estrategia, lo primero fue observar cuantitativamente (por los datos obtenidos del multímetro) y cualitativamente (revisión del material de los cables) los cables conductores que eran los tipo pinza caimán. Luego de ver los resultados, se cambiaron por alambre de cobre de calibre 10. Los alambres se cortaron de 15cm de longitud y se ubicaron a lo largo del electrodo donde 5cm quedaron descubiertos pa-

ra conectar al multímetro por medio de los cables de pinza y se juntó usando cinta aislante en dos extremos del alambre.

Después de analizar los resultados, se decidió cambiar la forma del alambre a un esquema helicoidal de 7 vueltas para brindar un mejor agarre del cable al electrodo y una mayor área de contacto con respecto a la anterior configuración, además de disminuir el calibre del alambre a calibre 15 con el objetivo de mejorar la conductividad del alambre para hacer la hélice; para este caso solo se utilizó cinta para fijarlo a la pared de la celda (cátodo) y el fondo (ánodo). Se analizaron nuevamente los resultados.

Por último, se procedió a realizar otro cambio; entonces, se cortó un extremo del cable de extremo de pinzas y se peló hasta dejar 10cm de filamentos de cobre, los cuales se pegaron con cinta al electrodo. Se analizaron nuevamente los resultados.

Aumento de la población de *Pseudomonas* sp. en las celdas

Para ello, primero se prepararon los medios de cultivo y caldos necesarios. Entonces, se usaron el agar nutritivo, el caldo LB y el caldo nutritivo. Los medios de cultivo preparados se llevaron al autoclave y luego de haber pasado el ciclo de autoclavado, se procedió a realizar el vertimiento del agar nutritivo en cajas de Petri previamente esterilizadas.

En la metodología previa, se había dispuesto el análisis microbiológico de las muestras de agua para la identificación de *Pseudomonas* sp., y por tanto, las colonias de los medios identificados con *Pseudomonas* sp.

fueron utilizados como base para la siembra en los medios nutritivos. Se realizó la siembra en 5 cajas de Petri, donde en 3 de ellas se realizó una siembra por estrías en dispersión/masivo y en los 2 restantes se realizó una siembra por estrías en aislamiento (con el asa cargada se hicieron 3 o 4 estrías). Luego de sembrar las colonias, se llevan a incubadora de 24–48h a 37°C.

Pasado el tiempo de incubación, se tomaron colonias de las cajas de Petri sembradas por masivo para introducirlas en los tubos de ensayo con caldo LB; los caldos se llevaron a un agitador orbital con incubación (ES-60, Demo scientific) 24 horas a una temperatura de 37°C y a 150rpm. Luego de haber transcurrido el tiempo indicado se sacaron del equipo, obteniendo así el preinóculo de crecimiento. Para verificar que las colonias en proceso de crecimiento fueran de *Pseudomonas* sp., se realizó una tinción de Gram; para este procedimiento, se agregaron algunas gotas del preinóculo y luego se agregaron gotas de violeta de genciana, lugol, alcohol acetona y safranina. Para observar los resultados se utilizó un microscopio Olympus CX31 y se aplicó aceite de inmersión a la muestra para mejor observación, la cual se hizo con lente de 40x (López y cols., 2014).

Siguiente a ello, se seleccionó un preinóculo que no presentaba sobrenadante y se introdujo en el Erlenmeyer del caldo nutritivo y se dejó en agitación constante en el shaker a 150 rpm y 37°C por 72h. Por último, se recolectó el inóculo en una botella estéril de 500mL y ya en las PMFC se adicionaron 100mL aproximadamente del inóculo a cada una de ellas.

6.2.6. Determinación de la demanda de oxígeno

Debido a que, en condiciones ideales, el ánodo debería estar en un ambiente anaerobio (Groen, 2019), se procedió a realizar pruebas de DQO y DBO a muestras de agua de diferentes momentos; además, estas pruebas se realizaron para conocer el estado del agua en las celdas a través del ciclo de operación; por lo tanto, una muestra se obtuvo del agua de las PMFC, la segunda se obtuvo del agua de las MFC y la tercera del agua lluvia que se añadía periódicamente a las celdas.

Demanda química de oxígeno

Para la prueba de DQO se utilizó el kit de DQO de Merck®. Entonces, se tomaron las 3 muestras, donde se realizaron con dos concentraciones de reactivo B diferentes y se hicieron por duplicado para un total de 14 pruebas (contando el blanco y su duplicado). A cada tubo de dco se agregaron 0,3mL de reactivo A, luego 2,85mL de reactivo B (10-100ppm) o 2,30mL (100-1500ppm) y 3mL de la muestra (Merck, s.f.). Siguiendo a ello se llevaron a un termoreactor (Spectroquant TR420, Merck) en un ciclo de 2 horas; pasado el ciclo se hizo lectura de los resultados a 446 y 585 nanómetros en un espectrómetro (Genesys 5, Thermo Scientific).

Demanda biológica de oxígeno

Para la prueba de DBO₅ se utilizó el Sistema de medición respirométrico OxiTop® de Xylem para la medición de autodiagnóstico de

DBO con muestras sin diluir; se realizaron 3 puntos de medición, uno para cada muestra, donde se agregaron 100mL de muestra, 2 gotas del inhibidor de nitrificación y 4,8g aprox. de NaOH. (Xylem, s.f.) Se dejaron en un ciclo de 5 días (DBO₅) y transcurrido dicho período se hizo lectura del registro de los resultados.

6.3. Operación de la celda

6.3.1. Evaluación de potencia y de densidad de potencia

Para determinar la potencia de las celdas, se procedió a realizar mediciones del voltaje y de la corriente de cada una de ellas. Para ello se usó un multímetro (MUT-33, Truper) y se midió el Voltaje de circuito abierto (Voc) y la Corriente de cortocircuito (Isc), conectando los cables conductores de la celda (terminado en extremo de pinza) a los terminales del multímetro. Con los datos obtenidos y usando la ecuación 6.1, se obtuvo la máxima transferencia de potencia de la PMFC.

$$P = \frac{V_{OC}^2}{4 \cdot R_{th}} \quad (6.1)$$

siendo,

$$R_{th} = \frac{V_{OC}}{I_{SC}} \quad (6.2)$$

Donde P es la potencia en Watts (W), Voc es la tensión en circuito abierto dada en Volts (V), Isc la corriente de corto circuito dada en amperios (A) y R_{th} la resistencia de thévenin dada en ohms (Ω). La densi-

dad de potencia se calculó al dividir la potencia eléctrica obtenida entre el área de la celda; debido a la forma de ésta, se optó por realizar una aproximación a un cilindro con sus círculos de área igual a $0,023m^2$. Entonces, la ecuación sería la siguiente:

$$\rho W = \frac{P}{0,023m^2} \quad (6.3)$$

Luego de haber realizado las estrategias para maximizar la potencia, la operación se midió de la misma manera que bajo las condiciones iniciales, pero esta vez se midió la resistencia interna de la celda con el multímetro para calcular la máxima transferencia de potencia a partir de la ecuación 4.4 y así comparar los resultados de los dos métodos de cálculo de potencia.

Resultados y discusión

7.1. Diseño de la celda

Al haber realizado una selección previa de las variables de diseño más relevantes para el desarrollo de la celda de combustible, se realizó la selección de los componentes.

7.1.1. Selección de componentes

Tipo de planta

Se seleccionó la especie vegetal *E. crassipes*. Sus características tales como el largo de sus raíces (permite una mayor interacción con los electrodos), sus condiciones de crecimiento (Mohan y cols., 2011), y su disponibilidad en el territorio colombiano, hacen al jacinto de agua idóneo para ser utilizado en una PMFC.

Un parámetro muy importante para la selección fue la rizósfera, específicamente, su longitud, grosor, y demás características que sobresa-

len en la absorción de nutrientes y liberación de desechos; entre mejores propiedades tenga la rizósfera, más posibilidades de mantener un ciclo continuo del metabolismo vegetal y bacteriano podrá realizarse sin inconvenientes, de tal manera que tanto las bacterias como la planta no se vean afectados en cuestión de disponibilidad nutricional (Mohan y cols., 2011).

Típicamente en una PMFC se utilizan plantas que pueden crecer con sus raíces en condiciones de anegación para evitar la entrada de oxígeno del aire en el ánodo, puesto que si hubiera oxígeno disponible en el ánodo, los electrones serían utilizados directamente para la reducción de oxígeno y se perderían durante la producción de electricidad (Gowtham y Shunmug, 2015). Muchas especies herbáceas, incluida *E. crassipes*, pueden sobrevivir bajo condiciones de inundación (Helder, 2012).

Por último, se tuvo en cuenta la ruta fotosintética que lleva a cabo la planta para realizar el proceso de fotosíntesis; existen tres rutas, C3, C4 y CAM, donde la ruta C4 sugiere ser la más eficiente (YourArticleLibrary, s.f.) pero a pesar de ello, otros factores estrechamente relacionados como el área foliar y el ambiente de la planta pueden mitigar la deficiencia en las otras rutas (Nitisoravut y Regmi, 2017). *E. crassipes* presenta una ruta C3, pero es compensada con el área de sus hojas, la cual es mayor en comparación a varias plantas y pastos que tienen una ruta C4, y por ende, se le considera competitiva para usarse en estos proyectos de PMFC (Nitisoravut y Regmi, 2017).

Los parámetros resultantes de las plantas fueron los siguientes: El área foliar promedio del jacinto fue de 22cm^2 aproximadamente, el peso

de un espécimen fue de 200g y la longitud de las raíces de unos 14cm en promedio.

Propiedades del medio

Los requerimientos nutricionales para *E. crassipes* no son significativos (por eso se considera al jacinto de agua una maleza acuática) puesto que esta especie es capaz de sobrevivir en ambientes con poca disponibilidad de oxígeno disuelto en agua y no necesitan de constante nutrición de elementos mayores (N, P, K) (Mohan y cols., 2011), pero pueden obtenerlos por medio de fertilizantes. Sin embargo, el hecho de que no necesite en gran medida de dichos nutrientes, no significa que no se pueda añadir una solución nutritiva para la planta y mejorar su rendimiento, y por lo tanto, también mejorar su metabolismo, que a su vez incrementaría el rendimiento de consumo bacteriano (Nitisoravut y Regmi, 2017). Se decidió utilizar un fertilizante compuesto líquido. Se seleccionó el fertilizante ferti Foliar completo (Agroindustrial S.A.S.), el cual se compone de 200g/L de Nitrógeno, 100g/l de Fósforo, 50g/l de Potasio y contiene otros oligoelementos necesarios para el desarrollo de la planta. el medio se compuso de agua y gravilla (asimilando el medio donde se encuentran las plantas naturalmente); cabe enfatizar que el agua inicial fue recolectada directamente del mismo lugar donde se obtienen las plantas para que la carga de nutrientes sea similar a la que constantemente estaban recibiendo y para que el cambio de ambiente no genere altos niveles de estrés en las plantas que puedan afectarlas fisiológicamente.

Resistencia interna

Se decidió no implementar una membrana de intercambio iónico en la celda ya que no se conoce la energía que podría resultar del proceso y porque no se busca perder ninguna carga iónica.

Ahora bien, en cuanto a los electrodos el material más versátil resultó ser el carbono (Bensaid y cols., 2015). El fieltro de grafito es uno de los materiales más utilizados como electrodos en el laboratorio; sin embargo, se pueden usar gránulos de grafito más pequeños en el ánodo para lograr una mayor producción de potencia en un PMFC debido a una mayor superficie efectiva, lo que aumenta el contacto entre los microorganismos y el grafito, induciendo así una menor resistencia interna y una mayor densidad de potencia (Deng y cols., 2012). Por lo tanto, se seleccionaron electrodos de grafito en presentación de barras compuestas de gránulos compactos de 10cm de longitud y 1cm de diámetro.

