



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“Optimización de parámetros de operación
de *Escherichia coli* en una celda
de combustible microbiana.”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

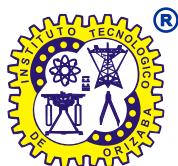
I.Q. Eleuterio Sánchez Hernández

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Eusebio Bolaños Reynoso

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Leticia López Zamora





EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 15 de mayo de 2023
Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación
Asunto: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I

C. ELEUTERIO SÁNCHEZ HERNÁNDEZ
Candidato(a) a Grado de Maestro(a) en:
CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA
P R E S E N T E.-

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros e Institutos Tecnológicos Federales del Tecnológico Nacional de México, de la Secretaría de Educación Pública, y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"Optimización de parámetros de operación de Escherichia coli en una celda de combustible microbiana."

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica
CIENCIA - TÉCNICA - CUALIFICACIÓN

Cuahtémoc Sánchez R.

Dr. CUAUHTÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



OG-13-F06



Av. Oriente 9 Núm.952, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz.
Tel. 01 (272) 1105560 e-mail: dir.orizaba@tecnm.mx, tecnm.mx | orizaba@tecnm.mx



2023
Francisco
VILLA

Orizaba, Veracruz, **18/mayo/2023**
Asunto: Revisión de trabajo escrito

C. CUAUITÉMOC SÁNCHEZ RAMÍREZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E.-

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C.

ELEUTERIO SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

La cual lleva el título de:

"Optimización de parámetros de operación de *Escherichia coli* en una celda de combustible microbiana"

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Fidelidad en Educación Tecnológica®
CIENCIA - TÉCNICA - CULTURAS

PRESIDENTE: DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO

SECRETARIO: DRA. LETICIA LÓPEZ ZAMORA

VOCAL: DRA. ROSALÍA CERECERO ENRIQUETZ

VOCAL SUP. DR. CALO RAFAEL URREA CARCIA



Handwritten signatures of the jury members: Eusebio Bolaños Reynoso, Leticia López Zamora, Rosalía Cerecero Enriquez, and Calo Rafael Urrea Carcia.

TA-09-18



Declaración de originalidad y cesión de derechos

Orizaba, Veracruz, el día 21 del mes de Junio del año 2023.

El que suscribe

C. Eleuterio Sánchez Hernández

Declaro que esta tesis, que tiene una extensión de 91 cuartillas, ha sido escrita por mí y constituye el registro escrito del trabajo de la tesis titulada "OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS DE OPERACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA" del programa: Maestría en ciencias en ingeniería química bajo la asesoría y dirección del Dr. Eusebio Bolaños Reynoso y la Dra. Leticia López Zamora y no ha sido sometida en ninguna otra institución previamente.

Todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal y, en los casos que así lo requieran, cuento con las debidas autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales. Por lo tanto, me hago responsable de cualquier litigio o reclamación relacionada con derechos de propiedad intelectual, exonerando de toda responsabilidad al Tecnológico Nacional de México campus Orizaba.

También declaro que, al presentar esta tesis, cedo los derechos del trabajo al Tecnológico Nacional de México campus Orizaba para su difusión, con fines académicos y de investigación, bajo las regulaciones propias de la institución y que si existe algún acuerdo de confidencialidad de la información lo haré saber en forma escrita para que se omitan las secciones correspondientes.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: depi_orizaba@tecnm.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



Eleuterio Sánchez Hernández

DEDICATORIAS

Mi tesis va dedicada a Dios y mi madre que siempre velaron porque no me diera por vencido y me cuidaron durante este camino.

A mi hermana Mireya que siempre ha sido mi ejemplo de perseverancia y lucha para alcanzar nuestros sueños.

A mi hermana Betty y mis sobrinos Vale y Leo que llenan de amor mi corazón.

A Cristal por haberme dado la inspiración para terminar este proyecto y acompañarme en este camino.

A mis amigos de generación, Alexa, Jesica, Adriana y Lili por los momentos bellos y también los malos que pasamos juntos.

A mi director de tesis, Dr. Eusebio Bolaños Reynoso y a la Dra. Leticia López Zamora por el conocimiento que me transmitieron y el apoyo que me brindaron.

A mi padre le dedico especialmente este trabajo, comenzamos juntos este proyecto, pero desafortunadamente no pudo verlo concluido, hasta el cielo papá.

RECONOCIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a mi director y codirector de tesis, el Dr. Eusebio Bolaños Reynoso y a la Dra. Leticia López Zamora por permitirme haber formado parte de su equipo de investigación, gracias por confiar en mí, abrirme las puertas y realizar todo el proceso experimental dentro del laboratorio; asimismo, de sus recomendaciones, apoyo y tiempo dedicado para el desarrollo de este proyecto.

De igual manera a mi comité de tesis, al Dr. Galo Rafael Urrea García y a la Dra. Rosalía Cerecero Enríquez, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi posgrado.

A mi alma mater el Instituto Tecnológico Nacional de México, campus Orizaba, de la cual me siento profundamente orgullosa, que me brindo una educación inmejorable.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca con número de registro 1039317, para poder lograr este grado académico.

RESUMEN

“Optimización de parámetros de operación de *Escherichia coli* en una celda de combustible microbiana”

Elaborada por: I.Q. Eleuterio Sánchez Hernández

Dirigida por: Dr. Eusebio Reynoso Bolaños

Dra. Leticia López Zamora

Las celdas de combustible microbiana de doble cámara son una alternativa atractiva y reciente que ha sido tema de estudio para su aplicación en la degradación de materia orgánica presente en las aguas residuales y en la generación de bioelectricidad. El objetivo de este trabajo radicó en encontrar las condiciones de operación que dieran la mayor generación de voltaje, utilizando como sustrato melaza y como microorganismo *Escherichia coli*; para lograr ésto se implementó un recubrimiento térmico para disminuir el efecto que tiene el cambio de temperatura ambiente en el desarrollo de microorganismo. Se aplicó un diseño de bloques completos al azar para la elección del material aislante, se utilizó el diseño factorial 2^2 (DoE) para encontrar las mejores condiciones de la relación alimento/microorganismo, se realizó un diseño 2^4 para encontrar las variables que tenían mayor efecto sobre la producción de voltaje. Finalmente se realizó un diseño Box-Benhken de la metodología superficie de respuesta para encontrar los valores con los cuales se maximiza la eficiencia en la obtención de voltaje. Se obtuvo la espuma de poliuretano como mejor aislante térmico, en la relación alimento-microorganismo se debe trabajar con niveles bajos de *E. coli* (0.0104 g de sólidos volátiles) y niveles altos de melaza (34.09 g/L). Las variables que resultaron tener efecto significativo fueron: tiempo, área del ánodo y pH, las cuales se deben trabajar en los siguientes niveles: alto para tiempo (24 h), alto para área del ánodo (216 cm²) e intermedio para el pH (7).

ABSTRAC**"Optimization of operating parameters of *Escherichia coli* in a microbial fuel cell."**

By: I.Q. Eleuterio Sánchez Hernández

Advisors: Dr. Eusebio Reynoso Bolaños

Dra. Leticia López Zamora

Dual-chamber microbial fuel cells are an attractive and recent alternative that has been the subject of study for its application in the degradation of organic material present in wastewater and in the generation of bioelectricity. The objective of this work was to find the operating conditions that gave the highest voltage generation, using molasses as substrate and *Escherichia coli* as microorganism; to achieve this, a thermal coating was implemented to reduce the effect that the change in ambient temperature has on the growth of microorganisms. A randomized complete block design was applied for the choice of the insulating material, a 2^2 factorial design (DoE) was used to find the best conditions for the food/microorganism ratio, and a 2^4 factorial design was used to find the variables that had the greatest effect on voltage production. Finally, a Box-Benhken design of the response surface methodology was performed to find the values that maximize the efficiency in obtaining voltage. Polyurethane foam was obtained as the best thermal insulator; in the food-microorganism ratio, low levels of *E. coli* (0.0104 g of volatile solids) and high levels of molasses (34.09 g/L) should be used. The variables that proved to have a significant effect were: time, anode area and pH, which should be worked at the following levels: high for time (24 h), high for anode area (216 cm²) and intermediate for pH (7).

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRAC.....	ii
ÍNDICE.....	iii
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS	viii
NOMENCLATURA.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	x
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	5
1.1 Antecedentes científicos	5
1.2 Avances.....	6
1.3 Celdas de combustión microbiana	7
1.4 Diseños y configuraciones de las CCMs	8
1.4.1. Celda de combustible microbiana de cámara única.....	9
1.4.2. Celda de combustible microbiana de dos celdas	9
1.5 Electrodos	10
1.5.1. Ánodo	11
1.5.2. Cátodo.....	15
1.6 Membranas de intercambio protónico	15
1.7 Factores que afectan la eficiencia de las celdas de combustible microbianas	16
1.7.1. Potencial de Hidrogeno (pH).....	16
1.7.2. Resistencia eléctrica externa.....	16
1.7.3. Concentración de materia orgánica	17
1.7.4. Temperatura.....	17
1.7.5. Demanda química de oxígeno (DQO).....	18
1.8 Parámetros de operación en el proceso de tratamiento de agua residual	18
1.8.1. Relación alimento/ microorganismo.....	18
1.9 Microorganismos	18
1.9.1. Bioelectrogénesis.....	19
1.9.2. <i>Escherichia coli</i>	19
1.10 Aguas residuales industriales	20
1.10.1. Melaza.....	20
1.11 Análisis y diseño de experimentos	21
1.11.1. Diseños factoriales	21

1.11.2.	Diseño factorial completo 2^K	21
1.12	Optimización	22
1.12.1.	Métodos de superficie para la optimización	22
1.12.2.	Diseños experimentales para ajustar superficies de respuesta	23
1.12.3.	Diseños Box-Behnken	24
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS		27
3.1	Materiales	27
3.2	Métodos	29
3.3	Aislantes térmicos	30
2.3.1.	Construcción del diseño de bloques completos al azar (DBCA) para la elección del material aislante	31
2.4.	Diseño factorial 2^2 para la elección del parámetro de operación alimento/microorganismo	32
3.5	Diseño factorial 2^k para encontrar las variables significativas en la generación de bioelectricidad	33
2.5.1.	Elección de las variables	34
2.5.2.	Diseño factorial 2^k	35
2.6	Optimización de parámetros de parámetros de operación	36
2.6.1.	Elección del diseño experimental para ajustar la superficie de respuesta	36
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN		38
3.1	Elección del material aislante	38
3.1.1.	Materiales empleados en la experimentación	38
3.1.2.	Análisis comparativo de los materiales aislantes utilizando (DBCA)	38
3.1.3.	Cálculo del grosor de la espuma de poliuretano en la cámara anódica	43
3.1.4.	Implementación de la espuma de poliuretano en la cámara anódica	45
3.2	Determinación del parámetro de operación alimento/microorganismo	46
3.2.1.	Cultivo de la bacteria <i>Escherichia coli</i>	46
3.2.2.	Identificación de <i>E. coli</i> mediante tinción de Gram.	47
3.3	Diseño factorial 2^2 para la elección del parámetro de operación alimento/microorganismo	48
3.3.1.	Niveles del sustrato	48
3.3.2.	Niveles del <i>E. coli</i>	49
3.4	Corridas experimentales	49
3.4.1.	Análisis de varianza	51
3.4.2.	Gráfica de interacción de la concentración de sustrato y la concentración de <i>E. coli</i>	51

3.5	Diseño factorial 2^4 para encontrar las variables significativas en la generación de bioelectricidad	53
3.5.1.	Ajuste de pH de la solución de melaza.....	53
3.6	Voltaje obtenido en las corridas experimentales del diseño factorial.....	53
3.7	Análisis de Varianza para el diseño factorial 2^4	56
3.8	Ajuste del diseño Box-Behnken para tres factores	58
3.9	Superficie de respuesta Diseño Box-Behnken.....	59
3.9.1.	Gráficas de superficie del diseño Box-Behnken.....	62
3.9.2.	Gráficas de contorno del diseño Box-Behnken	62
3.9.3.	Valores de las variables para obtener el mayor voltaje	64
CONCLUSIONES.....		67
RECOMENDACIONES		68
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		70

FIGURA	LISTA DE FIGURAS	PAG
1.1	Celda de combustible microbiana de dos cámaras	8
1.2	Fotografías de materiales de electrodos base, A) papel carbón, B) placa de grafito, C) tela de carbón, D) malla de carbón, E) grafito granular, F) carbón activado granular, G) fieltro de carbón, H), carbón vitrificado reticulado, I) escobilla de carbón, J) malla de acero inoxidable	12
1.3	Diseño coordinado Box-Behnken para tres factores	25
2.1	Celda de combustible microbiana de circuito cerrado	27
2.2	Metodología general para optimizar los parámetros de una CCM	30
2.3	Diseño Box -Behnken para tres factores	36
3.1	Configuraciones de los aislantes tratados como bloques	41
3.2	Celda de combustible microbiana con recubrimiento de espuma de poliuretano en la cámara anódica	46
3.3	Resiembra de <i>E. coli</i> por el método de estría	47
3.4	Tinción de Gram a <i>E. coli</i> vista en el microscopio	47
3.5	Determinación de DQO a las muestras de melaza	48
3.6	Determinación del peso de los sólidos volátiles para el licor de melaza con <i>E. coli</i>	49
3.7	Generación de voltaje obtenido en la primera réplica del diseño factorial 2^2	50
3.8	Generación de voltaje obtenido en la segunda réplica del diseño factorial 2^2	50
3.9	Gráfica de interacciones de concentración de sustrato y concentración de <i>E. coli</i> con respecto a la media de la variable de respuesta	52
3.10	Gráfica de la generación de voltaje para la réplica 1 del diseño factorial 2^4	54