En cuanto a la forma de la celda, la forma tubular presentaría una ventaja con respecto a la de placa plana, en tanto que las raíces de la planta se acoplan mejor a esta forma (Helder, 2012); sin embargo, se deben ajustar también los electrodos para que se mantengan las proporciones, es decir, también deberían tener forma tubular para facilitar la interacción con la rizósfera del Jacinto. Por lo tanto, se decidió desarrollar una celda con forma tubular debido a las características de *E. crassipes*, de tal forma que exista un mejor acople y permita una mayor libertad al movimiento de las raíces. Como los electrodos seleccionados fueron barras de grafito, es decir que también son tubulares, también permiten

una mayor conductividad eléctrica y un mejor acople a la rizósfera de la celda, abarcando más espacio con mayor superficie de contacto (Bensaid y cols., 2015).

Teniendo en cuenta los parámetros de diseño seleccionados y los componentes escogidos, lo siguiente a realizar fue el diseño de la celda de combustible. Para ello se utilizaron diferentes herramientas de software y, por consiguiente, se realizaron varios modelos a medida de que los parámetros lo requerían.

7.1.2. Modelos y planos

Primer diseño

El primer diseño de la celda se desarrolló en un software llamado Tinkercad, el cual permitió modelar una celda base que sirvió como eje principal para los demás diseños; por tanto, el diseño preliminar parte con una especificación de área de $1m^2$ y 1m de altura; además se establecieron proporciones base en el recipiente o tanque de 50 % de suelo y 30 % de agua (el restante 20 % es de aire). Además, el sistema contiene un par de electrodos ubicados a 10cm de profundidad y con tres plantas. La razón de por qué se tendría a más de un individuo de Jacinto de Agua en el sistema es para un mayor aporte de biomasa para el consumo microbiano. De igual manera, la razón de que los electrodos estén sumergidos en el sistema es para una mejor interacción con las comunidades bacterianas.

Ahora bien, este diseño base tiene algunos problemas que hacen que

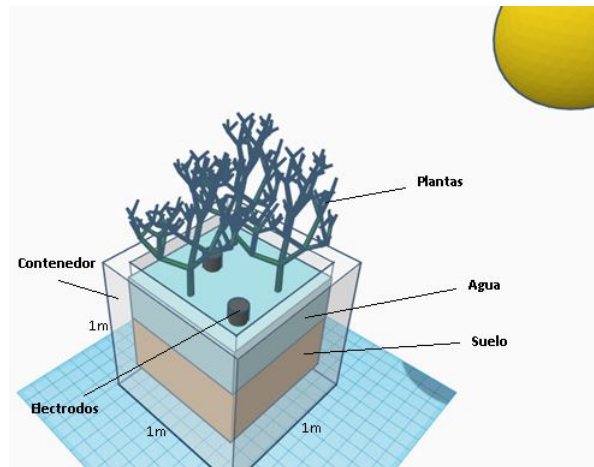


Figura 7.1: Primer diseño de la PMFC realizado en Tinkercad.

no sea viable implementarlo; uno de ellos es la proporción de la energía en términos de determinar el aporte de nutrientes de cada planta, pues resulta que no se percibe uniformidad y una relación métrica entre cada una de las plantas y por lo tanto, no se podría decir que el aporte de nutrientes es el mismo por cada celda. Otro problema, teniendo en cuenta el parámetro de proximidad entre los electrodos, es la ubicación de los mismos dentro de la celda, ya que a nivel técnico, el modelo no representa la ubicación, en términos espaciales, de los electrodos y al no tener la uniformidad anteriormente mencionada, tampoco se podría determinar el aporte energético de cada subsistema (planta-rizósfera-microbiota), además, no se consideró para este diseño que la teoría sugiere que uno de los electrodos, el cátodo debería ser aeróbico (Gowtham y Shunmug, 2015). Además, no se tuvo en cuenta la naturaleza de la planta, pues

las proporciones de suelo y agua no correspondían o se alejaban de la realidad, pues el Jacinto de agua se localiza, precisamente, en cuerpos de agua de diferentes profundidades y, entonces, el porcentaje de agua debe ser mucho mayor al de tierra. Por último, las dimensiones de la celda resultaron ser muy grandes en términos de permitir la portabilidad de la celda, por lo que debían ser ajustadas.

El software Tinkercad presentaba ciertas limitaciones, sobretodo, para ilustrar los planos de la celda, ya que Tinkercad no presenta esta opción y a pesar de que el programa contaba con una interfaz muy amigable con el usuario y que tenía modelos preestablecidos como las plantas, se decidió cambiar de software a Fusion 360 para los diseños posteriores, pues es un software con licencia gratuita para instituciones educativas y además de ello permite realizar diseños de manera eficiente, e incluye la característica de obtener los planos a partir de los diseños realizados.

Segundo diseño

Como se mencionó anteriormente, se realizaron los demás diseños en el software de Autodesk, Fusion 360, ya que permite visualizar modelos más realistas y también permite la creación de planos a partir de los modelos. Teniendo en cuenta el primer diseño realizado en Tinkercad, se hicieron algunos ajustes para mejorar el área de la celda, uniformidad en la obtención de la energía por cada planta, y la ubicación de los electrodos en la celda. Por consiguiente, se estableció un diseño similar al básico pero con una distribución diferente, más rectangular, que permi-

tiese ubicar los elementos del sistema de forma teóricamente simétrica. Estos diseños constan de los mismos elementos, la celda base, los electrodos y el agua y suelo, teniendo en cuenta que las proporciones ahora era 20 % de suelo y 50 % de agua, ya que según el estudio realizado con *E. crassipes* mostró que, siendo una planta acuática, el recurso líquido era más importante (Mohan y cols., 2011) (el 30 % restante corresponde a aire). En cuanto a sus dimensiones se buscaba que el área también fuese de $1m^2$ como mínimo así que las dimensiones eran de $(0.5 \times 2 \times 1)m$; también contenían tres plantas de Jacinto de agua y dos electrodos sumergidos (Ver figura 7.2).

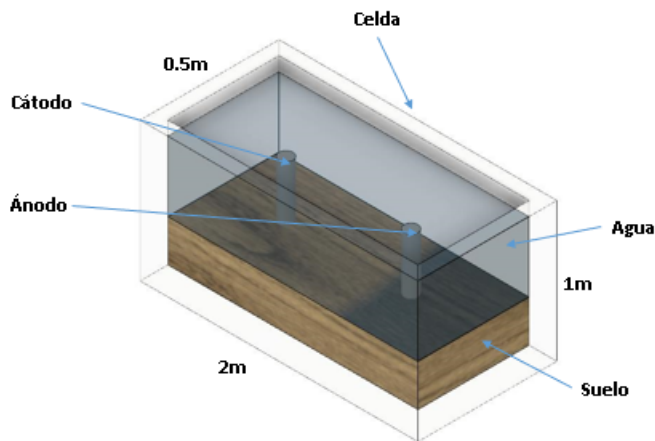


Figura 7.2: Segundo diseño de la PMFC, realizados en Fusion 360.

Se decidió que este diseño tampoco era viable para su implementación debido a varios factores, teniendo en cuenta que al mejorar variables que permitían un mejor análisis (como por ejemplo la distribución de biomasa por cada planta) hacía que se perdieran otras más importantes

en términos prácticos, como la portabilidad del sistema.

Resulta que este diseño tenía unas dimensiones considerables que afectaban la portabilidad de la celda, pues desde un inicio se planteó que la misma, dentro de sus requerimientos de calidad, tuviese la propiedad de ser portátil; si se analiza que la celda tendría que llenar la mitad de su volumen sólo con agua, además del suelo y las plantas (la masa de los electrodos es despreciable en comparación con lo demás), la celda sería muy pesada y se perdería ese criterio de calidad establecido. Por otra parte, y partiendo de esas dimensiones, no sería suficiente tener solamente dos electrodos para recoger los electrones libres, ya que se necesita que los electrodos estén lo más cercano a la rizósfera de la planta (Chiranjeevi y cols., 2012) y la distancia entre ellos sea corta; pero al tener todo ese espacio y tres plantas, se hace más difícil y lenta la recolección de energía eléctrica. Dicho lo anterior, se decidió cambiar nuevamente el diseño de la celda a uno que permitiera ser portátil y que las características para la recolección fueran mejores.

Tercer diseño

Este diseño fue el seleccionado para su implementación, ya que presenta ventajas muy concretas con respecto a los diseños anteriores; primero que todo, este diseño permite que la celda pueda ser portátil pues sus dimensiones base son de 17cm de diámetro y 15cm de altura, menores a las anteriores celdas, y porque sólo se contempla una planta por celda. Se optó por añadir solamente una planta por cada celda para que la

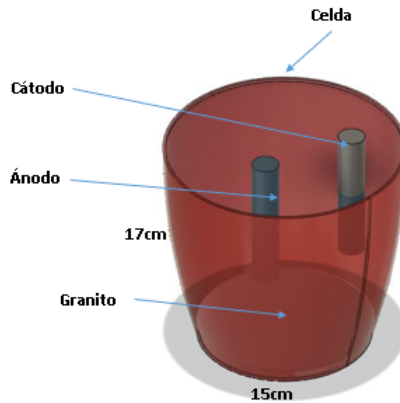


Figura 7.3: Tercer diseño de la PMFC realizado en Fusion 360.

portabilidad mejorara y para que los resultados a obtener estuviesen ligados a esa planta en particular, conociendo el aporte relativo de la misma. Además, la forma de la celda es tubular, lo que favorece la eficiencia de la misma, ya que la ubicación de los electrodos puede llevarse a cabo de tal manera que estén en buen contacto con la rizósfera de la planta.

Por otra parte, y gracias a la comunicación que se tuvo con funcionarios de Plant-e (Groen, 2019), se conoció que para mejorar las condiciones eléctricas de salida del sistema, es importante ubicar los electrodos de tal manera que, además de los factores mencionados, el ánodo se encuentre dentro de un ambiente lo más anaeróbico posible y el cátodo se encuentre en un ambiente aeróbico, pero también esté sumergido parcialmente. Por lo tanto, se aplicó de tal manera que la altura de los electrodos con respecto a la base sea diferente. En la figura 7.3, se aprecia el diseño establecido; sin embargo, para observar todas las medidas, se realizó un

7.2. Implementación de la celda

7.2.1. Adquisición de componentes



(a) Cuenca de la laguna de Fúquene actual (en negro) y el antiguo lago (en rayado).

(b) Ubicación aproximada
del sitio de recolección de
E. crassipes

Figura 7.4: Adquisición del Jacinto de agua en la laguna de Fúquene

Los individuos de *E. crassipes*, se obtuvieron de una isla flotante ubicada en el área perimetral de la laguna, a unos 500m de la orilla, en la zona sur-occidental. En la figura 7.4, se puede observar la geografía de la laguna junto con la localización aproximada del punto de recolección del Jacinto de agua. En la figura 7.5 se puede observar la isla flotante de *E. crassipes*:



Figura 7.5: Isla de Jacinto de agua encontrada en el perimetral de la Laguna de Fúquene.

7.2.2. Recuento e identificación de la población microbiana

Análisis microbiológico

Recuento de colonias

Para la zona 1 (Orilla de la laguna de Fúquene) y según el criterio expuesto en la metodología, la solución madre cumplió con el requisito de más de 30 y menos de 300 colonias, por lo cual se escogió para realizar el recuento, de tal manera que se obtuvo un total de 259 UFC/mL, lo que quiere decir que no había necesidad de diluir las muestras de agua para realizar el recuento. Para la zona 2 (Isla de Jacinto de agua), solo la caja que contenía la dilución de 10^{-3} no tenía presencia de colonias; de resto las demás cajas si tenían presencia de microorganismos pero no se pudo contar debido a que la segunda dilución no tenía más de 30 colonias y

las otras dos diluciones sobrepasaban las 300 colonias, además de observar agrupamientos localizados de varias colonias no cuantificables, obteniendo como resultado que hay presencia de mesófilos o heterótrofos. Con la muestra Stock sucedió algo adicional y es que se observó la presencia de dos tipos de microorganismos diferentes; sin embargo, uno de ellos presentó un crecimiento típico gram-negativo lo que puede indicar la presencia de bacterias electroquímicamente activas que generalmente son de este tipo. En la siguiente figura se pueden observar algunos de los resultados más relevantes.