3.11	Gráfica de la generación de voltaje de para réplica 2 del diseño factorial 2^4	55
	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño factorial 2^4	
3.12	Generación de voltaje de la réplica 1 del diseño Box-Benhken	57
3.13	Generación de voltaje en la réplica 2 del diseño Box-Benhken	59
3.14	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño experimental Box-Benhken	59
3.15	Gráficas de superficie de respuesta	60
3.16	Gráficas de contorno	62
3.17		63

LISTA DE TABLAS

Tabla		PAG
1.1	Principales variables consideradas en CCMs generadoras de potenciales representativos	10
1.2	Materiales del ánodo, configuración, fuente de inoculación y rendimiento de generación de energía en una CCM	13
2.1	Diseño de bloques completos al azar	31
2.2	Matriz del diseño factorial 2^2	32
2.3	Factores codificados	32
2.4	Matriz de diseño con niveles bajos y altos de los factores	34
2.5	Factores codificados	35
2.6	Matriz de diseño Box-Benhken para 3 variables	37
3.1	Primer experimento del diseño de bloques completos al azar	40
3.2	Análisis de varianza del bloque I y II	41
3.3	Análisis de varianza para el bloque I y el bloque III	41
3.4	Análisis de varianza del bloque I y II en el experimento número 2	43
3.5	Análisis de varianza para el bloque I y III en el experimento 2	43
3.6	Resultados de los experimentos 3,4 y 5	44
3.7	Análisis de varianza del diseño factorial 2^2	53
3.8	Voltaje máximo obtenido en el diseño factorial 2^4	55
3.9	Análisis de varianza del diseño factorial 2^4	58
3.10	Matriz de diseño con niveles bajos, medios y altos de los factores para el diseño Box-Benhken	60
3.11	Análisis de varianza para el diseño Box-Benhken	63

LETRA LATINA	NOMENCLATURA	UNIDADES
<i>CCM</i>	Celda de combustión microbiana	-----
<i>MIP</i>	Membrana de intercambio de protones	-----
pH	Potencial de Hidrogeno	-----

INTRODUCCIÓN

La crisis medioambiental de la primera década del siglo XXI es el resultado de un consumo desmedido y uso de los recursos irresponsable e inconsciente por parte de la población global hacia nuestro hogar el planeta tierra, debido a esto es necesario tomar cartas en el asunto y buscar alternativas que puedan ayudar a contra restar la “contaminación generada por aguas residuales”.

(Semarnat, 2014) informa que, en México en 2012, los centros urbanos descargaron aproximadamente 7.3 km^3 (equivalente a $229.73 \text{ m}^3/\text{s}$) de aguas residuales. A nivel de entidad federativa, las que en 2012 generaron las mayores descargas de aguas municipales fueron el estado de México ($24.22 \text{ m}^3/\text{s}$), ciudad de México ($21.96 \text{ m}^3/\text{s}$) y Veracruz ($16.08 \text{ m}^3/\text{s}$), que en conjunto contabilizaron 27.1% del volumen nacional generado. Los sistemas de tratamiento más utilizados en la industria son los lodos activados y las lagunas de estabilización, lo que genera altos costos de implementación y operación. Este proceso necesita una alta demanda de energía, la cual es requerida para la correcta operación del mecanismo de aeración. En general se necesita 1 kWh de energía para la oxidación de un para la oxidación de materia orgánica que contiene un kilogramo de carbono presente en el agua, alrededor de 0.5 kWh por m^3 de agua residual a tratar, (Buitrón y Pérez , 2011).

Las celdas de combustible microbianas (CCM) producen corriente eléctrica por la oxidación de compuestos orgánicos utilizando microorganismos. La composición de una CCM en general consta de dos cámaras: la cámara anódica, en la que los organismos microscópicos y el medio de cultivo se encuentran junto con un electrodo incrustado en el medio, que sirve como un aceptador de electrones fijo (ánodo). Los electrones fluyen del ánodo hasta el cátodo por conducto de un circuito eléctrico (Ahn y Logan 2012). En el espacio anódico, los microbios crecen y oxidan los sustratos disponibles en condiciones anaeróbicas, se generan electrones que se desprenden, protones y bióxido de carbono en el medio. Los protones se dirigen a

la cámara catódica atravesando la membrana de intercambio protónico, y al mismo tiempo los electrones son dirigidos al ánodo (Rabaey, 2010).

La generación de energía de CCM se ve afectada por factores como: el tipo de microorganismo, tipo y concentración de sustrato, pH, temperatura y el diseño del equipo; con el fin de mejorar el funcionamiento de la celda se pueden regular parámetros tales como, el efecto de los materiales de los electrodos, el sistema de intercambio de protones, las condiciones de operación de la cámara anódica y catódica y el pH (Rabaey y Verstraete, 2005).

El propósito de este trabajo fue encontrar de los valores óptimos de las variables independientes de operación de una CCM para obtener la mayor cantidad de electricidad producida por el microorganismo *Escherichia coli*, utilizando el método de superficie de respuesta. Para lograr esto se requiere reducir el efecto que tiene la temperatura ambiente sobre la temperatura dentro de la cámara anódica con lo que se puede tener un buen crecimiento y desarrollo de la *E. coli*.

La relación alimento/microorganismo es otro parámetro que influye de manera directa en el desarrollo de la bacteria por eso es necesario encontrar una relación que beneficie el proceso utilizando el diseño factorial 2^2 .

En los métodos de optimización, está el método de superficie de respuesta, que mediante operaciones matemáticas permite encontrar valores óptimos para las variables independientes que rigen el proceso. Con un diseño factorial 2^4 se explora las variables que tienen efecto significativo sobre la variable de respuesta “voltaje”, para aplicarlas al proceso de optimización mediante la metodología de superficie de respuesta.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Antecedentes científicos

(Del Campo, 2015) adicionó *Escherichia coli* en una celda de combustible microbiana usando glucosa como sustrato, esto generó pequeñas cantidades de corriente. Sin embargo, se obtuvieron grandes corrientes cuando se añadió azul de metileno al sistema. Esto se debe a que la transferencia directa de electrones de los microbios a los electrodos es ineficiente y la presencia de un mediador como el azul de metileno ayuda a crear una mayor eficiencia de la celda.

(Galicia, 2016), realizó una investigación bibliográfica en la cual reporta que de los experimentos realizados empleando varias celdas medias microbianas (únicamente cámara anódica), una conexión en serie es capaz de producir más de 35 V, pero una corriente de 2 mA.

(Farias *et al.*, 2016), mencionaron que hace algunos años, se llevaron a cabo estudios que han demostrado la posibilidad de producir electricidad en paralelo que se logra el tratamiento de aguas residuales. También se ha investigado la construcción de celdas de combustible microbianas y las variables que afectan a su eficiencia, que ahora se denominan sistemas bioelectroquímicos..

(Colmenares y Wittinghan, 2018), evaluaron el efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en una celda de combustible microbiana; esta sustancia, facilita el metabolismo de las bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, ayudando a transferir los electrones desde el interior del microorganismo hacia el circuito de la CCM, favoreciendo la eventual producción de electricidad. Esta celda funciona a una temperatura media de 37 ° C, pH inicial 7, usando aguas residuales sintéticas y seleccionando azul de metileno como mediador utilizando una concentración de 0,0001 M y 0,0003 M durante el experimento. Según los

experimentos llevados a cabo, se observó que un aumento en la concentración de mediador no garantiza un aumento en la generación de electricidad, ya que puede preferir una cepa más que otra. La concentración de cloruro de metiltionina que promueve la producción de electricidad fue de 0,0003 M en *E. coli* y de 0,0001 M en *Pseudomonas aeruginosa*.

(Bermúdez y Bernal, 2018), utilizaron para generar energía eléctrica y reducir la carga de aguas residuales orgánicas la celda de combustible microbiano del tipo H de doble cámara, que se instala en vidrio y se caracteriza por su baja conductividad eléctrica; Usaron placas de grafito y las aguas residuales sintéticas fueron de soja tripticasa, la capacidad de generación de energía y el porcentaje de procedimiento de reducción de DQO se evaluaron con dos bacterias, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, el proceso se realizó en condiciones anaerobias facultativas, los voltajes promedio fueron de 185.44 mV y 294.17 mV, respectivamente, y la tasa máxima de reducción de DQO de *Pseudomonas aeruginosa* fue de 12.24%.

1.2 Avances

(Páez *et al.*, 2019), ensamblaron una celda de combustible microbiana de dos compartimentos para medir los parámetros de generación de energía y reducción de DQO en aguas residuales sintéticas (con composición de nutrientes constante) utilizando cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se utilizaron tela de carbono y grafito como electrodos, mientras que el azul de metileno se utilizó como mediador. El pH inicial del agua residual sintética utilizada como sustrato varió durante las pruebas. Bajo las condiciones de operación descritas, *E. coli* logró un valor de voltaje de circuito abierto promedio máximo de 464 mV y una densidad de potencia de 3.98 mW/m² a pH 6,5 utilizando mediador y grafito como material de electrodo. Además, la demanda química de oxígeno (DQO) de *E. coli* se redujo hasta en un 11.53 %. Finalmente, se realizó la cuantificación microbiana, donde se obtuvieron tiempos de crecimiento más cortos para *E. coli*.

(Córdoba *et al.*, 2018), realizaron el estudio con una bacteria Gram-Positiva *Bacillus sp.* por su habilidad para producir electricidad bajo condiciones de pHs ácidos y resistencias externas en celdas de combustibles microbianas (CCM) a circuito cerrado. La influencia del pH y la resistencia externa (R_{ext}) en la generación de bioelectricidad se evaluó mediante un diseño factorial completo 3^2 . Los resultados demostraron que la cepa *Bacillus sp.* puede utilizar el agua residual sintética de la industria azucarera como donadora de electrones. Mediante el modelo de segundo orden se determinó que a un pH óptimo de 7 y resistencia externa de 220Ω , la máxima densidad de potencia fue de 84.83 mW/m^2 con una eficiencia coulombica (EC) del $19 \pm 1.93\%$ y remoción de DQO del $85 \pm 2.62 \%$.

1.3 Celdas de combustión microbiana

Las celdas de combustión microbiana CCMs tradicional constaba de compartimentos de ánodo y cátodo, pero hay CCM de cámara única. Los microorganismos catabolizan activamente el sustrato y se generan bioelectricidades. Los CCM podrían utilizarse como generadores de energía en dispositivos pequeños como biosensor. Además de las ventajas de esta tecnología, todavía se enfrenta a barreras prácticas como la baja potencia y la densidad de corriente (Rahimnejad *et al.*, 2015). Los electrones presentes en la cámara del ánodo viajaron a través de un circuito externo para la generación de electricidad. Estos electrones se reducen en la cámara catódica y finalmente se completa la reacción redox. Las membranas de intercambio de protones (MIP) se utilizan para separar las cámaras de ánodo y cátodo (Ghassemi y Slaughter, 2017). Se ha demostrado que las CCMs es una vía crítica para los procesos de bioconversión hacia la generación de electricidad y luego para abordar los problemas energéticos y ambientales. Tres características especiales que incluyen ahorro de energía, menor producción de lodo y menor producción de energía hacen que las CCMs sean sobresalientes en comparación con las tecnologías existentes. Las aguas residuales multiformes podrían degradarse de manera eficiente mediante el avance de CCM sola o integrando los CCM con otras unidades de procesamiento. Sin embargo, la baja densidad de potencia y el alto costo operativo de las CCM han

limitado en gran medida sus aplicaciones en problemas a gran escala y luego han dado lugar a algunos debates y dudas sobre su desarrollo y aplicaciones (He *et al.*, 2017). Una disposición general de una CCM de dos cámaras es tal que, en el compartimento anódico, los microorganismos pueden provocar conversiones oxidativas y pueden producirse procesos reductores químicos y / o microbianos simultáneos en el compartimento catódico (Figura 1.1).

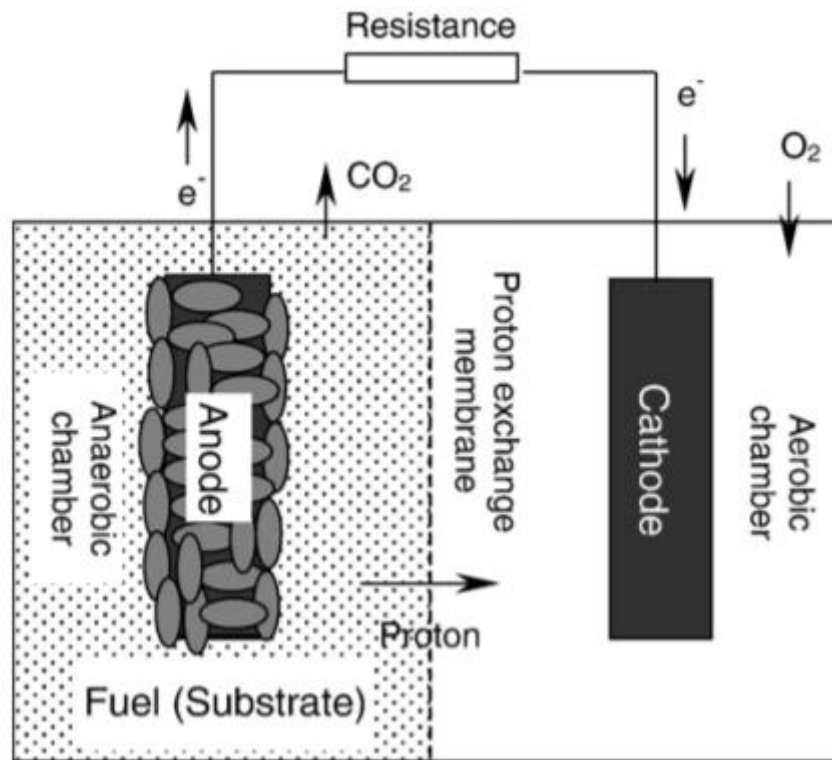


Figura 1.1 Celda de combustible microbiana de 2 cámaras. (Du *et al.*, 2007)

1.4 Diseños y configuraciones de las CCMs

En los últimos años, se han logrado varios desarrollos en la tecnología CCM en relación con varios diseños y configuraciones, electrodos y modificaciones de la superficie de los electrodos, comunidades microbianas, condiciones operativas para el rendimiento y formación de biopelículas, desafíos y posibilidades, mecanismos fundamentales de transferencia de electrones y aplicaciones. Además, se han realizado esfuerzos considerables para homogeneizar el campo y crear parámetros

aceptados uniformemente. El creciente interés en la tecnología CCM entre la fraternidad científica y de ingeniería durante los últimos años no solo se debe a su potencial aplicación en la recolección de energía, sino también a su posicionamiento como una alternativa más ecológica a los procesos convencionales de digestión anaeróbica y tratamiento de residuos de lodos activados (Pandey *et al.*, 2016).

1.4.1. Celda de combustible microbiana de cámara única

Una CCM de cámara única consta de una cámara de ánodo, una capa de difusión de gas, que separa el cátodo de la cámara del ánodo y además posibilita el transporte pasivo de oxígeno al cátodo. Este diseño descarta el paso de aireación que consume energía a diferencia de la CCM de dos cámaras, (Bhargavi *et al.*, 2018).

1.4.2. Celda de combustible microbiana de dos celdas

Las CCM de dos cámaras son reactores básicos que generalmente se utilizan para estudiar los materiales de los electrodos, la actividad microbiana y la optimización de parámetros. Este diseño básico no puede reducir los gastos de energía del tratamiento de aguas residuales, ya que requiere un burbujeo continuo de aire a la cámara del cátodo, que es un proceso que consume energía. Se reconoce ampliamente que las densidades de potencia reducidas se deben a sobrepotenciales y pérdidas de energía con el aumento de tamaño. Por tanto, los avances en el diseño de reactores podrían reforzar las aplicaciones prácticas de los CCM en el tratamiento de aguas residuales, (Oh *et al.*, 2010).

En la Tabla 1.1 se resumen algunos valores de densidad de potencia representativos publicados en la literatura.

Tabla 1.1 Principales variables consideradas en CCMs generadoras de potenciales representativos, (Revelo *et al.*, 2013).

Características de la CCM	Bacterias	Sustrato	Tipo de electrodo	DP (mW/M ²)	RI (Ω)	EC (%)
Cámara doble, MIP Nafion 117	Lodo Anaeróbico	Acetato	Papel carbono (ánodo), platino (cátodo)	7200	960	50-80
Cámara sencilla, sin membrana	Mezcla de bacterias	Acetato, aguas residuales	Fibra de carbono	6860	235	-
Cámara doble, MIP Ultrex	Lodo metanogénico, anaerobio, granular	Glucosa	Varilla de grafito, 5 mm de diámetro	4310	-	-
Cámara doble, MIP Nafion 117	<i>Geobacter sulfurreducens</i> KN400	Acetato	Varilla de 7.1×10^{-6} m ² (ánodo), tela de grafito 6.4516 cm ² (cátodo)	3900	0.015 Ω/m ²	-
Cámara sencilla, MIP Nafion 115	Lodo de digestor anaeróbico	Glucosa y acetato	Filtro de carbono suspendido en varilla de grafito	3650	27	88 ± 5.7
Camara doble, MIP Ultrex	Cultivo mixto	Glucosa	Grafito plano, 50 cm ²	3600	-	89±4

1.5 Electrodo

(Bai *et al.*, 2016), menciona que en general, en una CCM, la generación de electrones ocurre en el ánodo a través de la oxidación anaeróbica del combustible por microbios y son transportados a través del circuito externo al cátodo, donde tiene lugar la reducción del agente oxidante. La co-ocurrencia de procesos de oxidación y reducción provoca un flujo continuo de electrones, generando así electricidad. Se cree que varios factores, como la configuración del electrodo, los materiales del electrodo, las membranas, los mediadores y los biocatalizadores, influyen en el rendimiento de un MFC. Entre todos los factores enumerados, los materiales de los electrodos afectan

el rendimiento en mayor medida, ya que las fluctuaciones en el transporte de electrones entre los microbios y los electrodos darían lugar a producciones de energía limitadas.

La selección de materiales para los electrodos (materiales base) es un paso crucial en el que se debe tener sumo cuidado para evitar la corrosión. Por ejemplo, el cobre parece proporcionar densidades de potencia más altas cuando se usa como electrodos debido a la corrosión galvánica. Por otro lado, se encuentra que los iones de cobre poseen propiedades antibacterianas. De manera similar, el uso de electrodos de acero inoxidable depende del porcentaje de cromo en la aleación, (Dumas *et al.*, 2007). El rendimiento de una CCM también se rige por varios parámetros del electrodo, como la biocompatibilidad, el área de la superficie activa, la alta conductividad, la naturaleza de la superficie del electrodo, etc. limitar la tecnología CCM desde la implementación fuera del laboratorio. En años recientes, la investigación se ha enfocado en los colectores de electrones en lugar de en los electrodos que pueden acomodar un número máximo de bacterias. En el escenario actual, son preferibles los metales capaces de transferir electrones a distancias más largas. Aunque los catalizadores de metales preciosos como el platino pueden mejorar la generación de energía, su aplicación a gran escala resultaría en costos de material insoportables, (Logan, 2010).

1.5.1. Ánodo

La eficiencia de una CCM se decide predominantemente por el rendimiento del ánodo, ya que es un centro de reacciones bioelectroquímicas cruciales, así como un mediador del transporte de electrones desde los exoelectrógenos al electrodo. Por lo tanto, es esencial concentrarse en los materiales y el diseño del ánodo. Hay varios parámetros anódicos como el área de superficie, la resistividad química, la longevidad y la conductividad eléctrica que muestran un impacto significativo en el rendimiento de la CCM, (Malik *et al.*, 2014). Los materiales base más utilizados para todo tipo de electrodos se presentan en la Figura 1.2.

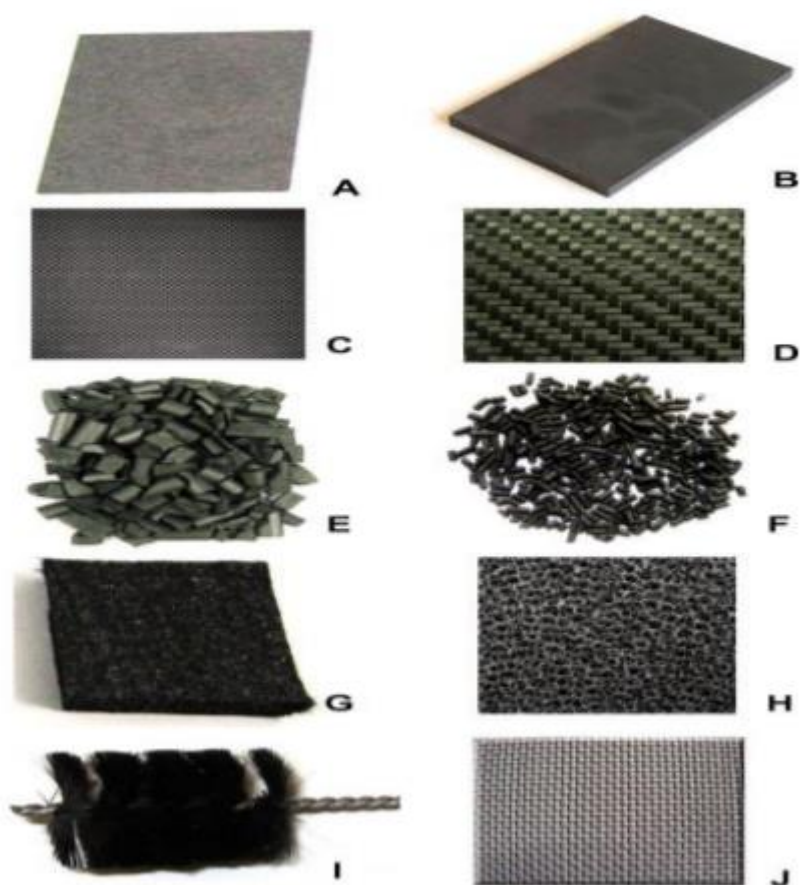


Figura 1.2 Fotografías de materiales de electrodos base, A) Papel carbón, B) Placa de grafito, C) Tela de carbón, D) Malla de carbón, E) Grafito granular, F) Carbón activado granular, G) Filtro de carbón, H) carbón vitrificado reticulado, I) Escobilla de carbón, J) Malla de acero inoxidable, (Wei *et al.*, 2011).

La configuración y el rendimiento de estos materiales de ánodo de uso común se resumen en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Materiales del ánodo, configuración, fuente de inoculación y rendimiento de generación de energía en una CCM, (Wei *et al.*, 2011).

Materiales del Electrodo		Configuración	Tamaño del electrodo	Fuente de inoculación	Configuración del reactor	Densidad de potencia
Carbón	Papel carbón	Plano	2.5 cm * 4.5 cm, 22.5 cm ² total	Desbordamiento del clarificador primario	Dos botellas, aire - cátodo	600 mW / m ² (área del ánodo)
Carbón	Tela de carbón	Plano	7 cm ² de Área proyectada	Bacterias Pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM de cátodo de aire de cubo de cámara única	46 W / m ³ (volumen de la cámara del ánodo)
Carbón	Placa de grafito	Plano	1.92 cm ²	<i>Shewanella oneidensis</i> (MR-1)	Dos cámaras, aire-cátodo	3290 mW / m ² (área del ánodo)
Carbón	Placa de grafito	Plano	155 cm ²	<i>Shewanella oneidensis</i> (MR-1)	Dos cámaras, aire-cátodo	1410 mW / m ² (área del ánodo)
Carbón	Malla de carbono	Plano	7 cm ² de Área proyectada	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM de cátodo de aire de cubo de cámara única	893 mW / m ² (área del ánodo), 45 W / m ³ (volumen de la cámara del ánodo)
Carbón	Grafito granular	Empaquetada	Cámara de ánodo: 390 mL	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM tubular, catolito: K ₃ Fe (CN) ₆	90 W / m ³ (volumen neto de la cámara anódica)
Carbón	Tela de carbón activado	Plano	1.5 cm ²	<i>D. desulfuricans</i> cepa Essex 6 (para eliminación de sulfato)	CCM de cámara única, aire-cátodo	0.51 mW/cm ² (área geométrica del electrodo)

Tabla 1.2 Materiales del ánodo, configuración, fuente de inoculación y rendimiento de generación de energía en una CCM, (Wei *et al.*, 2011). Continuación