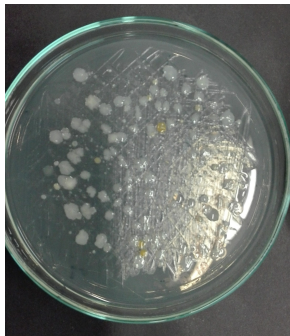


Figura 7.6: Único agar PlateCount cuantificable con 259 colonias (Zona 1).

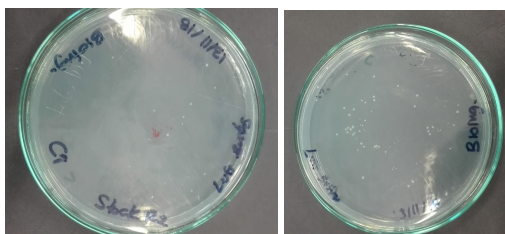
Teniendo en cuenta que el agar PlateCount se utilizó con el objetivo de realizar el recuento de bacterias mesófilas presentes en la muestra de agua, se puede determinar que sí hay crecimiento bacteriano, ya que al relacionar la composición química del agar se deduce que la comunidad bacteriana en crecimiento utiliza la Triptona y el Extracto de Levadura como las fuentes de nitrógeno y de vitaminas que se requieren para su

crecimiento, y la glucosa actúa como fuente de energía (Difco, 2009).

Identificación presuntiva de *Pseudomonas* sp.

De igual forma, se realizó la observación de las cajas de ambas zonas; con respecto a la zona 1, se obtuvo que no se formaron colonias en ninguna de las muestras ni diluciones y por tanto no se establece la presencia de *P. aeruginosa* en la orilla de la laguna de Fúquene. Con respecto a la zona 2, se obtuvo que solo en la muestra Stock hubo presencia de colonias; estas colonias presentaron características definidas como una fluorescencia de tonos verdes, color semitransparente y un aspecto cremoso. Lo anterior sugiere que si hay presencia de *P. aeruginosa* en el agua donde se encontraba la isla flotante del Jacinto de agua; sin embargo, la muestra se observó con estímulo de luz ultravioleta (UV) para determinar la fluorescencia generada por la piocianina y fluoresceína (BD, 2013), ya que se debe notar (característica propia de *P. aeruginosa*). Aunque la observación está sujeta a la capacidad visual del observador, no se notó alguna fluorescencia, de tal manera que se puede tratar de una cepa de *Pseudomonas* pero de otra especie que no produzca piocianina o fluoresceína (BD, 2013), y por tanto se procedió a repetir la prueba, pero esta vez solamente para las muestras Stock y de la primera dilución.

Teniendo en cuenta que el agar Cetrimide se usa comúnmente para el aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* por medio de una producción mayor de piocianina de *Pseudomonas aeruginosa* (BD, 2013), se puede inferir que se identifica presuntivamente *P. aeruginosa*.



(a) Zona 1

(b) Zona 2

Figura 7.7: Resultados de crecimiento de *P. aeruginosa*

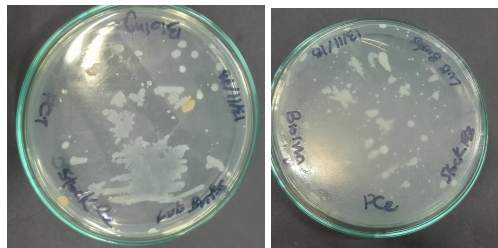
La presencia bacteriana se debe a que la peptona le sirve como fuente de nitrógeno, y el glicerol lo utiliza como fuente de carbono y energía. La producción de piocianina se estimula mediante el cloruro de magnesio y el sulfato potásico en el medio. La cetrimida (bromuro de cetil trimetil amonio) es un compuesto de amonio cuaternario que inhibe una amplia variedad de otros organismos, incluidos otras determinadas especies de *Pseudomonas spp.* y organismos relacionados (BD, 2013).

Por lo tanto se presume la identificación, por medio de técnicas microbiológicas, de una especie de *Pseudomonas sp.* con una probabilidad de que sea *P. aeruginosa*.

Repetición de las pruebas

Las pruebas se repitieron con el objetivo de obtener mejores resultados. La prueba esta vez solamente se realizo para 8 cajas de PCA y 6 de Cetrimide, ya que para el recuento se hizo para las dos zonas, muestra stock y primera dilución, y dos repeticiones; para la identificación se hizo para la zona 2, stock y primera dilución, y tres repeticiones.

Sin embargo, para el caso del recuento no se obtuvieron mejores resultados debido a que las colonias no podían ser cuantificadas con precisión. En contraste, las colonias en los agares de Cetrimide fueron mayores en comparación a las primeras pruebas, de tal forma que pudieron ser utilizadas para la prueba de identificación bioquímica. A continuación se observan los resultados del recuento y de la identificación:



(a) Zona 1

(b) Zona 2

Figura 7.8: Recuento de microorganismos en la repetición de la prueba (No cuantificable).

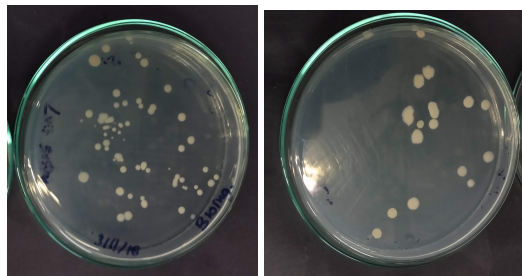


Figura 7.9: Colonias crecidas en el agar Cetrimide en la repetición de la prueba (Zona 2).

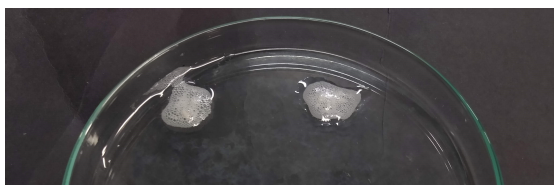


Figura 7.11: Resultado de la prueba de exposición a peróxido de hidrógeno.

GGT, ADON y OXI, lo cual indica o concuerda en su mayoría con lo establecido en la tabla de lectura del kit para *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, los resultados obtenidos también se compararon con el cuadro de control de calidad que presenta el manual de uso, el cual permite identificar alguna de 4 especies posibles (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* además de *P. aeruginosa*); los resultados de la comparación se pueden observar en el anexo G. Por tanto, se comparó cada resultado para establecer la compatibilidad de los microorganismos investigados con los posiblemente identificables. Se obtuvo que el total de desaciertos fue menor para *Pseudomonas aeruginosa* con un total de $n=5$, y que los otros tres microorganismos posiblemente detectables fue mayor (7, 9 y 11 respectivamente) y por tanto, en teoría el género identificado si es *Pseudomonas sp.*, pero al presentar algunos resultados negativos, se investigó si podría tratarse de una especie diferente.

Entonces, las pruebas de resultado negativo fueron 5 las cuales se refieren a reacciones en presencia de: arginina (ADH) que se basa en la hidrólisis del sustrato aminoácido que da lugar a productos alcalinos que aumentan el pH y cambian el indicador, aldehído de azúcar (KSF)

y sorbitol (SBL) que se refiere a la utilización del hidrato de carbono como sustrato que da lugar a productos ácidos que bajan el pH e inducen el cambio del indicador, prolina- β -naftilamida (PRO) que se basa en que la hidrólisis enzimática del sustrato de acrilamida libera β naftilamina que se detecta con el reactivo RapID ONE, y adonitol (ADON) que se refiere a la utilización del hidrato de carbono como sustrato que da lugar a productos ácidos que bajan el pH e inducen el cambio del indicador (OXOID, s.f.).

Sin embargo, la presencia o ausencia de arginina dihidrolasa no es de alta importancia para *P. aeruginosa* porque algunas veces no se pigmentan (King y Phillips, 1978), y por lo tanto sugiere que no es estrictamente negativo el resultado de la prueba bioquímica pues existe una tendencia variable en la reacción con arginina para *P. aeruginosa*. También en ese estudio se observó que todos los aislamientos de *P. aeruginosa* no pudieron atacar la caseína, la gelatina, la ramnosa y el sorbitol, y produjeron un pigmento marrón pálido en la tirosina. Es por ello que en cuanto a la prueba de sorbitol, el resultado parece ser estrictamente negativo y no tratarse de este microorganismo sino que posiblemente otro del mismo género, *Pseudomonas* sp., pero de diferente especie (King y Phillips, 1978).

En la figura 7.12, obtenida del estudio en cuestión, se muestra que puede ocurrir un resultado negativo de *P. aeruginosa* ante la presencia de arginina si el crecimiento de la cepa se lleva a cabo a 37°C.

Por otra parte, se encontró que un posible candidato a considerarse como la especie identificada es *Pseudomonas fluorescens*, pues en

TABLE II
Fluorescent, arginine-positive pseudomonads

Test	Reactions given by		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (18)	<i>P. fluorescens</i> * (27)	<i>P. putida</i> (46)
Growth at 42°C	+	—	—
Growth at 4°C	—	+	+
Reduction of nitrate	+	+	—
Reduction of nitrite	+	(—)	—
Ammonium salt "sugars"			
Ethanol	+	—	+
Glucose	+	+	+
Mannitol	+	+	—

Number of isolates tested is given in parenthesis.

* Typical reactions at room temperature.

(—) = Usually negative.

Figura 7.12: Evaluación de arginina en diferentes especies de *Pseudomonas* (King, 1978)

otro estudio realizado por (Sebek y Randles, 1951), se identificó que las etapas iniciales por las cuales *P. fluorescens* oxida manitol a fructosa y sorbitol a sorbosa apuntan al mecanismo conocido para operar en *Acetobacter*, otra bacteria electrógena, y es de suma relevancia este dato pues lo que caracteriza la producción de electricidad dada por estos microorganismos son las reacciones de oxido-reducción con compuestos como el acetato (Bond y Derek, 2003).

Con respecto a los demás resultados negativos no se encontró información relevante que contribuyera a la explicación del resultado; sin embargo y en general, otra de las posibles causas de resultados negativos puede ser el uso del kit de identificación, pues su vida útil puede contribuir a defectos de deterioro indeseados que pudieron ocurrir al realizar

estas pruebas. Por último, otra posible causa de error puede ser la visualización de los resultados, pues al ser una prueba colorimétrica, está sujeta a la interpretación visual del observador, y sobretodo en el código ADON la diferencia entre naranja oscuro y naranja claro es difícil de definir (Ver figura 7.10).

7.2.3. Ensamblaje de la celda

A continuación se pueden observar los resultados de la implementación de las celdas, teniendo en cuenta que se realizó una nueva implementación luego de haber realizado cambios en los cables conductores:



(a) Primer conjunto de celdas(según tercer diseño) (b) Implementación con cambios realizados a los cables conductores

Figura 7.13: PMFC y MFC implementadas.

Con respecto al primer conjunto de celdas implementado con referencia al cuarto diseño, se realizaron cambios en los cables conductores que se explicarán más adelante y cambios en el posicionamiento de los electrodos. La figura 7.14 muestra la base de la celda, en donde está la capa de granito y los electrodos posicionados según Groen, 2019. Se observó durante la implementación un consumo de agua aproximado de

450mL cada 3 días, teniendo en cuenta la disminución en el nivel de agua en la celda de 2cm con respecto a una línea de referencia hecha al momento de agregar el volumen de agua inicial de 2L; este cálculo se realizó con aproximaciones del volumen de agua consumido, modelando la celda como un cilindro perfecto, sin embargo el consumo real es menor debido a que la celda es de menor volumen al calculado.