Materiales del Electrodo		Configuración	Tamaño del electrodo	Fuente de inoculación	Configuración del reactor	Densidad de potencia
Carbón		Filtro de grafito	Empaquetada	Cámara anódica: 156 mL	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM de dos cámaras, catolito: $K_3Fe(CN)_6$
Carbón		Filtro de carbono	Empaquetada	Cámara anódica: 156 mL	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM de dos cámaras, catolito: $K_3Fe(CN)_6$
Carbón		Carbono activado granular	Empaquetada	Cámara anódica: 450 mL, volumen húmedo: 250 mL	Aguas residuales domésticas	CCM cilíndrico de cámara única, aire-cátodo
Carbón	Carbono vítreo reticulado	Empaquetada	Volumen del ánodo: 190 mL; superficie del ánodo: 97 cm ²	Lodos anaeróbicos de un biorreactor anaeróbico que trata las aguas residuales de una cervecería	CCM cilíndrico de dos cámaras; Catolito $K_3Fe(CN)_6$	170 mW / m ² (área de superficie del ánodo)
Carbón	Cepillo de carbono	Cepillo	4 cm de largo por 3 cm de diámetro	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	CCM de cátodo de aire de cubo de cámara única alimentado por lotes	2400 mW / m ² (área del cátodo) o 73 W / m ³
Metal	Plato de acero inoxidable	Plano	20 * 30 cm, superficie total 0,12 m ²	Sedimentos Marinos	CCM marina artificial	23 mW / m ² (área de superficie del ánodo)
Metal	Titano recubierto de pt	Plano	Área proyectada: 22 cm ²	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa	Dos cámaras (placas de plexiglás con canales de flujo)	No reportado

1.5.2. Cátodo

En una CCM, la cámara catódica se considera un sumidero de electrones, en el que el oxígeno se reduce a agua. En la cámara de cátodo, la reducción de oxígeno ocurre en la interfaz trifásica de aire, líquido y sólido. Un cátodo típico de una CCM está compuesto por un soporte de electrodo, un catalizador y una capa de difusión de aire. Los materiales de los electrodos usados para el ánodo también se pueden usar para el cátodo, pero el cátodo potencial debe tener alta conductividad eléctrica, alta resistencia mecánica y propiedades catalíticas efectivas. Más comúnmente, los MFC se operan bajo PH neutro y temperaturas suaves. En estas condiciones, la tasa de reducción de oxígeno es muy baja, lo que conduce a un aumento de los potenciales y, por lo tanto, limita el rendimiento de una CCM. Para reacciones catódicas robustas en una CCM, los materiales de soporte basados en carbono catódico deben modificarse con catalizadores adicionales (Mustakeem, 2015). El platino es el catalizador de cátodo más comúnmente utilizado debido a su alta eficiencia en la reducción de oxígeno. El uso de catalizadores metálicos costosos como materiales catódicos en las CCM está limitando las aplicaciones prácticas de la tecnología CCM. Además de su elevado coste, los catalizadores de platino son más propensos a ensuciarse cuando se utilizan con agua de baja calidad (Ahn *et al.*, 2014). Se han realizado muchos esfuerzos de investigación para reducir el costo de los catalizadores catódicos mediante la búsqueda de alternativas más baratas al platino sin sacrificar el rendimiento (Bhargavi *et al.*, 2018).

1.6 Membranas de intercambio protónico

La membrana de intercambio de protones (MIP) es un componente crítico que determina la eficiencia de CCM. Las membranas de ionómero perfluorado como Nafion (Dupont) se han utilizado ampliamente como membranas de electrolitos poliméricos de la CCM, debido a sus elevadas conductividades de protones en estado completamente hidratado. Sin embargo, estas membranas siguen siendo caras, lo que hace que su uso sea prohibitivo en aplicaciones a gran escala. Además, las especies

de cationes también presentes en las aguas residuales como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ y Mg^{2+} pueden cruzar la membrana de Nafion como protones. Considerando que la concentración de estas especies de cationes es mayor en CCMs que la concentración de protones, se produce una acumulación de estos cationes en la cámara catódica provocando un aumento del pH en la cámara anterior y una disminución del pH en la cámara anódica. Como consecuencia, la eficiencia de los MFC se reduce al disminuir la actividad de los microorganismos y la disminución del potencial celular termodinámico (Gil *et al.*, 2003 citado por Hernández-Fernández *et al.*, 2015).

1.7 Factores que afectan la eficiencia de las celdas de combustible microbianas

El buen desempeño de una celda de combustible microbiana depende del buen control de varios factores tales como: tipo de inóculo utilizado (consorcio microbiano), tipo y concentración del sustrato, fuerza iónica, pH, temperatura, resistencia externa. Los parámetros operativos se pueden ajustar para mejorar el rendimiento de las celdas de combustible microbianas. (Liu *et al.*, 2009).

1.7.1. Potencial de Hidrogeno (pH)

La efectividad de una CCM se ve alterada por los cambios en el pH, que surgen de la acidificación en la cámara del ánodo y la alquilación en la cámara del cátodo cuando se generan protones en los sitios del ánodo y el cátodo. Cuando en la cámara anódica la difusión y la migración de los protones mediante la MIP es lenta, se crea una disminución del pH ocasionando una disminución drástica de la actividad bacteriana y por lo tanto se perjudica la transferencia de protones hacia la cámara catódica (Revelo *et al.*, 2013).

1.7.2. Resistencia eléctrica externa

A medida que aumenta la resistencia externa, el potencial tiende a disminuir. Además, a medida que aumenta la resistencia externa, también disminuye la tasa de

eliminación de materia orgánica. La resistencia externa perjudica la eficiencia de la CCM por medio de control del flujo de electrones a partir del ánodo al cátodo, Una resistencia externa bastante alta actúa como una barrera que inhibe el flujo de electrones a partir del ánodo hacia el cátodo (Condori y Torres, 2019).

1.7.3. Concentración de materia orgánica

(Park *et al.*, 2017) determinaron que el aumento resultante en la concentración de lactato fue el resultado de valores altos de energía en la CCM inoculada con *S. putrefaciens*. Investigaciones llevadas a cabo por (Moon *et al.*, 2005) indagaron el impacto de la concentración de sustrato en el rendimiento de una CCM, en este análisis se localizó además que la densidad de potencia se ha sido acrecimiento con el incremento de la concentración del sustrato.

1.7.4. Temperatura

(Li *et al.*, 2018), Demostraron el efecto de aumentar la temperatura de 25 a 35 °C, luego a 45 °C y después a 25 °C para lograr la máxima densidad de potencia. Se concluye que, durante la generación de energía, la temperatura de inicio debe permanecer constante, ya que su variación puede afectar negativamente la eficiencia de la celda de combustión microbiana. Las bacterias en el CCM necesitan algún tiempo para adaptarse a la temperatura, sin embargo, al variarse, tendrá que volver a aclimatarse y en su intento tienen la posibilidad de morir.

(Muñoz *et al.*, 2016), implementaron un recubrimiento térmico en un reactor anaerobio de flujo ascendente utilizando espuma de poliuretano, las ventajas de este duroplástico son tener una buena estabilidad térmica y tiene la propiedad de amoldarse a diversas superficies.

1.7.5. Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO es un parámetro de uso frecuente en el campo del tratamiento de aguas residuales para evaluar la presencia de materia orgánica midiendo la cantidad de sustancias que se oxidan fácilmente por métodos químicos. La energía teórica contenida en un kilogramo de DQO es de 1 kWh, pero cuando esta cantidad de DQO se introduce en el CCM, la potencia teórica producida es de unos 4 kWh. Valor que no puede ser alcanzado experimentalmente debido a las resistencias internas y a otros problemas inherentes del diseño (Nwogu, 2007 citado por López, 2014.).

1.8 Parámetros de operación en el proceso de tratamiento de agua residual

Usualmente la operación de las plantas de tratamiento de aguas residuales se realiza de manera empírica. Algunos de los parámetros de operación son la relación alimento microorganismo, tiempo de retención celular, carga orgánica entre otros (Torrescano, 2009).

1.8.1. Relación alimento/ microorganismo

Para que el sistema de lodos activados funcione cómodamente, los microorganismos deben tener la cantidad correcta de alimento, muy poco o demasiado alimento puede causar problemas de sedimentación. El método consiste en determinar el entorno óptimo para el número de microorganismos por kilogramo. de alimento (DQO), los microorganismos se miden como SSVLM (sólidos suspendidos volátiles del licor mezclado), (Torrescano, 2009).

1.9 Microorganismos

Los microorganismos son un factor importante en la actividad energética de CCM. Asimismo, la introducción de microorganismos, especialmente bioeléctricos, en la CCM es importante para la degradación de la materia orgánica en el sustrato, al mismo tiempo que donan electrones al polo electrolítico (ánodo), generando así

bioelectricidad. La averiguación del comportamiento de microorganismos que sean eficaces, a base de muestras del medio ambiente sometidas a distintas condiciones para la remoción de materia orgánica y biorremediación, auxilia al manejo y mejoramiento de dichos sistemas (Lui y Logan, 2004).

1.9.1. Bioelectrogénesis

La bioelectricidad es el proceso de generación de electricidad basado en procesos biológicos realizados por organismos vivos. Hay muchos microorganismos que convierten la energía de manera eficiente, pero algunos son más eficientes que otros. Aunque los microbios más usados son las llamadas “Bacterias electrogénicas” quienes suelen habitar en zonas anaerobias, como en fango de los lagos o lodos (Condori y Torres, 2019). Los microorganismos electrogénicos son capaces de intercambiar electrones con superficies conductoras (electrodos) y producir una corriente eléctrica a partir de la degradación de la materia orgánica presente, constituyendo así un catalizador ideal para la limpieza de aguas residuales o de sitios contaminados con hidrocarburos (Busalmen, 2010)

Investigadores de la universidad de Massachussets informaron acerca del enriquecimiento de microorganismos del grupo de las δ -proteobacterias, más concretamente de integrantes de la familia Geobacteraceae sobre electrodos enterrados en sedimentos y polarizados a un potencial positivo (Bond *et al.*, 2002).

1.9.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria, un pequeño organismo unicelular que puede vivir en muchos ambientes diferentes. Las bacterias se encuentran en el suelo y el agua, así como en los organismos vivos, incluidas las plantas, los seres humanos y los animales. En algunos casos, estas bacterias son patógenas porque causan infección en humanos. Muchas bacterias, sin embargo, no dañan a las personas, pero sobreviven en las personas como comensales. En esta situación, las bacterias

obtienen alimento y beneficios de las personas sin causar síntomas ni enfermedades. *E. coli* es típicamente un comensal, pero en situaciones específicas, puede causar una variedad de enfermedades humanas.

E. coli es un procariota, uno de los grupos de organismos más pequeños y comunes que existen. puede crecer con (aeróbicamente) o sin (anaeróbicamente) oxígeno o aire, una habilidad que categoriza a *E. coli* como anaerobio facultativo (Manning, 2010).

Escherichia coli es una cepa de bajo mantenimiento fácilmente disponible y, por lo tanto, se utiliza en muchos estudios como biocatalizador (Nandy *et al.*, 2019). En general, *E. coli* debe usarse en combinación con mediadores de electrones adecuados en CCM, o de lo contrario la producción de electricidad será bastante baja (Zhang *et al.*, 2006).

1.10 Aguas residuales industriales

Son aquellas aguas que resultan de las actividades hechas en las distintas industrias, su composición varía según el tipo de proceso industrial y aun para un mismo proceso industrial (Condori y Torres, 2019).

1.10.1. Melaza

La melaza y la pulpa de remolacha azucarera, subproductos de la industria azucarera se producen anualmente en grandes cantidades, lo que crea problemas de eliminación, se compone principalmente de polisacáridos que constan de aproximadamente (base seca) 22-24% de celulosa, 30 hemicelulosas y 15-25% de pectina, presenta una fuente de materia prima interesante para producción de enzimas. La melaza del procesamiento de la remolacha azucarera contiene hasta un 54% de azúcares que se pueden usar directamente para la fermentación sin ninguna modificación (Mihajlovski *et al.*, 2016).

1.11 Análisis y diseño de experimentos

El análisis y el diseño del experimento es una estrategia de planificación experimental para hacer conclusiones apropiadas de manera efectiva y financiera. El uso del diseño experimental ha crecido significativamente en los últimos años, ya que se reconoce que los experimentos diseñados son esenciales para mejorar la calidad de los productos y servicios. Históricamente, el diseño de experimentos ha evolucionado y prosperado en las áreas agrícolas, la medicina y los procesos industriales entre otros (Napolitano, 2010).

1.11.1. Diseños factoriales

Este tipo de diseño se utiliza para experimentos con dos o más factores porque suelen ser los más eficientes. En este diseño se investigan todas las combinaciones posibles entre los niveles de los factores (Fernández, 2020). En un diseño factorial, cada nivel de cada factor independiente se combina con cada uno de los otros niveles para formar todas las combinaciones posibles. Cada una de las combinaciones se convierte en una condición del experimento. Esto produce que los experimentos sean más eficientes, dado que se puede proporcionar información de los efectos de todos los factores en relación a los niveles de los otros (Kuehl, 2001).

1.11.2. Diseño factorial completo 2^k

Un diseño con dos niveles por factor se llama diseño factorial 2^k , es decir, un experimento con k factores donde cada factor puede usar solo dos niveles. Los niveles pueden ser cuantitativos o cualitativos, y se requieren 2^k combinaciones y una réplica para completar dicho diseño. Este diseño describe como realizar los experimentos de la forma más adecuada para conocer simultáneamente que efecto tiene k factores sobre una respuesta y describir si interaccionan entre ellos (Fernández, 2020).

1.12 Optimización

En la optimización el objetivo es definir una función objetivo y definir los mejores valores de las variables del diseño. Se debe realizar un análisis de grados de libertad para un sistema de M ecuaciones y N variables, el número de grados de libertad está dado por $F=N-M$. Dentro de este análisis existen tres casos, $F=0$, el sistema tiene solución única; $F \geq 1$, el sistema puede optimizarse; $F < 0$, el sistema está sobre especificado y el modelo es incorrecto (Ramírez, 2009)

1.12.1. Métodos de superficie para la optimización

La metodología de superficie de respuesta, o MRS, es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas que se pueden utilizar para modelar y analizar problemas en los que la respuesta de interés se ve afectada por múltiples variables, con el objetivo de optimizar esa respuesta. En la mayoría de los problemas de MRS, se desconoce la forma que presenta la relación entre la respuesta y las variables independientes. Por esta razón, en primer lugar, se debe encontrar la aproximación adecuada de la verdadera relación funcional entre Y y el conjunto de variables independientes. A menudo, los polinomios de bajo orden se utilizan en regiones de la variable independiente. Si la respuesta está bien modelada por una función lineal de las variables independientes, podemos inferir que la aproximación es un modelo de primer orden, ecuación 1.1:

(1.1)

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots + \beta_k x_k + \epsilon$$

Si hay alguna curvatura en el sistema, se debe usar un polinomio de orden superior, así como se realiza en el modelo de segundo orden, ecuación 1.2:

(1.2)

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon$$

En la mayoría de los problemas de MSR se usa alguno de estos modelos, o pueden ser los dos. Aunque, es probable que un modelo polinomial sea una aproximación razonable de la verdadera relación funcional en el espacio completo de las variables independientes, pero para una zona relativamente pequeña funcionan muy bien (Montgomery, 2017).

Los mínimos cuadrados son un método muy común utilizado para encontrar los parámetros de los polinomios de aproximación. Luego se lleva a cabo el análisis de la superficie de respuesta empleando la superficie ajustada. Si la superficie ajustada es una aproximación aceptable de la verdadera función de la respuesta, por lo tanto, el análisis de la superficie ajustada será una buena aproximación del análisis del sistema real. Los parámetros del modelo pueden evaluarse de manera más eficiente cuando se ocupan los diseños experimentales adecuados para recolectar los datos. (Montgomery, 2017).

1.12.2. Diseños experimentales para ajustar superficies de respuesta

Elegir el diseño experimental adecuado puede facilitar en gran medida el ajuste y el análisis de la superficie de respuesta. Al elegir un diseño de superficie de respuesta, algunas de las características de diseño deseadas son:

1. Proporcionar una distribución razonable de puntos de datos (y la información correspondiente) en la región de interés.
2. Esto permite que los modelos de adecuación se exploren, incluida la falta de ajustes.
3. Logra que los experimentos se hagan en bloques.
4. Consigue construir secuencialmente diseños de orden superior.
5. Da una estimación del error interno.
6. Provee cálculos precisos del coeficiente del modelo.
7. Proporciona una buena visión general de la varianza de la predicción en el área experimental.

8. Otorga una solidez razonable a los valores atípicos o faltantes.
9. No necesita un gran número de corridas.
10. No demanda demasiados niveles de las variables independientes.
11. Esto proporciona simplicidad en el cálculo de los parámetros del modelo.

Estas características entran en conflicto en ocasiones, por lo que con frecuencia debe aplicarse la discrecionalidad al seleccionar un diseño (Montgomery, 2017).

1.12.3. Diseños Box-Behnken

Box y Behnken en 1960 plantearon un tipo de diseños de 3 niveles para evaluar las superficies de respuesta de segundo orden. Los diseños son giratorios, o casi giratorios, con menor número de corridas experimentales en comparación con los diseños 3^n . Se componen con la combinación de diseños 2^n y diseños de bloques incompletos. En la Figura 1.3 se presenta el diseño Box-Behnken para 3 factores.

Factor	A	B	C
Nivel codificado	X_1	X_2	X_3
	-1	-1	0
Factorial 2^2 para	+1	-1	0
A y B	-1	+1	0
	+1	+1	0
	-1	0	-1
Factorial 2^2 para	+1	0	-1
A y C	-1	0	+1
	+1	0	+1
Factorial 2^2 para	0	-1	-1
B y C	0	+1	-1
	0	-1	+1
	0	+1	+1
	0	0	0
Centro del diseño	0	0	0
	0	0	0

Figura1.3 Diseño coordinado Box-Behnken para 3 factores

Estos diseños son esféricos más que cuboidales puesto que los puntos del diseño se encuentran en las orillas de un cubo en lugar de en las esquinas como los del diseño de cubo con cara centrada. El diseño de Box-Behnken sólo debe usarse si no se tiene interés en predecir las respuestas en las esquinas de la región cuboidal (Kuehl, 2001).

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación y experimentación se llevó a cabo en el laboratorio de Cristalización y Generación de Biocombustibles. Sección Plantas Piloto. División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México campus Orizaba.

3.1 Materiales

Celda de combustible microbiana de circuito cerrado, los componentes principales en una CCM de circuito cerrado son cámara de ánodo, cámara de cátodo, puente de intercambio de protones, electrodos y el circuito eléctrico. En la Figura 2.1 se muestra los principales componentes de una CCM de circuito cerrado.

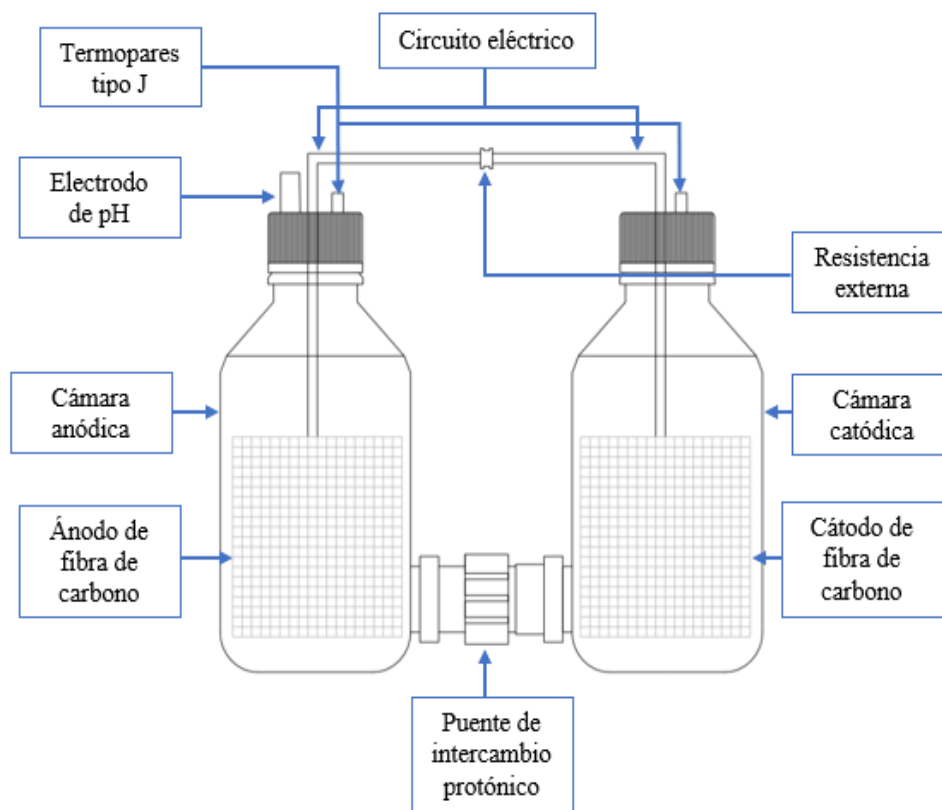


Figura 12 Celda de combustible microbiana de circuito cerrado

La cámara anódica como la catódica está constituida por un frasco de vidrio Schott Duran con rosca de 1000 mL, en la cámara anódica es donde se contiene el sustrato

(melaza) que serán digeridos por el microorganismo (*Escherichia Coli*). Los electrodos encargados del transporte de electrones y protones están hechos de fibra de carbono. La medición de la temperatura se realizó con ayuda de termopares tipo J que tienen un rango de -200°C a 1200°C.

Chasis CompactDAQ USB, 8 ranuras

El Chasis CompactDAQ 9178 es un dispositivo que fue creado para sistemas pequeños y portátiles de medidas de sensor, este chasis se puede usar con una combinación de módulos de E/S de la serie C para poder realizar diversas medidas de E/S analógica, E/S digital y contador temporalizador, este dispositivo es fabricado por National Instruments, Inc.

NI-9263- Modulo de salida de voltaje de serie C, 100 ks/s/cand

Es un módulo de salida de voltaje de la serie C que consta de cuatro canales fabricado por National Instruments, con frecuencia máxima de muestreo de 100 kS/s por canal y un rango de voltaje salida analógica de ± 10 V. Este circuito tiene protección contra sobretensiones y cortocircuitos.

NI-9211- Modulo de entrada de temperatura de la serie C, 4 canales 14 s/s Acumulado, ∓ 80 mV

El NI-9211 incluye filtros anti-aliasing, detección de termopares abiertos y compensación de unión fría para medidas de termopares de alta presión. Este módulo tiene certificados de calibración trazable y doble barrera de aislamiento de canal a tierra para seguridad, inmunidad a ruido y alto rango de voltaje de modo común, este dispositivo es fabricado por National Instruments, Inc.

NI-9481- Modulo de salida de relé de la serie C, 4 canales, relé SPST, 60 VDC(1A) /250 Vrms (2A)

Este módulo tiene cuatro canales y está diseñado para cualquier chasis CompactDAQ o compactRIO. Cada uno de estos canales da acceso a un relé electromecánico, este dispositivo es fabricado por National Instruments, Inc.

Cable USB para chasis CompactDAQ

Conecta cualquier dispositivo DAQ USB al puerto USB de su PC.

Membrana Nafion N117

El polímetro plástico Nafion® N-117 PFSA DuPont™, universalmente usado como electrolito base para intercambio iónico de pilas de combustible y electrolizadores PEM (Protón Exchange Membrane), es una simple membrana transparente. Esta membrana actúa como un separador y electrolito sólido en una variedad de células electroquímicas que requieren que la membrana sea selectiva al transporte de cationes entre las uniones de la pila. El polímero es químicamente estable y duradero. Es una lámina de plástico transparente capaz de transportar iones H^+ a través de la estructura del polímero. La N-117 se caracteriza por tener un espesor de 183µm.

3.2 Métodos

Esta investigación se trabajó con la siguiente metodología en primer lugar, se implementó un sistema de aislamiento térmico con el cual se disminuyó la variación de temperatura, posteriormente se determinó el nivel de alimento/microorganismo que dé como respuesta el menor tiempo en el que se produzca electricidad, después se empleó un diseño factorial 2^K para encontrar las variables que sean más significativas en la variable de respuesta “producción de electricidad”. Para finalizar, se eligieron las variables más significativas para crear un diseño Box-Benhken, el cual se usó para aplicar la metodología de superficie de respuesta, esto con el fin de encontrar los

valores óptimos que maximizan la producción de bioelectricidad. En la Figura 2.2 se muestra la metodología general.

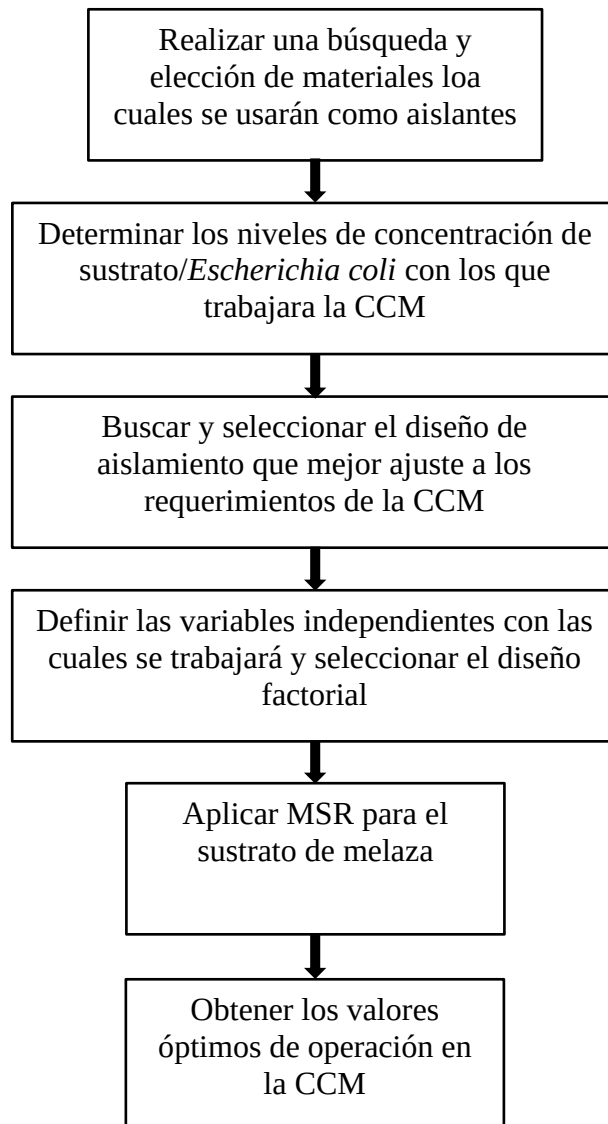


Figura 12 Metodología general para optimizar los parámetros de una CCM.