Figura 7.14: Ensamblaje de las celdas.

Otro aspecto importante de resaltar y que se observó durante la implementación y operación del proyecto fue la reproducción de *E. crassipes* en todas las celdas porque se tuvo que retirar material vegetal después de algunas semanas porque no cabía toda la masa vegetal en la celda y se empezaba a levantar, dejando descubiertas sus raíces y por consiguiente afectando la obtención de bioenergía. En la figura 7.13(a) se puede observar la distribución de las plantas en cada una de las celdas, y se puede determinar que la masa vegetal no cubre la superficie de las celdas porque se puede ver el límite del agua; en contraste, la figura 7.15 visualiza

la distribución de las plantas en las tres celdas, determinando que la superficie de la celda está copada por el Jacinto de agua. Ello, en general, permite evidenciar el crecimiento de *E. crassipes* en un cuerpo de agua y permite establecer que en la operación de la celdas se debe realizar un control del crecimiento de las plantas para mantener su funcionalidad. Este control debe realizarse retirando o cortando las hojas que presenten coloración anormal signo de clorosis y/o necrosis (también se observa en la figura 7.15).



Figura 7.15: Visualización de los Jacintos de agua al cabo de dos semanas.

7.2.4. Estrategias para maximizar la potencia

Cambios en los cables conductores

Como estrategia de aumento de potencia eléctrica, se implementó una configuración del cable diferente para evitar la corrosión galvánica y la forma fue longitudinal (figura 7.16(a)); sin embargo, después de varios días de operación, se decidió realizar cambios de nuevo debido a que los valores, tanto del voltaje de circuito abierto como de la corriente de

cortocircuito, eran muy pequeños ($\leq 50\text{mV}$ y $\leq 10\mu\text{A}$ respectivamente).

Por lo tanto, se implementó la configuración helicoidal del alambre de cobre para favorecer tanto el agarre como el aumento en la superficie de contacto entre el cable y el electrodo (figura 7.16(b)); sin embargo, esta configuración tampoco fue exitosa debido a que los valores de las variables eléctricas tampoco aumentaron.

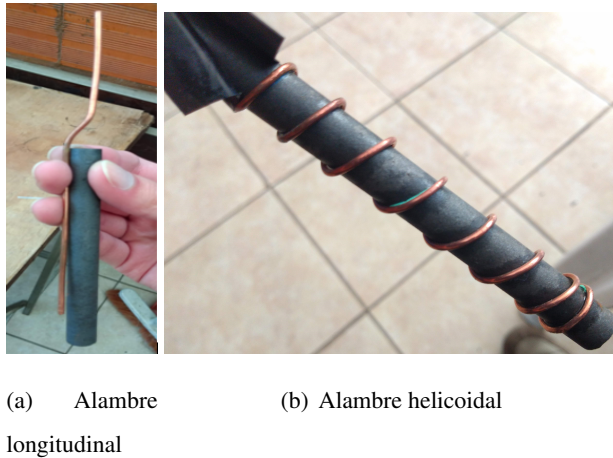


Figura 7.16: Cambios realizados a los cables conductores.

Una última configuración fue implementada que fueron los filamentos del cable de extremo de pinza pero, a pesar de que esta vez si aumentaron ambas variables eléctricas, el problema de la corrosión fue mucho mayor, logrando inclusive, degradar algunos de los filamentos y partirlos, perdiendo el contacto con el electrodos. Por último, es importante enfatizar en el problema principal a la hora de la implementación es la corrosión galvánica de los cables conductores, a lo cual se le puede atribuir los fallos en la obtención de bioenergía correctamente (Groen,

2019). Resulta que bajo todas las configuraciones de cables conductores establecidas se presentó este problema (en los extremos tipo pinza, en los alambres y en los filamentos). Los tiempos en los que fueron corroídos fueron diferentes pero el problema no se logró mitigar. La figura 7.17 ilustra la corrosión sucedida en los cables; se cree que la solución está en aislar el cable conductor del agua que normalmente entra en contacto con el electrodo, sobretodo el ánodo que es el que está completamente sumergido. Esta inferencia se prueba en la implementación del rediseño.

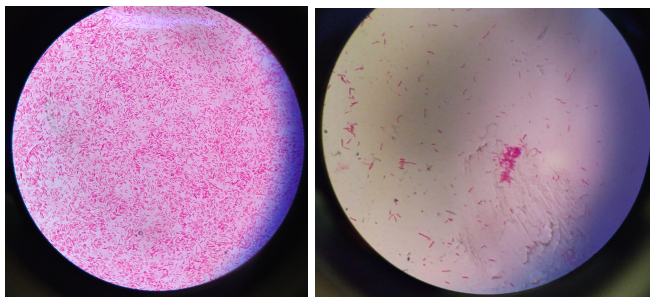


Figura 7.17: Efecto de la corrosión galvánica en los cables conductores en diferentes configuraciones de los cables.

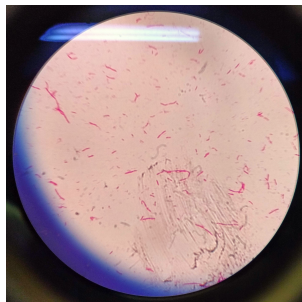
Aumento de *Pseudomonas* sp.

A continuación se puede observar a valoración cualitativa que se realizó como comprobación de la presencia de *Pseudomonas* sp. en las

diluciones y caldos para aumentar la población de esta bacteria en las celdas de combustible. Los resultados (figura 7.18) muestran que los microorganismos en proceso de crecimiento son gram-negativos, ya que se observan de color rosado en la tinción, y bacilos debido a su forma. Con esto se tienen características que coinciden con *Pseudomonas* sp. indicando que sí podría estar creciendo en los caldos LB que se observaron por tinción de Gram y aseguraría que el proceso de bioaumentación se llevó a cabo sin errores de contaminación.



(a) Muestra del agar de cetrimi- (b) Muestra de la dilución *Masivo*
de *I*



(c) Muestra de la dilución *Ma-*
sivo 2

Figura 7.18: Resultados de la tinción de Gram.

7.2.5. Determinación de la demanda de oxígeno

Se realizaron estas pruebas con el propósito de determinar la exigencia de oxígeno en las celdas de combustible, debido a que hay microorganismos y otros compuestos que exigen oxígeno para llevar a cabo sus procesos metabólicos o de oxido-reducción.

Demanda Química de Oxígeno

Los resultados de la prueba de DQO a las muestras de agua se pueden observar en el anexo H; sin embargo, y como el procedimiento se realizó para dos concentraciones diferentes, se tomó un dato de concentración para cada muestra, teniendo en cuenta que de los resultados obtenidos se descartaron valores de concentración negativos (pues no existen) y valores lejanos con respecto a los demás. La tabla 7.1 muestra los valores de concentración determinados para cada muestra.

Tabla 7.1: DQO de muestras de agua de las celdas.

Muestra	Concentración (ppm)
1 (PMFC)	45,1
2 (Inicial)	51,0
3 (Agua lluvia)	599,0

Para observar mejor la diferencia entre las muestras 1 y 2 con respecto a la muestra 3, la figura 7.19 muestra la concentración de cada una de las muestras. Ahora bien, es notoria la diferencia de la DQO, donde la muestra de agua lluvia tiene un valor aproximadamente doce veces

mayor que las otras dos muestras de agua.

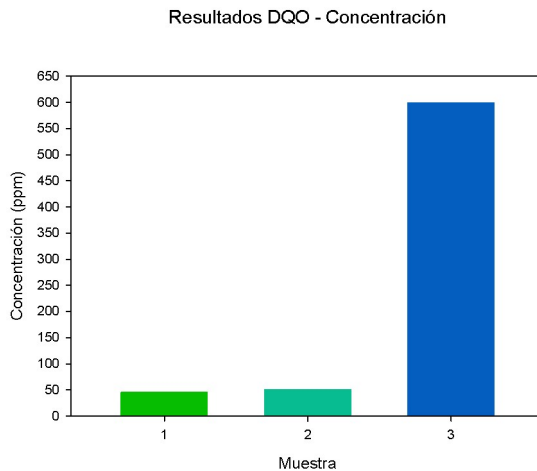


Figura 7.19: Demanda Química de Oxígeno en las muestras de agua.

Entonces, el nivel más alto en la muestra de agua lluvia se debe a que puede considerarse como un sistema abierto, en donde la disponibilidad de oxígeno es mayor. En cambio tanto las fuentes de agua 1 y 2, que son las muestras obtenidas de las PMFC y MFC respectivamente, son sistemas alimentados, en donde paulatinamente se agrega agua a las celdas, por lo que no interactúa la misma cantidad de microorganismos ni está presente la misma cantidad de nutrientes ni de O_2 disuelto. Además, la composición química del agua lluvia favorece la oxidación de compuestos inorgánicos debido a que están presentes óxidos de nitrógeno, además de otros compuestos como dióxido de carbono, iones Calcio y Aluminio, que promueven reacciones inorgánicas de oxidoreducción y por esto puede que el DQO de la muestra de agua lluvia sea mucho mayor (Vásquez,

Alfaro, Sibaja, Esquivel, y Valdés, 2012);(Ospina y Ramírez, 2014).

Demanda Biológica de Oxígeno

La siguiente figura ilustra los resultados de la prueba de DBO_5 realizada a las tres muestras:

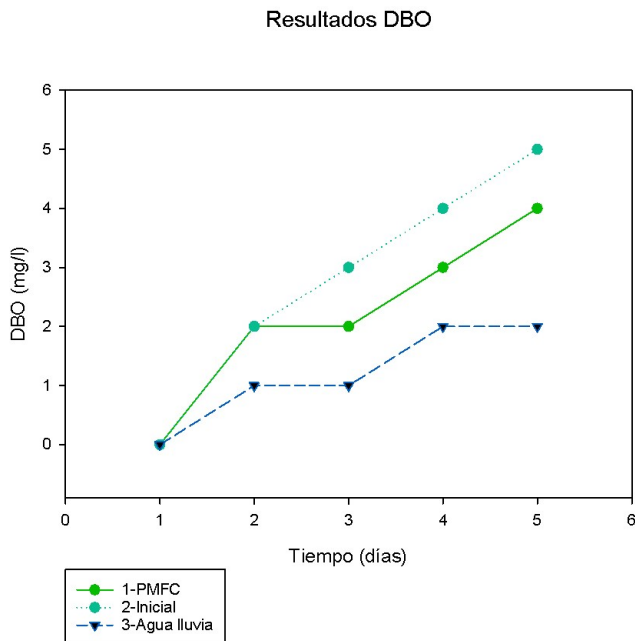


Figura 7.20: Demanda Biológica de Oxígeno en las muestras de agua.

Como se puede observar, esta vez es la muestra 3, la de agua lluvia, la que presenta la menor concentración. Teniendo en cuenta que el agua lluvia se contamina, sobre todo, con los microorganismos y partículas suspendidas en el aire (aunque después de una abundante lluvia tales aguas pueden estar libres de microorganismos), la demanda de oxígeno

es menor a las muestras de agua que entran en contacto con el suelo e interactúan con la microbiota del terreno (Vásquez y cols., 2012). Sin embargo, puede que la concentración sea mayor a la esperada (tendencia a cero) debido a que la muestra de agua lluvia no es una muestra de lluvia directa sino que es agua recolectada en un tanque y de ahí se tomó la muestra.