3.3 Aislantes térmicos

Quintero (2021) menciona que la temperatura de las cámaras del ánodo (CA) y del cátodo (CC) tendió a disminuir y aumentar durante este proceso, lo que resultó en un tiempo de aclimatación más prolongado para que lo usaran las bacterias. A partir de los resultados obtenidos, se observa que a medida que disminuye la temperatura, el

voltaje generado permanece constante o disminuye ya que se alejaba del rango de temperatura óptimo para el crecimiento bacteriano. Por esta razón se necesita implementar un sistema térmico para disminuir la variabilidad causada por el factor no controlable “Temperatura”.

2.3.1. Construcción del diseño de bloques completos al azar (DBCA) para la elección del material aislante

El interés de la construcción del diseño de bloques es estudiar las medias entre los bloques mediante el estadístico $F_0 = MS_{\text{Bloques}}/MS_E$. La hipótesis nula utilizada es $H_0: \beta_j = 0$ y la hipótesis alterna es $H_1: \beta_j \neq 0$. Donde MS_{Bloques} es el cuadrado medio de los bloques, MS_E es el cuadrado medio del error y β_j es el efecto del bloque j -ésimo.

Para este diseño la aleatorización se aplica dentro sólo a los tratamientos dentro de los bloques, es decir, los bloques representan una restricción a la aleatorización. Como procedimiento aproximado para investigar el efecto de la variable formación de bloques examinar el coeficiente MS_{Bloques}/MS_E es muy razonable. Si este cociente es muy grande, implica que el factor formación de bloques tiene un efecto considerable (Montgomery, 2017).

Se realizaron las configuraciones de enchaquetado con las mismas dimensiones en matraces Erlenmeyer de un litro, simulado ser la cámara anódica de la celda de combustible microbiana. Para estas configuraciones se utilizaron 2 materiales distintos, espuma de polietileno y espuma de poliuretano. Apoyándose en el diseño de bloques completos al azar se elegirá el material que tenga mayor variabilidad con respecto al matraz que no tiene recubrimiento, esto indicará cual es el mejor material para disminuir la transferencia de calor entre el ambiente y el interior de la cámara anódica.

Para esto se realizó un diseño de bloques completos aleatorizados, Tabla 2.1, en donde los bloques serán:

- 1.- Matraz Erlenmeyer sin configuración térmico (Bloque I).
- 2.- Matraz Erlenmeyer con recubrimiento de espuma de polietileno (Bloque II).
- 3.- Matraz Erlenmeyer con recubrimiento de espuma de poliuretano (Bloque III).

La variable de respuesta es el decremento de la temperatura en rangos de tiempo establecidos de media hora.

Tabla 12 Diseño de bloques completos al azar.

Tiempo (horas)	Bloque		
	Sin configuración térmica	Espuma de polietileno	Espuma de poliuretano
0	--	--	--
0.5	--	--	--
1	--	--	--
1.5	--	--	--
2	--	--	--
2.5	--	--	--
3	--		
3.5	--	--	--
4	--	--	--

2.4. Diseño factorial 2^2 para la elección del parámetro de operación alimento/microorganismo

Para encontrar la relación A/M se realizará un diseño 2^2 , con este diseño se busca encontrar el efecto de los factores puros, así como las interacciones que existe entre ellos en relación con la variable de respuesta. En la Tabla 2.2 se muestra la matriz de diseño factorial 2^2 ; en la Tabla 2.3 se presenta la matriz de diseño con los factores codificados.

Factores codificados: A= Concentración del inóculo (g/L); B= Concentración de melaza (g/L).

Variable de respuesta: Tiempo que transcurre antes de la generación de electricidad (min).

Tabla 2.4. Matriz del diseño factorial 2^2 .

Factores	Niveles del factor	
	-1	1
Concentración de inóculo	5 mL licor de melaza con <i>E. coli</i> (sólidos suspendidos del licor)	10 mL licor de melaza con <i>E. coli</i> (sólidos suspendidos del licor)
Concentración de melaza	10 g/L DQO	50 g/L DQO

Tabla 2.4 Factores codificados del diseño 2^2

Corrida experimental	Factores codificados	
	A	B
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	-1	-1
6	1	-1
7	-1	1

3.5 Diseño factorial 2^k para encontrar las variables significativas en la generación de bioelectricidad

En la elección del diseño factorial se optó por el diseño factorial 2^k , debido a que es de gran utilidad en las etapas preliminares del trabajo experimental, cuando generalmente se están estudiando el efecto de varios efectos. La ventaja de este

diseño es que proporciona el menor número de corridas con las que pueden estudiarse los K factores en un diseño factorial completo.

2.5.1. Elección de las variables

Las variables independientes que se consideraron para realizar el diseño factorial son: resistencia externa, área de contacto del ánodo, tiempo y pH. La variable de respuesta es la cantidad de bioelectricidad generada.

La resistencia externa regula tanto la disponibilidad del ánodo como aceptor de electrones como el flujo de electrones a través del circuito, también influye en la generación de energía, la remoción del DQO y la producción de biomasa (Jung y Pandit, 2019). Por la ley de ohm se sabe que la resistencia externa afecta directamente la corriente eléctrica, es por esto que se busca determinar si la resistencia externa tiene un efecto significativo que deba tomarse en cuenta como una variable de control en la metodología de superficie de respuesta.

En el caso del ánodo se sabe que la eficiencia del transporte de electrones en una CCM depende del material del cual este hecho, uno de los materiales más usados por su eficiencia y costo es la fibra de carbono, con un área superficial mayor existe mayor contacto de los microorganismos electrogénicos con la materia orgánica presente en el sustrato para degradarlo y de esta manera donar sus electrones al ánodo, incrementando la generación de bioelectricidad, tal como lo menciona (Antonili, 2015), por esta razón se estudió el efecto en la variable de respuesta.

La variable de tiempo se usará debido a que es uno de los parámetros más importantes en el crecimiento de los microorganismos, es por lo que se desea estudiar su efecto en el funcionamiento de una CCM.

La última variable considerada es el pH puesto que es una de las condiciones de las que depende el desarrollo de los microorganismos, se estudiará si tiene un efecto significativo.

2.5.2. Diseño factorial 2^k

Este proyecto se trabajará con cuatro factores por lo tanto el diseño es un 2^4 , para poder determinar si existen factores que tengan un efecto significativo sobre la generación de bioelectricidad y cuales son, para posteriormente utilizar los factores en un diseño Box-Benhken. En este requieren 16 corridas experimentales con dos replicas dando un total de 32 corridas.

En la Tabla 2.4 se muestra la matriz del diseño con los 4 factores a estudiar utilizando como variable de respuesta la cantidad de bioelectricidad generada.

Tabla 2.4 Matriz de diseño con niveles bajos y altos de los factores empleados en el diseño factorial 2^4 .

Factores	Niveles del factor	
	-1	1
Resistencia externa (Ω)	68	100
Área del ánodo (cm^2)	160	216
Tiempo (h)	18	22
pH	5.5	7.5

Factores codificados:

A: resistencia externa (ohm); B: Área del ánodo (cm^2); C: Tiempo (h); D: pH.

Variable de respuesta: Voltaje (mV).

En la Tabla 2.5 se presenta la matriz de diseño factorial 2^4 con los factores independientes codificadas, la variable de respuesta es la cantidad de bioelectricidad producida.

Tabla 2.4 Factores codificados empleados en el diseño factorial 2^4 .

Corrida experimental	Factores codificados			
	A	B	C	D
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1

2.6 Optimización de parámetros de parámetros de operación

2.6.1. Elección del diseño experimental para ajustar la superficie de respuesta

Se eligió el diseño Box-Behnken porque requieren un número bajo de corridas experimentales. Este diseño no tiene puntos axiales, por lo que se puede estar seguro de que todos los puntos de diseño se encuentran dentro de su zona de operación

segura. Además, este diseño también asegura que no se establezcan todos los factores en sus niveles altos al mismo tiempo. En la Tabla 2.6 se observa la matriz de diseño Box-Benhken para 3 variables.

Tabla 6 Matriz de diseño Box-Benhken para 3 variables

Corrida experimental	Variables independientes		
	A	B	C
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	-1	0	1
7	1	0	-1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	-1	1
11	0	1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Factores codificados: A: pH; B: Tiempo (h); C: Área del ánodo (cm²).

Variable de respuesta: Voltaje (mV).

Este diseño se empleará para encontrar los para la metodología de superficie de respuesta, utilizando los factores de pH, Tiempo y Área del ánodo, la variable de respuesta será el voltaje obtenido con la finalidad de encontrar los niveles de los factores que optimicen la generación del voltaje.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Elección del material aislante

3.1.1. Materiales empleados en la experimentación

Se utilizaron como aislantes térmicos espuma de polietileno y espuma de poliuretano. La espuma de poliuretano tiene las ventajas de tener una baja densidad, capacidad térmica baja y resistencia a la compresión relativamente buena. La espuma de poliuretano es un excepcional aislamiento térmico frente a condiciones frías, ya que su conductividad térmica es excepcionalmente baja ($0.028 \text{ w/m}^{\circ}\text{K}$), por lo inyectado o proyectado consigue una alta resistencia térmica y una gran oposición a la transferencia de calor en el invierno.

Las espumas de polietileno tienen diferentes composiciones químicas y densidades dependiendo su fabricación, es un polímero de enlaces cruzados químicamente que retiene todas las buenas cualidades del polietileno y mejora las propiedades relativas de fluidez plástica y a la resistencia contra el agrietamiento debido a las tensiones de esfuerzo. El enlace cruzado también sobrepasa cualquier tendencia que pueda tener el aislante a agrietarse, debido a los esfuerzos térmicos y del ambiente. El comportamiento de envejecimiento al calor de este aislante, es superior al de la mayoría de los aislantes termoestables y está clasificado para uso a temperatura de conductores que no excedan los 120°C .

3.1.2. Análisis comparativo de los materiales aislantes utilizando (DBCA)

Para el análisis comparativo se construyó un diseño de experimentos conocido como diseño de bloques completamente al azar, donde cada material fue tratado como un bloque en el cual se realizaron tratamientos en diferentes tiempos. Las corridas experimentales del diseño fueron realizadas en días diferentes con temperatura ambiente diferente.

Hipótesis nula, $H_0: \beta_j=0$; no existe diferencias en los efectos de los bloques.

Hipótesis alternativa, $H_1: \beta_j \neq 0$; existe diferencias en al menos un efecto de bloque.

En la Tabla 3.1 se muestra la estructura del diseño de bloques completamente al azar. Las lecturas de temperatura se obtuvieron en rangos de 30 min, el propósito de este experimento fue observar la variación de temperatura que tenía cada bloque con respecto al tiempo y así poder elegir con ayuda de la prueba F cual material aislante tiene mayor variabilidad con respecto al matraz sin configuración térmica.

Bloque I = matraz sin configuración térmica.

Bloque II= matraz con espuma de polietileno.

Bloque III= matraz con espuma de poliuretano.

Primer experimento, temperatura ambiente (22 °C):

Tabla 1 Primer experimento del diseño de bloques completos al azar

Tiempo (horas)	Bloque		
	Sin configuració térmica	Espuma de polietileno	Espuma de poliuretano
	Temperatura (°C)		
0	81	81	81
0.5	56	57	65
1	44	46.2	58.5
1.5	36	39.6	53.2
2	33	35	48.6
2.5	28	31.7	44.8
3	26	30	43
3.5	25	28.7	41
4	23	26.5	39.3

Análisis estadístico para el bloque I y el bloque II.

En la Tabla 3.2 se muestra el análisis estadístico del bloque I y II, donde se observa que el valor de F obtenida (F_0) es mayor que el valor F estadística ($F_{\alpha, ab-1, (a-1)(b-1)}$). Donde a= tratamientos y b= bloques; La hipótesis nula utilizada es $H_0: \beta_j=0$ y la hipótesis alterna es $H_1: \beta_j \neq 0$.

$F_0 > F_{0.05, 9-1, (9-1)(2-1)}$.

$F_0 > F_{0.05, 8, 8}$; para este caso el valor de F estadística es 3.44.

$31.17 > 3.44$.

Tabla 1 Análisis de varianza del bloque I y II.

Fuente	GL	Suma de cuadrados Ajust.	Cuadrado medio Ajust.	Valor F	Valor p
Bloque	1	31.20	31.205	31.17	0.001
Tiempo	8	5341.92	667.740	666.91	0.000
Error	8	8.01	1.001		
Total	17	5381.14			

De acuerdo con el valor obtenido mediante el análisis estadístico se nota que la configuración de polietileno afecta de manera significativa el comportamiento de pérdida de calor.

Análisis estadístico para el bloque I y el bloque III.