Por su parte, la muestra 2 (Inicial) presenta, a los 5 días la mayor concentración de oxígeno disuelto y esto tiene sentido, ya que se determina que la cantidad de oxígeno que consumen los microorganismos al proliferar en el agua residual es mayor que en las otras fuentes de agua pues la variabilidad de microorganismos es mucho mayor, mientras que la muestra 2 es un agua tratada, puesto que sufre un proceso de bioaumentación de *Pseudomonas* sp. Al sufrir este proceso de bioaumentación, la demanda aumenta, lo que conlleva a que el O_2 disminuya por el crecimiento de la población bacteriana. Cabe recordar que *Pseudomonas* sp. se caracteriza por ser anaerobia facultativa, es decir, que puede vivir en condiciones de oxígeno bajo pero no en completa ausencia de éste; es por ello que se aprecia una disminución de $1\text{mg } O_2/\text{l}$ en comparación a la muestra de agua inicial. El cambio es pequeño porque las demás comunidades bacterianas ya presentes pueden seguir en el agua pero en poblaciones más pequeñas, y entonces su impacto en la demanda bioquímica de oxígeno es menor. Además, se debe tener presente que las muestras obtenidas de las celdas (1-PMFC y 2-MFC) deben tener una mayor concentración, pues necesitan en alguna medida del oxígeno disuelto para llevar a cabo sus procesos metabólicos redox que es la base de

la producción bioeléctrica en las celdas de combustible (Helder, 2012).

A su vez se puede determinar que la demanda bioquímica de oxígeno es mayor para las muestras 1 y 2 porque la fuente de agua es la Laguna de Fúquene y según la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR), la laguna presenta problemas de vertimientos de las aguas residuales por parte de los diez municipios que vierten sus aguas a la laguna, el desarrollo de las actividades agrícolas en los páramos, la explotación minera en los municipios circundantes, entre otros (CAR, s.f.). Estos problemas generan como derivado un aumento de la carga orgánica en la laguna, lo que puede ser lo que hace que la DBO se mayor en estas dos muestras, mientras que el agua lluvia no posee una carga orgánica alta (Ospina y Ramírez, 2014).

Por último, es importante resaltar que las concentraciones, tanto para la DQO como la DBO fueron relativamente pequeñas en comparación a niveles de aguas residuales, lo que indica que las aguas no se categorizan como aguas contaminadas; además, los niveles son bajos porque solo se tiene gravilla y no se tiene suelo dentro de los sistemas alimentados, es decir que no hay un aporte bioquímico porque la gravilla solo se agrega al sistema para mejorar la retención de agua y no aporta bioquímicamente a las celdas de combustible.

7.3. Operación de la celda

7.3.1. PMFC bajo condiciones iniciales

Los primeros resultados obtenidos, del voltaje de circuito abierto (Voc) y de la corriente de cortocircuito (Isc), de las PMFC se ilustran en la figura 7.21. Como se puede observar, los valores tanto de corriente como de voltaje son muy bajos debido a que la corriente de cortocircuito (Isc) no supera los $10\mu\text{A}$ y el voltaje de circuito abierto (Voc) los 20mV . Los niveles tan bajos se debieron a problemas de corrosión presentados en los cables conectores y a que la superficie de contacto entre el electrodo y el cable era muy pequeña por su orientación longitudinal. Debido a estos resultados fue que se realizó el cambio en la configuración de los cables conectores.

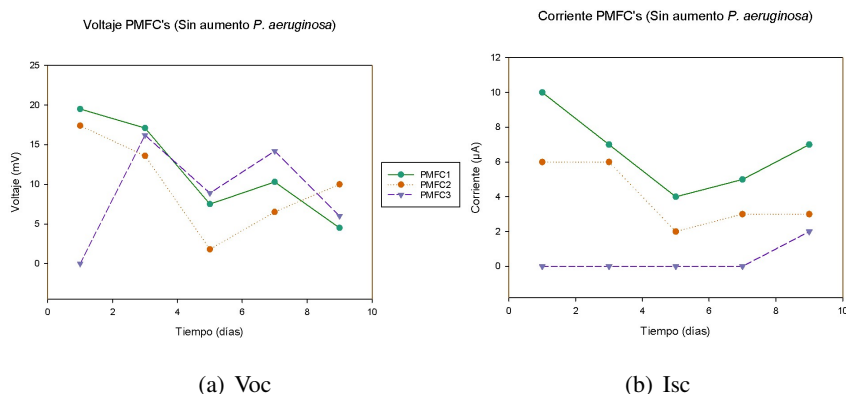


Figura 7.21: Valores obtenidos de las PMFC en los primeros días según el cuarto diseño implementado.

7.3.2. MFC bajo condiciones iniciales

Por su parte, las MFC presentaron valores con tendencia a cero tanto para el Voc como para la Isc. En la figura 7.22 se puede observar que, exceptuando un pico para la MFC 1 y 2 días en que los valores fueron diferentes de cero para La MFC 2, la producción de bioelectricidad es prácticamente nula. Como se mencionó anteriormente, estos resultados llevaron al cambio en los cables conductores y a las demás estrategias para maximizar la potencia generada. Sin embargo, lo que se puede establecer es una comparación entre las tres PMFC y las tres MFC, puesto que la generación de corriente, por lo menos en dos de las tres PMFC fue hasta dos veces mayor que las corrientes más altas de las MFC y el voltaje, por su parte, también fue mayor en las PMFC con valores diferentes a cero en todas sus celdas; todo ello puede indicar una relación directa entre la presencia de la planta en el sistema y cómo las PMFC puede ser más eficientes que una MFC convencional.

7.3.3. PMFC bajo estrategias de maximización de potencia

En la figura 7.23 se puede observar el cambio tanto en el voltaje como la corriente después de haber implementado las estrategias para maximizar la potencia eléctrica. La línea roja ubicada en el día 14 indica el momento en cual se hizo la bioaumentación de *Pseudomonas* sp. en las PMFC. Entonces, se puede determinar que el proceso de bioaumentación si ha contribuido en el aumento de la generación de bioelectricidad, teniendo en cuenta que los sistemas se dejaron una semana en periodo

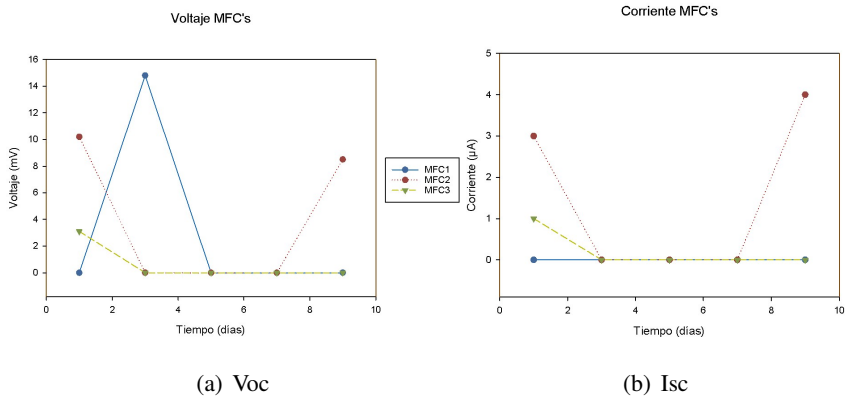


Figura 7.22: Valores obtenidos de las MFC en los primeros días según el cuarto diseño implementado.

de establecimiento luego de haber agregado estas bacterias.

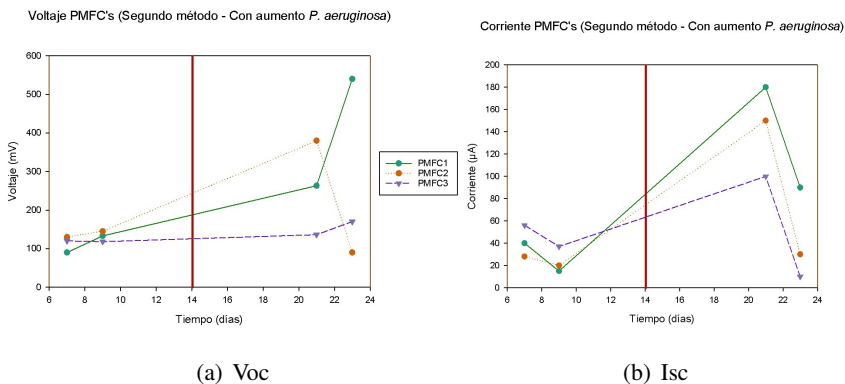


Figura 7.23: Valores obtenidos de las PMFC después de aumentar la población de *P. aeruginosa* según el cuarto diseño implementado.

Analizando la información, se evidenció que las corrientes registradas en los últimos días de operación fueron las más altas registradas durante todo el proyecto; sin embargo, se revisó la toma de datos y hubo un

error en la misma pues al medir con el multímetro, V_{oc} e I_{sc} , los valores tomados fueron los que inmediatamente se mostraban en la pantalla del multímetro y esos valores no necesariamente son los correctos; es por ello que, para las demás mediciones, se dejó un periodo de 10 segundos donde el dato no debía cambiar para ser registrado en las tablas de datos.

Rediseño de la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética

8.1. Metodología aplicada

8.1.1. Rediseño - Celda final

Debido a que los valores, tanto de voltaje como de corriente, que estaban dando las celdas eran muy bajos en comparación con los trabajos investigados y debido también a que algunas de las variables de diseño (como la distancia entre electrodos) no había sido especificada, se procedió a rediseñar las celdas con el fin de aumentar dichos valores y de especificar variables de diseño inicialmente contempladas.

Por tanto, se rediseñó la celda internamente, es decir que las dimensiones y la forma de la celda se mantuvieron (15cm de diámetro y 17cm

de altura, forma tubular), pero se agregaron nuevos elementos al interior de la celda para favorecer la producción bioenergética. Lo primero a diseñar fue una estructura que permitiese mantener fija la distancia entre los electrodos, pues anteriormente no había nada (además de cinta) que tratase de fijar la posición de los electrodos y en términos prácticos esto era un problema, sobretodo para la estabilidad de los datos de voltaje y corriente de salida del sistema.

Además, teniendo en cuenta el estudio de (Helder, 2012), se decidió implementar una membrana de intercambio iónico con el propósito de aumentar los valores de las variables eléctricas en cuestión. La no adición de este elemento al inicio del proyecto fue porque tanto no se conocían las magnitudes del voltaje ni de la corriente de salida del sistema, como por el factor económico; ahora que sí se tiene conocimiento de las magnitudes eléctricas y luego de haber diseñado una solución alternativa que asemeja una membrana de intercambio iónico, la adición de la membrana permitió establecer la mejora en la eficiencia de las celdas, si aplica.

De esta manera, y teniendo en cuenta la adición de la membrana al sistema, se procedió a diseñar una clase de soporte que permitiese mantener fijos tanto los electrodos como la membrana, y así poder establecer con medidas fijas la distancia entre ellos, ya que este es un parámetro importante para obtener mejores resultados según (Chiranjeevi y cols., 2012).

Entonces, para rediseñar la celda, lo primero fue realizar la estructura de soporte para los electrodos y la membrana, para ello se tuvo en cuenta

las dimensiones de la celda y la posición de los electrodos, puesto que no se podía ubicar ni muy hacia el límite inferior ni tampoco muy cerca del límite superior porque no llegaba a sostener alguno de los dos. Es por ello que se planificó su ubicación a 8cm del fondo de la celda, que está cerca a la mitad de la altura de la celda. Luego, se ubicaron espacialmente los componentes (electrodos y membrana) y se diseñó el compartimento.

8.1.2. Ensamblaje según rediseño

El ensamblaje del nuevo, y último diseño, básicamente consistió en la adición de un compartimento interno o estructura de soporte para ubicar fijamente los componentes del sistema, es decir, los electrodos y la membrana de intercambio iónico. Con respecto a la membrana, no se logró implementar una verdadera membrana de intercambio iónico debido al factor económico; sin embargo, se propuso una solución desde la implementación de una resina de intercambio iónico. Entonces para hacer la membrana se utilizó la resina de intercambio iónico, Amberlite IRA120 Na, de Verlek y tela de malla fina llamada etamina. Se diseñó una especie de bolsillo a partir de la etamina con las medidas de la sección transversal de la celda y se hizo la bolsa.

Luego, se agregaron 150g aproximadamente de resina y se selló la bolsa con hilo para así poderla introducir en el espacio especificado en el compartimento interno. Se presentó un problema debido a la acumulación de resina hacia el fondo de la bolsa; por lo tanto se optó por utilizar ganchos negros para el cabello para generar secciones en la bolsa y por lo

cual se ubicaron 8 ganchos, dos por sección, obteniendo una bolsa firme de 4 secciones de resina.

Por otra parte, se hicieron de nuevo cambios en los cables conductores debido a que la última configuración implementada no fue exitosa. Utilizando los cables con extremos de pinza caimán, se cortó un extremo y se dejaron 5cm de filamentos de cobre y se fijaron a los electrodos usando adhesivo instantáneo universal (Super Bonder), teniendo precaución que los filamentos sí hicieran contacto directo con la superficie del electrodo (debido a que el pegante es aislante); el uso del pegante también se hizo con el objetivo de mitigar el proceso de corrosión galvánica en los cables conductores.

Por último, y para contrastar los cambios del aumento de *Pseudomonas* sp. en las celdas, se cambiaron las MFC por PMFC sin aumento bacteriano, simulando las PMFC en condiciones iniciales. Se analizaron los resultados.

8.1.3. Evaluación según rediseño

Para el cálculo de la máxima transferencia de potencia y la densidad de potencia se midieron los valores de voltaje y corriente con el multímetro y luego se calculó la resistencia de Thévenin (R_{TH}) por medio de Ley de Ohm, para después aproximar el valor de resistencia a valores comerciales, que sumaran dicho valor. Teniendo (R_{TH}), se conectó entre los cables conectores de la celda y con el multímetro se midió el voltaje y la corriente sobre la resistencia; al obtener dichos valores, se retiró la re-

sistencia y se volvieron a medir los valores de voltaje y corriente de la celda. En general, se llevó a cabo una medición diaria de la tensión de circuito abierto y la corriente de cortocircuito en un ciclo de operación de 15 días; sin embargo, este procedimiento referente a la resistencia de Thévenin se realizó cada tres días y por duplicado, para un total de 5 días de medición con 2 datos obtenidos por día.

8.1.4. Análisis estadístico

Los resultados, de voltaje y corriente sobre la resistencia de Thévenin, de la operación del rediseño de la celda fueron analizados a través de un análisis de varianza ANOVA, un método estadístico para correlacionar los resultados, teniendo en cuenta un $p < 0,05$, es decir que valores de p inferiores a dicho valor indican una mayor variabilidad de los datos. También se calculó la incertidumbre teniendo en cuenta el promedio de voltaje de circuito abierto y corriente de cortocircuito generado durante el periodo de operación.

8.2. Resultados y discusión

8.2.1. Rediseño - Celda final

Luego de rediseñar la celda, el resultado del diseño del compartimiento interno de la celda se aprecia en la figura 8.1, un soporte en acrílico de 3mm de grosor; los planos de diseño se pueden observar en el anexo C. Por último, el ensamblaje del soporte con la celda actual da

como resultado el diseño final de la celda, el cual se muestra en la figura 8.2, donde se pueden apreciar todos los componentes del sistema.

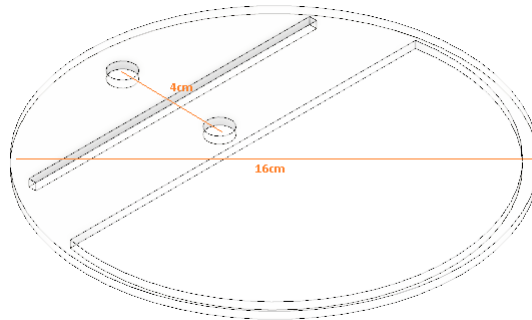


Figura 8.1: Diseño del compartimento interno realizado en Fusion360.

Este diseño final presenta varias ventajas con respecto al diseño inicial implementado: permite identificar las distancias entre electrodos, lo que es muy importante en términos de estabilidad eléctrica; además, permite adicionar la solución alternativa de la membrana (resina de intercambio iónico) de forma sencilla, siguiendo la teoría que indica el posicionamiento de la misma (Gowtham y Shunmug, 2015). Los planos de diseño de la celda final se pueden encontrar en el anexo D Con este diseño se espera mejorar aún más la densidad de potencia de las celdas para asegurar una mayor eficiencia bioenergética.

8.2.2. Ensamblaje según rediseño

El último cambio realizado a los cables conductores, como se indicó anteriormente, fue implementar un aislamiento de los filamentos para

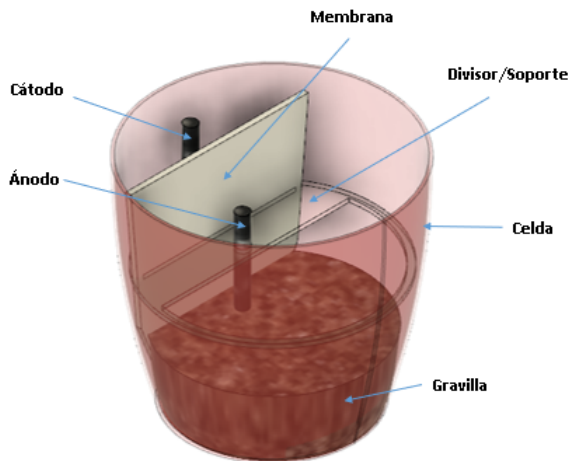


Figura 8.2: Diseño final de la PMFC realizado en Fusion360.

que el agua no logre corroerlos; al usar el adhesivo instantáneo universal se buscó ese aislamiento y se cortó menos filamento para que el margen de error (espacios no aislados con el adhesivo) fuera menor. Por otra parte, la adición del compartimento interno fue de gran utilidad para el posicionamiento fijo de los electrodos y la inclusión de la membrana. En la siguiente figura se puede observar la base de la celda con todo ensamblado, lista para que la gravilla, las plantas y el agua puedan ser agregados.

Ahora bien, las celdas implementadas se pueden observar en la figura 8.4, donde se puede apreciar que se cambiaron las MFC por PMFC con el objetivo de comparar resultados del aumento de *P. aeruginosa*, teniendo un total de seis celdas.

Esta vez, se realizó una medición de la masa del Jacinto de agua para



Figura 8.3: Implementación del compartimento interno.



Figura 8.4: Implementación de rediseño en todas las celdas (según diseño final) y adición de *E. crassipes* a las MFC

cada celda para asegurar la mayor igualdad de condiciones posible, teniendo que a cada celda se añadieron 200g aproximadamente del Jacinto para un peso total de las celdas implementadas de 3kg aprox. cada una.

8.2.3. PMFC bajo condiciones de rediseño

Voltaje y corriente

La figura 8.5 muestra los resultados de la medición del voltaje de circuito abierto de cada una de las PMFC (1-6) en un tiempo de operación de 15 días. Como se puede observar, la PMFC 1 es la que presenta la mayor magnitud de voltaje en casi todo el periodo de operación. Por otra parte, las celdas 2 y 3, a pesar de tener agua con bioaumentación de *Pseudomonas* sp., no exhibieron altos valores de voltaje (a 200mV); en cuanto a las PMFC sin proceso de bioaumentación, las celdas 4 y 6 no presentaron voltajes significativos (a 200mV) con varios días en donde el voltaje fue igual a 0mV. Por último, y a pesar de no haber pasado por el proceso de bioaumentación, la PMFC 5 resultó generando un voltaje de hasta 800mV, superando en un día a la PMFC 1, la de mejor rendimiento. En general, de las seis celdas implementadas y operadas, solamente las celdas 1 y 5 presentan valores de voltaje significativos para la generación de energía, debido a que al contrastarse con otros estudios, como el de (Mohan y cols., 2011) que utiliza la misma especie vegetal, se puede determinar que el voltaje, sobretodo de la primera celda, logra sobrepasar los límites obtenidos por (Mohan y cols., 2011) que rondan los 800mV, ya que la PMFC 1 tuvo varios días en donde su voltaje superó los 820mV,

indicando así que en términos de voltaje la celda es eficiente y puede llegar a alimentar eléctricamente, por ejemplo, un LED; sin embargo para que esto suceda se debe realizar un circuito de acondicionamiento por lo que no se realizó la confirmación de la aplicabilidad de la celda de combustible.

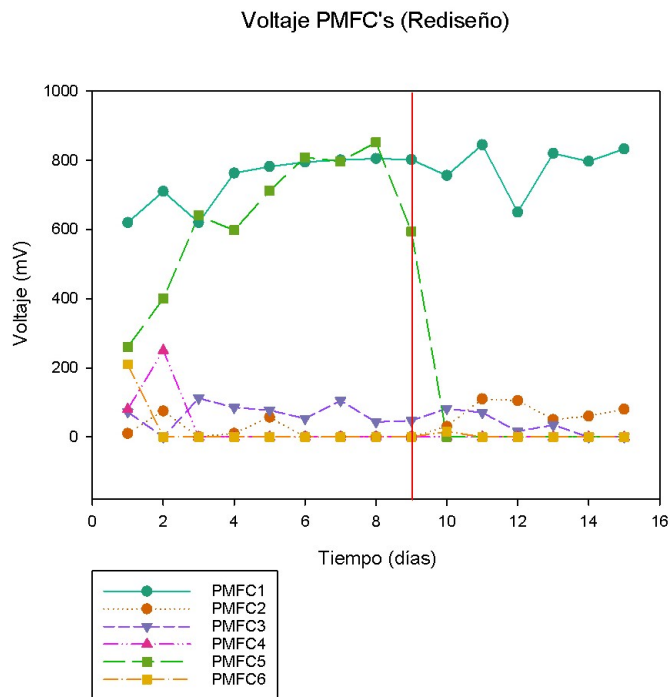


Figura 8.5: Voc final de las PMFC en un período de 15 días

Sin embargo, la corriente de cortocircuito obtenida durante el periodo de operación, por el contrario, desfavorece la aplicabilidad de las celdas. En la figura 8.6 se puede observar la corriente de cortocircuito obtenida, en donde se puede apreciar que sólo la primera celda es capaz

de generar corriente sin interrupciones, pues nunca llegó a ser $0\mu\text{A}$. Por el contrario, todas las demás celdas presentan días en los que la corriente es nula, a pesar de que celdas como la 3 o la 5, parecen tener intervalos de generación de corriente a día de por medio. Si se comparan los resultados de corriente obtenidos como los del estudio de (Mohan y cols., 2011), se puede determinar que la corriente, incluso de la PMFC 1, es muy pequeña ya que está en el orden de los microamperios, mientras que (Mohan y cols., 2011) logra corrientes en el orden de los miliamperios.

Por otra parte, se revisó la viabilidad de los electrodos de grafito y si fueron elegidos correctamente sobre otros materiales; un estudio realizado por (Chu y Dayou, 2013) indica los resultados de voltaje usando diferentes pares de electrodos y con diferentes plantas pero usando electrodos metálicos. Resulta que los valores de voltaje máximos alcanzados en dicho estudio rondan los 800mV (a excepción de un par Cu-Zn que alcanza 1V) y el hecho de que los electrodos de grafito hayan permitido obtener valores de hasta 820mV permite establecer su viabilidad para ser implementadas en las PMFC, además de contar con una gran ventaja con respecto a los metálicos que es la no toxicidad para la planta.

A su vez, como lo indica (Helder, 2012) en su estudio, la celda pasa por un periodo de establecimiento donde se tiende a estabilizar el voltaje a la salida del sistema. Según se observa en la figura 8.5, se puede inferir que el tiempo aproximado de establecimiento de la celda en cuestión es de 4 días.