En la Tabla 3.3 se muestra el análisis obtenido para el bloque I y III, para este análisis se compara la F estadística, que tiene el mismo valor que el caso anterior, 3.44.

Tabla 1 Análisis de varianza para el bloque I y el bloque III

Fuente	GL	Suma de cuadrados Ajust.	Cuadrado medio Ajust.	Valor F	Valor p
Bloque	1	846.0	845.98	51.19	0.000
Tiempo	8	4186.0	523.25	31.66	0.000
Error	8	132.2	16.53		
Total	17	5164.2			

El valor obtenido para F es 51.19 que es mayor a 3.44.

$51.19 > 3.44$.

Este resultado indica que la configuración de poliuretano tiene un efecto significativo sobre la transferencia de calor.

Las pruebas se realizaron en condiciones iguales para así poder tener un criterio de elección válido entre las dos configuraciones de polietileno y poliuretano, para hacer la elección se compara el valor de F obtenido para cada bloque. Se observa que el valor de F para la espuma de poliuretano es de 51.19 que en comparación del valor de F para la espuma de polietileno 31.17 es mayor, con estos datos podemos elegir la espuma de poliuretano ya que esta tiene mayor efecto sobre la variación de la temperatura con respecto al tiempo.

En la Figura 3.1 a) se puede observar el matraz sin aislante alguno, en la Figura 3.1 b) se presenta el matraz con un recubrimiento de espuma de poliuretano con grosor de 1 cm., en la Figura 3.1 c) se muestra el matraz con recubrimiento de espuma de polietileno con grosor de 1 cm.

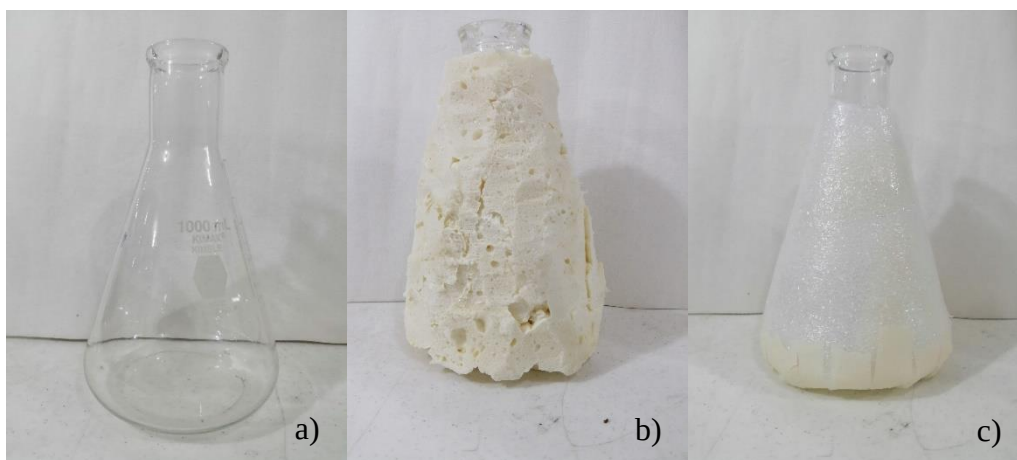


Figura 3.1.2 Configuraciones de los aislantes tratados como bloques.

El experimento número 2 se realizó a una temperatura ambiente de 25 °C, la temperatura inicial de la muestra fue de 78 °C se midió el cambio de temperatura

durante 4 horas por intervalos de 30 min. En la Tabla 3.4 se muestra el análisis de varianza para bloque I y II en el experimento 2.

Tabla 3.1.24 Análisis de varianza del bloque I y II en el experimento número 2.

Fuente	GL	Suma de cuadrados Ajust.	Cuadrado medio Ajust.	Valor F	Valor p
Bloque	1	361.80	361.80	34.18	0.000
Tiempo	8	3700.29	462.54	43.69	0.000
Error	8	84.69	10.59		
Total	17	4146.78			

El valor para F estadística será el mismo para todos los experimentos empleados en esta sección puesto que el diseño tiene el mismo número de tratamientos y mismo número de bloques.

$34.18 > 3.44$, esto indica que el bloque tiene un efecto significativo.

En la Tabla 3.5 se muestra el análisis de varianza para el bloque I y III en el experimento 2.

Tabla 3.1.2 Análisis de varianza para el bloque I y III en experimento 2.

Fuente	GL	Suma de cuadrados Ajust.	Cuadrado medio Ajust.	Valor F	Valor p
Bloque	1	1203.8	1203.77	55.09	0.000
Tiempo	8	3217.6	402.20	18.41	0.000
Error	8	174.8	21.85		
Total	17	4596.2			

Al comparar el efecto del bloque II y III sobre el bloque I se observa que el bloque III tiene mayor impacto sobre la variable de respuesta. Esto se verifica al observar que

el valor de F para el bloque III sobre el bloque 1 es de 55.09 mayor que el valor de F en el bloque II sobre el bloque I que es de 34.18

El experimento de bloques se realizó 5 veces para corroborar la validez de los resultados. En la Tabla 3.6 se presentan los 5 experimentos que fueron realizados a temperaturas ambiente de 22, 25, 23, 24 y 27 °C respectivamente, en la Tabla 3.6 se muestra que los valores de F para el bloque III sobre el bloque I son mayores que los del bloque II sobre el bloque I.

Tabla 16 Resultados de los 5 experimentos.

Experimento	Temperatura ambiente (°C)	Valor de F para el bloque II sobre el bloque I	Valor de F para el bloque III sobre el bloque I	Bloque con mayor efecto sobre la variabilidad de la temperatura
1	22	31.17	51.19	III
2	25	34.18	55.09	III
3	23	41.10	54.84	III
4	24	39.08	53.31	III
5	27	46.33	59.51	III

Con los datos obtenidos se eligió que la mejor configuración del aislante térmico es la espuma de poliuretano. El resultado obtenido concuerda con el resultado esperado ya que el poliuretano tiene mayor resistencia térmica que el polietileno.

3.1.3. Cálculo del grosor de la espuma de poliuretano en la cámara anódica

Para este cálculo se utilizó la Ec. (3.1) de pérdida de calor en una tubería (Bird et al., 2006):

$$q = \frac{\pi * (t_s - t_a)}{\left(\frac{2.3}{2 * k_c}\right) * \log\left(\frac{D_2}{D_1}\right) + \left(\frac{1}{h_a * D_2}\right)}$$

(3.1)

Donde:

$q \left(\frac{W}{m}\right)$ es el calor perdido, t_s (K) es la temperatura dentro del reactor, t_a (K) es la temperatura ambiente, $k_c \left(\frac{W}{m \cdot K}\right)$ es la conductividad térmica de la espuma de poliuretano, D_1 (m) es el diámetro del reactor, D_2 (m) es el diámetro del reactor más el espesor de la espuma, $h_a \left(\frac{W}{m^2 \cdot K}\right)$ es el coeficiente superficial de transferencia de calor. En el primer paso se determinó la pérdida de calor sin aislante utilizando t_s deseado para el proceso de 30 °C y una temperatura ambiente de 23 °C.

Los valores utilizados fueron:

$$t_s = 303.15 \text{ K}$$

$$t_a = 296.15 \text{ K}$$

$$K_c = 0.028 \frac{W}{m \cdot K}$$

$$D_1 = 0.1 \text{ m}$$

$$D_2 = 0.1 \text{ m}$$

$$h_a = 10.327 \frac{W}{m^2 \cdot K}$$

Sustituyendo los valores en la ecuación 3.1

$$q = \frac{\pi * (303.15 \text{ K} - 296.15 \text{ K})}{\left(\frac{2.3}{2 * 0.028 \left(\frac{W}{m \cdot K}\right)}\right) * \log\left(\frac{0.1}{0.1}\right) + \left(\frac{1}{10.327 \left(\frac{W}{m^2 \cdot K}\right) * 0.1 \text{ m}}\right)}$$

$$q = 22.7114 \frac{W}{m}$$

Probando con diferentes espesores se optó por 3 cm de grosor para el aislante ya que reduce cerca de un 90 % de pérdida de calor.

Calculo para la pérdida de calor con un grosor de 6 cm de espuma de poliuretano que se le aumenta a D_2 :

Los valores utilizados fueron:

$$t_s = 303.15 \text{ K}$$

$$t_a = 296.15 \text{ K}$$

$$K_c = 0.028 \frac{\text{W}}{\text{m} \cdot \text{K}}$$

$$D_1 = 0.1 \text{ m}$$

$$D_2 = 0.16 \text{ m}$$

$$h_a = 10.327 \frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}$$

Sustituyendo los datos en la ecuación 3.1

$$q = \frac{\pi * (303.15 \text{ K} - 296.15)}{\left(\frac{2.3}{2 * 0.028 \left(\frac{\text{W}}{\text{mK}} \right)} \right) * \log \left(\frac{0.16}{0.1} \right) + \left(\frac{1}{10.327 \left(\frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}} \right) * 0.16 \text{ m}} \right)}$$

$$q = 2.4465 \frac{\text{W}}{\text{m}}$$

3.1.4. Implementación de la espuma de poliuretano en la cámara anódica

Se utilizó espuma de poliuretano marca Comex, se lijo de manera suave la cámara anódica para que la espuma se lograra fijar de manera adecuada. Se procedió a adherir la espuma y se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se cortó la espuma para que quedara con un grosor de 6 cm.

En la Figura 3.2 se observaba la celda de combustible microbiana con la cámara anódica con el recubrimiento térmico de espuma de poliuretano.



Figura 3.2 Celda de combustible microbiana con recubrimiento de espuma de poliuretano en la cámara anódica.

3.2 Determinación del parámetro de operación alimento/microorganismo

3.2.1. Cultivo de la bacteria *Escherichia coli*

La bacteria *E. coli* fue donada por el hospital Covadonga Orizaba, ubicado en sur 5 398, Centro, Orizaba, Ver. Se procedió a realizar una siembra en cajas Petri con agar MacConkey.

En la Figura 3.3 se observa la resiembra de la *E.coli* para su preservación, el procedimiento se realizó en condiciones asépticas para evitar algún tipo de contaminación y se utilizó la siembra por estría.

Posteriormente, se inoculó la batería *E. coli* en un sustrato de melaza con una concentración de 2.5 °Brix, este licor se utilizó para inocular la CCM en las corridas experimentales



Figura 3.3 Resiembra de *E. coli* por el método de estría

3.2.2. Identificación de *E. coli* mediante tinción de Gram.

Para verificar que el sustrato contiene *E. coli* se realizó una tinción de Gram, se aplicaron los reactivos (cristal violeta, yodo Lugol, etanol-acetona y safranina), cada uno con sus respectivos tiempos como lo marca la técnica. En la Figura 3.4 se presenta la bacteria *E. coli* vista en el microscopio después de realizarle tinción.

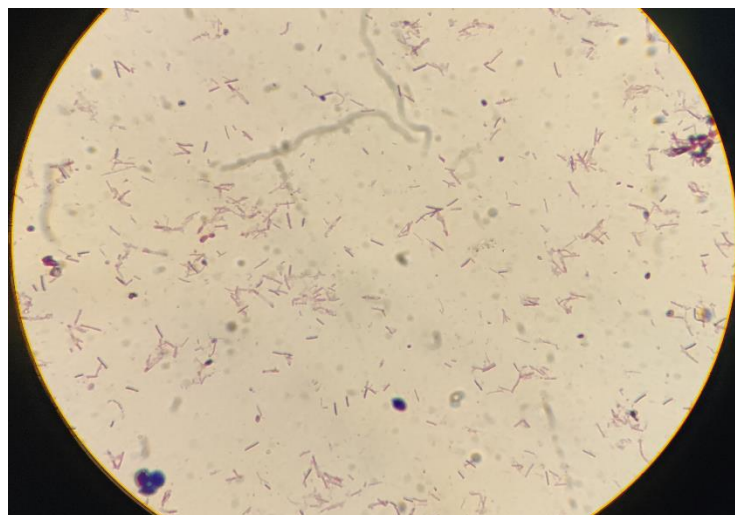


Figura 3.2.2 Tinción de Gram a *E. coli* vista en el microscopio

3.3 Diseño factorial 2^2 para la elección del parámetro de operación alimento/microorganismo

3.3.1. Niveles del sustrato

Se emplearon 2 diluciones de melaza, una para el nivel alto y la otra para el nivel bajo que se utilizó en el diseño de experimentos, posteriormente se determinó la DQO total a las 2 diluciones.

La dilución de melaza en agua para el nivel alto fue de 40 g/L, la cual tiene 34.09 g/L de DQO. La dilución de melaza para el nivel bajo fue de 25 g/L, esta dilución tiene 22.1 mg/L de DQO.

Las diluciones realizadas se fueron procesadas por triplicado.

En la Figura 3.5 se observan las muestras de melaza después del procedimiento para determinar la DQO.