En estas gráficas, la línea roja marcada indica que en el día 9 se tuvo que realizar un mantenimiento no previsto a las celdas debido a que

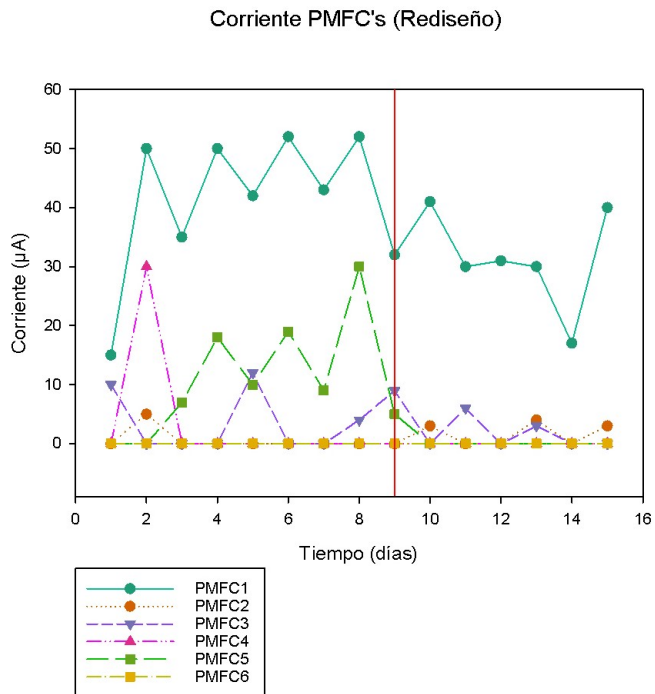


Figura 8.6: Isc final de las PMFC en un período de 15 días

algunas de ellas presentaron signos de corrosión inesperados en algunos de los cables, y por lo cual se reforzó el aislamiento con pegante y se recortaron secciones corroídas. Ahora bien, esto afectó directamente a la PMFC 5, ya que como se puede observar en las gráficas, luego de realizar dicho mantenimiento los valores tanto del voltaje como de corriente tendieron a cero; esto puede indicar que hubo algún error humano al realizar el mantenimiento de esta celda. En contraste, celdas como la PMFC 2 evidenciaron resultados positivos después de realizado el mantenimiento. Se puede inferir que la disminución en las variables eléctricas para la PMFC 1 también fue a causa del mantenimiento y, enfatizando en que se definió un periodo de establecimiento de 4 días, cumple que del día 10 al 14, la celda está volviendo a establecerse y ya en el día 15, tanto el voltaje como la corriente empezaron a aumentar.

Potencia y densidad de potencia

Los resultados, tanto de la potencia como de la densidad de potencia, son realizados solamente para la PMFC 1 que fue la que demostró la mayor generación de voltaje y corriente durante el periodo de operación. Por lo tanto, la figura 8.7 ilustra el resultado de dichas variables, teniendo en cuenta la medición por intervalos de 3 días para un total de 5 puntos en las gráficas.

Ahora bien, al comparar este resultado con el estudio de revisión de PMFC's de (Nitorisavut y Regmi, 2017), se determinó que tanto la potencia como la densidad de potencia son muy bajas y no favorecen la

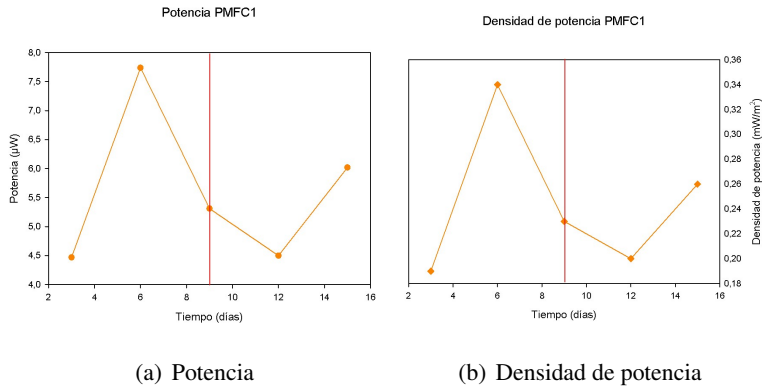


Figura 8.7: Valores obtenidos de la PMFC1 en 15 días de operación.

aplicabilidad de la celda, puesto que la corriente es demasiado pequeña ($50\mu\text{A}$ aprox.) y como la potencia y la densidad de potencia dependen del valor de la corriente asociada a la resistencia de Thévenin (R_{TH}), no se logra alcanzar 1mW/m^2 en todo el periodo de operación y no llega a sobrepasar ninguna de las densidades de potencia presentadas en el estudio de (Nitisoravut y Regmi, 2017). Por otra parte, (Mohan y cols., 2011) encontró que la eficacia de la potencia de salida dependía de la carga orgánica del sustrato y del tipo de agua residual utilizada; por lo tanto, el hecho de que el sustrato no contenga una carga orgánica favorable, pues es solo gravilla, puede resultar en la poca potencia generada (sobre todo la corriente) en las PMFC implementadas.

En general, se puede establecer que la densidad de potencia aún no era suficiente para decir que la celda era relativamente eficiente, pues al compararla con otras investigaciones, la densidad de potencia más alta calculada (teniendo en cuenta la máxima transferencia de potencia) fue

de $0,34\text{mW}/^2$, mucho menor a muchas de las reportadas en la literatura como las de (Wetser y cols., 2015), (Mohan y cols., 2011), (Sophia y Sreeja, 2017), (Chiranjeevi y cols., 2012), entre otros. Sin embargo, en muchos de los estudios mencionados no se hace claridad en que si la densidad de potencia se calculó a partir de la máxima transferencia de potencia, es decir, que parte de los valores de voltaje y corriente asociados a R_{TH} y no son los valores obtenidos por la mera medición de variables. Por lo tanto, los valores de densidad de potencia podrían llegar a ser menores de los presentados, ya que por ejemplo, (Mohan y cols., 2011) mide la corriente sobre una resistencia de 100Ω pero no definió esa resistencia como R_{TH} y por tanto, no se podría decir que es la máxima transferencia de potencia y no sería la densidad de potencia más adecuada de registrar.

Por último, los resultados obtenidos se compararon con la figura 4.9 y con la ecuación 4.6 donde se presentan las posibles resistencias de la celda y se calcula la eficiencia en cuanto a la recuperación de energía de las células microbianas electroquímicamente activas, respectivamente.

Con respecto a la figura 4.9, se determinó que el diseño no resultó ser eficiente, teniendo en cuenta que la densidad de corriente lograda fue de $2,3\text{mA}/\text{m}^2$, y la densidad de potencia de $0,34\text{mW}/\text{m}^2$, obteniendo una resistencia interna de más de $5\Omega\text{m}^2$ (alrededor de $60\Omega\text{m}^2$ aproximadamente). A su vez, se calculó la eficiencia con la respectiva ecuación y se obtuvo lo siguiente:

$$Er_{PMFC} = \frac{0,34E - 3W/m^2 \times 0,78E - 3m^2}{2,2E - 3m^2 \times 170W(m^2 \times 0,032 \times 0,2 \times 0,3)} = 0,036 \% \quad (8.1)$$

El resultado indica que la recuperación de energía para esta celda es de aproximadamente un tercio de la recuperación teórica presentada (Deng y cols., 2012). Por lo tanto, se sugiere que se debería mejorar en la captación de electrones, así como la conducción de los mismos.

8.2.4. Análisis estadístico

El Análisis de Varianza de un solo factor para la operación de la PMFC 1 dio como resultado que P fue mayor a 0,05 para ambas variables, el voltaje sobre R_{TH} con un $P=0,07$ y la corriente sobre R_{TH} con un $P=0,29$. Estos valores indican que se acepta la hipótesis de igualdad de medias y, por lo tanto, se puede decir que las medias de los datos son iguales o estrechamente similares entre sí (de Barcelona, s.f.). Para efectos del proyecto, estos resultados son muy positivos, ya que permiten determinar la estabilidad en la generación de bioenergía en la PMFC 1, indicando que tanto la corriente como el voltaje tienden a ser estables a la salida del sistema, con lo que se justifica una buena calidad.

Por su parte, la incertidumbre calculada de los valores de V_{oc} e I_{sc} de la primera celda durante el tiempo de operación resultó en un voltaje promedio de $760mV \pm 75mV$ y una corriente promedio de $37\mu A \pm 12\mu A$, lo que indica que el voltaje puede variar en un rango aproximado del 10 % y la corriente en un 30 %. Todo ello permite establecer que los

rangos, en especial el del voltaje, no son muy altos, con lo cual se puede determinar que la PMFC 1 tiene un voltaje relativamente estable a la salida del sistema.

Conclusiones

A partir de la interacción de un cultivo que contenga bacterias electroquímicamente activas, como la *Pseudomonas* sp., y una planta, como el jacinto de agua (*E. crassipes*), se obtuvo electricidad. Esto es posible lograrlo a través de la implementación de una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética.

La producción de bioelectricidad en una PMFC es mucho mayor a la generada en una MFC, teniendo en cuenta que no hubo un suministro externo de alimento para las MFC; como se observa en los resultados, las MFC no generan voltaje ni corriente si no tienen un constante suministro alimenticio, mientras que el Jacinto de agua permite, en las PMFC, que los nutrientes se provean de forma natural y exista la generación de bioenergía.

La solución alternativa a la membrana de intercambio iónico resultó ser favorable para la generación de bioelectricidad en una Celda de Combustible Microbiana Fotosintética. Esta solución alternativa consistió en usar una resina de intercambio iónico dentro de un bolsillo en tela de

etamina.

Los electrodos de grafito y el Jacinto de agua, mostraron su efectividad para ser usados como elementos de un sistema PMFC, con los cuales se logró voltajes mayores a los 800mV. La configuración de los electrodos, es decir, que el ánodo estuviera sumergido (condición anaeróbica) y que el cátodo estuviera semisumergido (condición aeróbica), mejoró la obtención de bioelectricidad.

La presencia y la bioaumentación de *Pseudomonas* sp., una bacteria electrogénica, favoreció la generación de bioelectricidad en la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética a los 4 días del ciclo de operación final de la celda.

Por último, la metodología CDIO (Concepción, Diseño, Implementación y Operación) mostró su utilidad en el desarrollo de este proyecto de grado, ya que siguiéndola se tuvo un proceso claro, donde se tenía conciencia de qué debía ser modificado para obtener los resultados esperados de la Celda de Combustible Microbiana Fotosintética.

Recomendaciones

Para el proyecto en específico

Se recomienda usar un electrodo de referencia como uno de Ag/AgCl para verificar que los resultados obtenidos sean estrictamente de los procesos metabólicos de oxido-reducción bacteriana.

Se recomienda usar una membrana de intercambio iónico para establecer la comparación entre ésta y la solución alternativa con resina de intercambio iónico implementada.

Se recomienda verificar la presencia de *Pseudomonas* sp., en lo posible *P. aeruginosa* por medio de una técnica de biología molecular como una PCR, y así asegurar la presencia de bacterias electroquímicamente activas.

Se recomienda cambiar los cables conductores de electricidad y su conexión con los electrodos, debido a que se considera que la corrosión galvánica fue el inconveniente de mayor impacto que se presentó a lo largo de la operación del proyecto.

Se recomienda incluir lodo, preferiblemente de la laguna de Fúquene para buscar mantener las condiciones por las cuales el jacinto de agua ya estaba acostumbrado; sin embargo, se recomienda también explorar otras posibilidades de sustrato como composts (Moqsud y cols., 2015).

Para proyectos futuros en PMFC's

Se recomienda realizar nuevos diseños, probando con otras plantas que presenten características similares a *E. crassipes* y que las conviertan en candidatas para implementación en este tipo de celdas, enfatizando en pastos y especies invasoras (Nitisoravut y Regmi, 2017).

Se recomienda la obtención de *Geobacter spp.* para implementarla en las celdas a diseñar, y comparar los resultados.

Se recomienda establecer otras relaciones importantes en el tema como la posible relación entre la capacidad fotosintética de la planta a lo largo del día y la producción de bioenergía; esto puede realizarse, por ejemplo, mediante un circuito de lectura de luminosidad en el ambiente para cada celda.

Se recomienda implementar un circuito de monitoreo de variables eléctricas (voltaje y corriente) y de vitalidad de la planta para las PMFC; un ejemplo puede ser el circuito implementado en el estudio de (Brunelli, Tosato, y Rossi, 2016).

Referencias

Referencias

- BD, B. D. (2013). *Bd pseudosel agar (cetrimide agar)*.
<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8794>. (Accedido
05-02-2019)
- Bensaid, S., Ruggeri, B., y Saracco, G. (2015). Development of a photosynthetic microbial electrochemical cell (pmec) reactor coupled with dark fermentation of organic wastes: Medium term perspectives. *Energies*, 8, 399–429. doi: 10.3390/en8010399
- Bond, D., y Derek, L. (2003). Electricity production by *geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(3), 1548–1555. doi: 10.1128/AEM.69.3.1548-1555.2003
- Brunelli, D., Tosato, P., y Rossi, M. (2016). Flora health wireless monitoring with plant-microbial fuel cell. *Procedia Engineering*, 168, 1646–1650. doi: <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.11.481>
- Calderón, M., y Mesa, L. (2004). Principios de funcionamiento y cons-

trucción de una celda de combustible de ácido fosfórico (pafc). *Scientia et Technica*, 25.

CAR. (s.f.). *Problemática de la laguna de fúquene*.
<https://www.car.gov.co/fuquene/vercontenido/4>. (Accedido 20-04-2019)

Carrión, C., Ponce de León, C., Cram, S., Sommer, I., Hernández, M., y Vanegas, C. (2012). Aprovechamiento potencial del lirio acuático (*eichhornia crassipes*). *Agrociencia*, 46(6), 609–620.

Chamoussis, R. (s.f.). *Hydrogen: Fuel of the future*.
<https://www.csustan.edu/sites/default/files/honors/documents/journals/Stirrings/Chamoussis.pdf>. (Accedido 15-04-2018)

Chiranjeevi, P., Mohanakrishna, G., y Mohan, S. (2012). Rhizosphere mediated electrogenesis with the function of anode placement. *Bioresource Technology*, 124, 364–370. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.020>

Chu, Y., y Dayou, J. (2013). A method to harvest electrical energy from living plants. *Journal of Science and Technology*, 5(1). Descargado de <http://penerbit.uthm.edu.my/ojs/index.php/JST/article/view/563/463>

de Barcelona, U. (s.f.). *Anova de un factor*.
http://stel.ub.edu/sites/default/files/agenda/documents/14anova1_sps.pdf. (Accedido 30-04-2019)

Demirbas, A., y Demirbas, I. (2007). Importance of rural bioenergy for developing countries. *Energy Con-*

- version and Management*, 48(8), 2386–2398. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2007.03.005>
- Deng, H., Chen, Z., y Zhao, F. (2012). Energy from plants and micro-organisms: Progress in plant–microbial fuel cells. *ChemSusChem*, 5(6), 1006–1011. doi: 10.1002/cssc.201100257
- Difco. (2009). *Plate count agar*. [http://f-soria.es/Inform_soria/Difco %20Fichas %20tecnicas/PLA CAS %20DIFCO %20Y %20CROMOGENICAS %20BD/FT %20 PLATE %20COUNT %20AGAR.pdf](http://f-soria.es/Inform_soria/Difco%20Fichas%20tecnicas/PLA CAS%20DIFCO%20Y%20CROMOGENICAS%20BD/FT%20PLATE%20COUNT%20AGAR.pdf). (Accedido 05–02–2019)
- Exchange, B. S. (s.f.). *What bacteria shed harvestable energy from root zone organic matter?* <https://biology.stackexchange.com/questions/35140/what-bacteria-shed-harvestable-energy-from-root-zone-organic-matter>. (Accedido 02–03–2018)
- Flood, P., Harbinson, J., y Aarts, M. (2011). Natural genetic variation in plant photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 16(6), 327–335. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.02.005>
- González, N., y González, A. (2015). *Análisis multitemporal del espejo de agua en la laguna de fúquene para el periodo de 1985 a 2015* (Tesis Doctoral no publicada). Facultad de ciencias e ingeniería, Universidad de manizales.
- Gowtham, R., y Shunmug, K. (2015). Generating current from plants plant-e technology. *International Journal of Research In Advanced Engineering Technologies (IJRAET)*, 3(10). doi: http://www.irdindia.in/journal_ijraet/pdf/vol3_iss10/1.pdf

- Groen, D. (2019). *Comunicación personal con experto técnico (plant-e)*.
- Guan, C., Tseng, Y., Tsang, D., Hu, A., y Yu, C. (2019). Wetland plant microbial fuel cells for remediation of hexavalent chromium contaminated soils and electricity production. *Journal of Hazardous Materials*, 365, 137–145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.086>
- Helder, M. (2012). *Design criteria for the Plant-Microbial Fuel Cell: Electricity generation with living plants – from lab to application*.
- King, A., y Phillips, I. (1978). *The identification of Pseudomonads and related bacteria in a clinical laboratory*. <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/11/2/medmicro-11-2-165.pdf?expires=1555821291&id=id&accname=guest&checksum=668A86F6E8439820A5D7CB814021D4C6>. (Accedido 08–11–2018)
- Kumar, J., Vishnuprasad, C., y Das, G. (2018). *Microbial biotechnology volume 1. applications in agriculture and environment*.
- Ledesma, C., Bonansea, M., Rodriguez, C., y Sánchez, A. (2013). Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse río tercero, Córdoba (Argentina). *Revista Ciência Agronômica*, 44(3), 419–425.
- Lu, L., Xing, D., y Ren, Z. (2015). Microbial community structure accompanied with electricity production in a constructed wetland plant microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 195, 115–121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.098>

- López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S., Cerón, G., y Franco, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en discapacidad*, 3(1), 10–18.
- Martín, M., y Rivilla, R. (2012). Colonización de la rizósfera por pseudomonas. *Agrociencia*, 46(6), 609–620. doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.03.016
- Merck. (s.f.). *Test en cubetas dco*. http://www.merckmillipore.com/CO/es/product/COD-Cell-Test_MDA-CHEM-114541. (Accedido 12-04-2019)
- Mohan, S., Mohanakrishna, G., y Chiranjeevi, P. (2011). Sustainable power generation from floating macrophytes based ecological micro-environment through embedded fuel cells along with simultaneous wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 102, 7036–7042. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.033>
- Moqsud, M., Yoshitake, J., Bushra, Q., Hyodo, M., Omine, K., y Strik, D. (2015). Compost in plant microbial fuel cell for bio-electricity generation. *Waste Management*, 36, 63–69. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.11.004>
- Narváez, P. (2010). Fuentes convencionales y no convencionales de energía: estado actual y perspectivas. *Ingeniería e investigación*, 30(3), 165–173.
- Nitisoravut, R., y Regmi, R. (2017). Plant microbial fuel cells: A promising biosystems engineering. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 81–89. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.064>

- Ospina, O., y Ramírez, H. (2014). Evaluación de la calidad del agua de lluvia para su aprovechamiento y uso doméstico en ibagué, tolima, colombia. *Ingeniería solidaria*, 10(17), 125–138. doi: <http://dx.doi.org/10.16925/in.v9i17.812>
- OXOID. (s.f.). *Identificación bioquímica – rapid one*. [http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/R8311006 %20RapID %20ONE %20System %20OXOID.pdf](http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/R8311006%20RapID%20ONE%20System%20OXOID.pdf). (Accedido 05–11–2018)
- Popp, J., Lakner, Z., Harangi-Rákosa, M., y Fáric, M. (2014). The effect of bioenergy expansion: Food, energy, and environment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 559–578. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.056>
- Pérez, E. (2009). Fotosíntesis: Aspectos básicos. *Reduca (Biología)*. *Serie Fisiología Vegetal.*, 2(3), 1–47.
- Rabaey, K., y Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in biotechnology*, 23(6), 291–298. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.04.008>
- Raghavulu, S., Sarma, P., y Mohan, S. (2012). Comparative bioelectrochemical analysis of pseudomonas aeruginosa and escherichia coli with anaerobic consortia as anodic biocatalyst for biofuel cell application. *Journal of Applied Microbiology*, 110, 666–674. doi: [doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04916.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04916.x)
- Revelo, D., Hurtado, N., y Ruiz, J. (2013). Celdas de combustible microbianas (ccms): Un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía

- eléctrica. *Información tecnológica*, 24(6), 17–28. doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642013000600004>
- Romero, A., Vásquez, J., y Lugo, A. (2012). Bacterias, fuente de energía para el futuro. *Tecnura*, 16(32), 118–143. doi: 10.14483/udistrital.jour.tecnura.2012.2.a10
- RSC. (s.f.). *Photosynthesis*. <http://www.rsc.org/Education/Teachers/Resources/cfb/Photosynthesis.htm>. (Accedido 25–03–2018)
- Salazar, A. (s.f.). *Thévenin, norton y máxima transferencia de potencia*. http://www.prof.uniandes.edu.co/ant-sala/cursos/FDC/Contenidos/06.Thevenin_Norton_Maxima_Transferencia_de_Potencia.pdf. (Accedido 18–04–2018)
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., y Ieropoulos, I. (2017). Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. a review. *Journal of Power Sources*, 356, 225–244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>.
- Sebek, O., y Randles, C. (s.f.). *Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología*. https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/1654/mod_resource/content/1/Tema_1.Diluciones_y_concentraciones.pdf. (Accedido 05–12–2018)
- Sebek, O., y Randles, C. (1951). *The oxidative dissimilation of mannitol and sorbitol by Pseudomonas fluorescens*. <https://jb.asm.org/content/jb/63/6/693.full.pdf>. (Accedido 08–11–2018)
- Sophia, A., y Sreeja, S. (2017). Green energy generation from plant

- microbial fuel cells (pmfc) using compost and a novel clay separator. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 21, 59–66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seta.2017.05.001>
- UPME. (2016). *Plan de acción indicativo de eficiencia energética 2017–2022*. http://www1.upme.gov.co/DemandaEnergetica/MarcoNormatividad/PAI_PROURE_2017–2022.pdf. (Accedido 01–04–2019)
- Valderrama, L. (1996). Uso de dos especies de macrófitas acuáticas, *Limnobiium laevigatum* y *Eichhornia crassipes* para el tratamiento de aguas residuales agroindustriales. *Universitas Scientiarum*, 3(1–2), 83–97. Descargado de <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/5058/3904>
- Vásquez, T., Alfaro, R., Sibaja, J., Esquivel, G., y Valdés, J. (2012). Composición química del agua de lluvia y de niebla recolectada en la reserva biológica monteverde. *Uniciencia*, 26, 51–63.
- Wetser, K., Sudirjo, E., Buisman, C., y Strik, D. (2015). Electricity generation by a plant microbial fuel cell with an integrated oxygen reducing biocathode. *Applied Energy*, 137, 151–157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.10.006>
- Xylem. (s.f.). *Medición de autodiagnóstico de dbo oxitop is*. <https://www.wtw.com/es/productos/categorias–de–productos/equipos–de–medicion–de–laboratorio/sistema–de–medicion–o–xitopr/oxitopr–is.html>. (Accedido 12–04–2019)
- y Desarrollo), I. I. (s.f.). *Eutrofización: Causas, consecuencias y mane-*

jo. <http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/pasantias/eutrofizacion.pdf>.
(Accedido 11-05-2018)

YourArticleLibrary. (s.f.). *Photosynthesis: The process of photosynthesis explained (with diagrams)*.
<http://www.yourarticlelibrary.com/photosynthesis/photosynthesis-the-process-of-photosynthesis-explained-with-diagrams/22921>. (Accedido 25-03-2018)

Zhang, W., Chen, X., Liu, Y., Liu, D., Du, Y., Chen, X., y Zou, C. (2018). The role of phosphorus supply in maximizing the leaf area, photosynthetic rate, coordinated to grain yield of summer maize. *Field Crops Research*, 219, 113-119. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.01.031>