Figura 3.3.15 Determinación de DQO a las muestras de melaza

3.3.2. Niveles del *E. coli*

Se utilizó licor de melaza inoculado con *E. coli*, de este licor se tomaron 2 medidas diferentes una para cada nivel. Los niveles fueron de 5 y 10 mL a los cuales se les determinó la concentración mediante el parámetro sólidos volátiles. El nivel alto para la concentración de sólidos volátiles es 0.0208 g y el nivel bajo es de 0.0104 g.

En la Figura 3.6 se muestra los crisoles con licor de melaza después de ser calcinados en la mufla, de donde se obtiene el peso de los sólidos volátiles.



Figura 3.6 Determinación del peso de los sólidos volátiles para el licor de melaza con *E. coli*

Los datos obtenidos de alimento (DQO) y microorganismos (SV) se usaron para la construcción del diseño factorial 2^2

3.4 Corridas experimentales

La experimentación se hizo por duplicado para tener un análisis de varianza adecuado. Los resultados obtenidos de tiempo vs bioelectricidad la primera replica se ilustra en la Figura 3.7, la Figura 3.8 muestra los resultados obtenidos para la réplica 2.

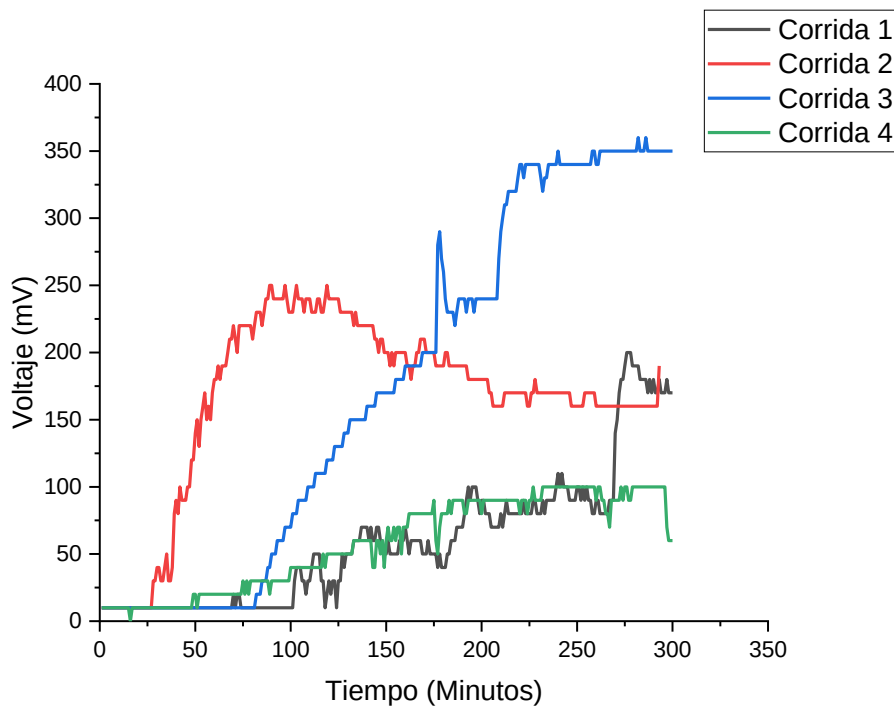


Figura 3.7 Generación de voltaje obtenido en la primera réplica del diseño factorial 2^2

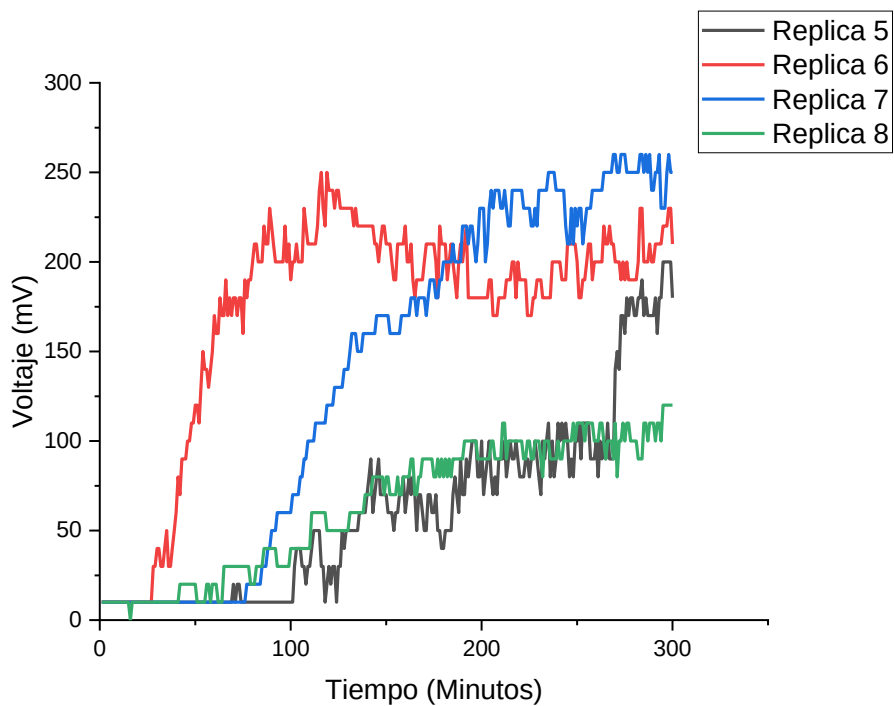


Figura 3.8 Generación de voltaje obtenido en la segunda réplica del diseño factorial 2^2

3.4.1. Análisis de varianza

Fue aplicado el análisis de varianza al diseño factorial 2^2 para obtener información del efecto que tienen las variables de control, concentración de sustrato y concentración de *E. coli*, sobre la variable de respuesta “tiempo”. En la Tabla 3.7 se muestra los resultados del análisis de varianza.

Tabla 3.7 Análisis de varianza del diseño factorial 2^2 .

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	3	53521.0	17840.3	79.03	0.001
Lineal	2	12049.0	6024.5	26.69	0.005
DQO	1	2664.5	2664.5	11.80	0.026
SV <i>E. coli</i>	1	9384.5	9384.5	41.57	0.003
Interacciones de 2 términos	1	41472.0	41472.0	183.71	0.000
DQO*SV <i>E. coli</i>	1	41472.0	41472.0	183.71	0.000
Error	4	903.0	225.8		
Total	7	54424.0			

El análisis de varianza muestra que los dos factores son significativos, así como la interacción que hay entre ellos y tienen efecto sobre la variable de respuesta de acuerdo con el valor p que es menor a 0.05.

3.4.2. Gráfica de interacción de la concentración de sustrato y la concentración de *E. coli*

Fue empleada la gráfica de interacción de factores para observar de forma visual el comportamiento que tiene los factores con respecto a la media de la variable de respuesta. En la Figura 3.9 se visualiza el comportamiento de las interacciones de los dos factores.

De acuerdo a la información obtenida en la tabla de interacción, para obtener un menor tiempo de producción de bioelectricidad debemos trabajar con concentraciones bajas de *E. coli* y concentraciones altas de Melaza.

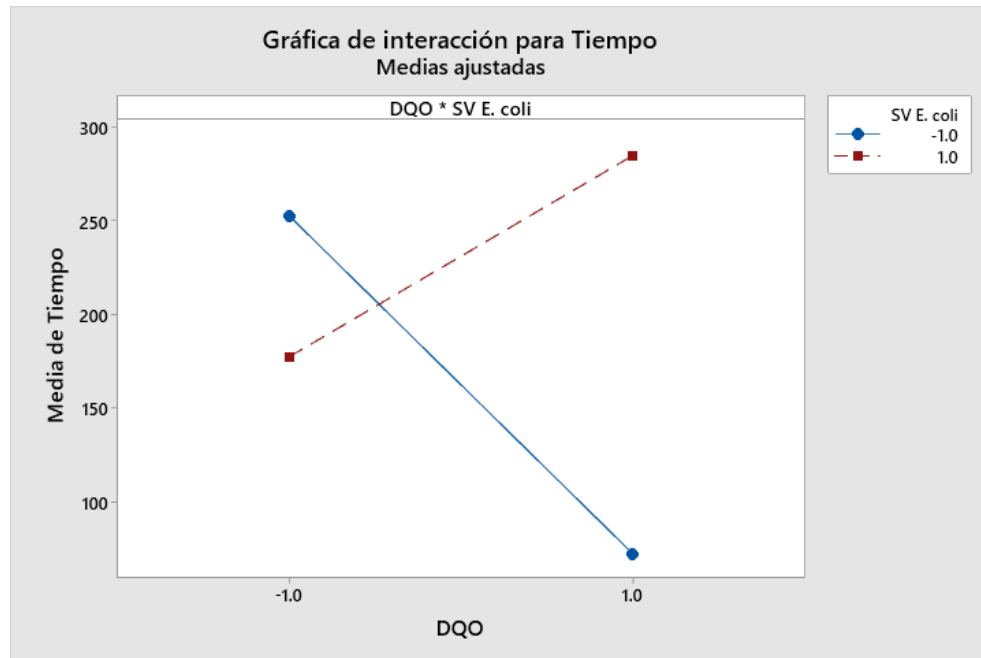


Figura 3.9 Gráfica de interacciones de concentración de sustrato y concentración de *E. coli* con respecto a la media de la variable de respuesta.

Existen dos combinaciones con las que se tienen tiempos bajos para tener una generación de bioelectricidad considerable, la combinación de DQO baja y concentración de *E. coli* alta nos da un tiempo medio de 170 minutos para que se genere un voltaje constante de arriba de 200 mV. la segunda combinación es el nivel bajo de *E. coli* y nivel alto de DQO con la cual se obtiene un tiempo medio de 35 minutos para generar un voltaje constante de arriba de 200 mV.

La relación encontrada es de $\frac{1Kg \text{ de DQO}}{0.00031 Kg \text{ de SV}}$

La relación utilizada comúnmente en el proceso de lodos activados es de $\frac{0.15-0.7 Kg \text{ de DQO}}{(1 Kg \text{ de SV})}$, (Torrescano, 2009)

3.5 Diseño factorial 2^4 para encontrar las variables significativas en la generación de bioelectricidad

Se construyó un diseño factorial 2^4 , utilizando como factores la resistencia externa, el área de electrodos, tiempo de retención y el pH. Teniendo un total de 32 corridas experimentales en donde se incluyen las dos replicas.

3.5.1. Ajuste de pH de la solución de melaza

El pH se ajustó para acidificar y obtener el nivel bajo en el diseño factorial que es 5.5, esto se hizo con una solución de ácido acético al 15 %, para lo cual se utilizaron 1.4 mL. de ácido para cada litro de solución de melaza. Se empleó hidróxido de sodio para ajustar un pH al nivel alto que es 7.5, en este caso se utilizaron 4.6 mL de ácido acético 0.1 normal para un litro de solución de melaza.

3.6 Voltaje obtenido en las corridas experimentales del diseño factorial

Los datos de voltaje se obtuvieron con la ayuda de una placa Arduino, la cual fue programada para obtener lecturas del voltaje cada segundo y almacenarlas en una memoria micro SD, estos datos fueron transportados a una hoja de Excel para su manipulación y análisis. En la Figura 3.10 se observa la generación de voltaje que se obtuvo para las 16 corridas de la primera réplica. El orden de experimentación se realizó de manera aleatoria para reducir el efecto de las condiciones no controladas. En la Tabla 3.8 se muestra los valores de voltaje máximo que se obtuvo en las 32 corridas experimentales del diseño experimental 2^4 .

Los resultados obtenidos fueron expresados de manera gráfica. La mayor generación de voltaje la produjo la corrida experimental 13 (resistencia externa nivel bajo, área del ánodo nivel bajo, tiempo de retención nivel alto y pH nivel alto), la cual su valor más alto fue de 240 mV. En la Figura 3.10 y Figura 3.11, se visualiza el comportamiento de las 16 corridas experimentales que se produjeron para la réplica 1 y 2 respectivamente. En la corrida 21 (resistencia externa nivel bajo, área del ánodo

nivel bajo, tiempo de retencion nivel alto y pH nivel bajo) y en la corrida 26 (resistencia externa nivel alto, área del ánodo nivel bajo, tiempo de retencion nivel bajo y pH nivel alto), ambas corridas lograron 230 mV como nivel maximo.

Tabla 3.8 Voltaje máximo obtenido en el diseño factorial 2⁴

Réplica 1	Máximo voltaje (mV)	Réplica 2	Máximo voltaje (mV)
Corrida 1	130	Corrida 17	210
Corrida 2	110	Corrida 18	160
Corrida 3	80	Corrida 19	70
Corrida 4	40	Corrida 20	80
Corrida 5	170	Corrida 21	230
Corrida 6	140	Corrida 22	180
Corrida 7	140	Corrida 23	160
Corrida 8	190	Corrida 24	90
Corrida 9	230	Corrida 25	160
Corrida 10	130	Corrida 26	230
Corrida 11	120	Corrida 27	80
Corrida 12	60	Corrida 28	140
Corrida 13	240	Corrida 29	210
Corrida 14	220	Corrida 30	180
Corrida 15	100	Corrida 31	190
Corrida 16	200	Corrida 32	150

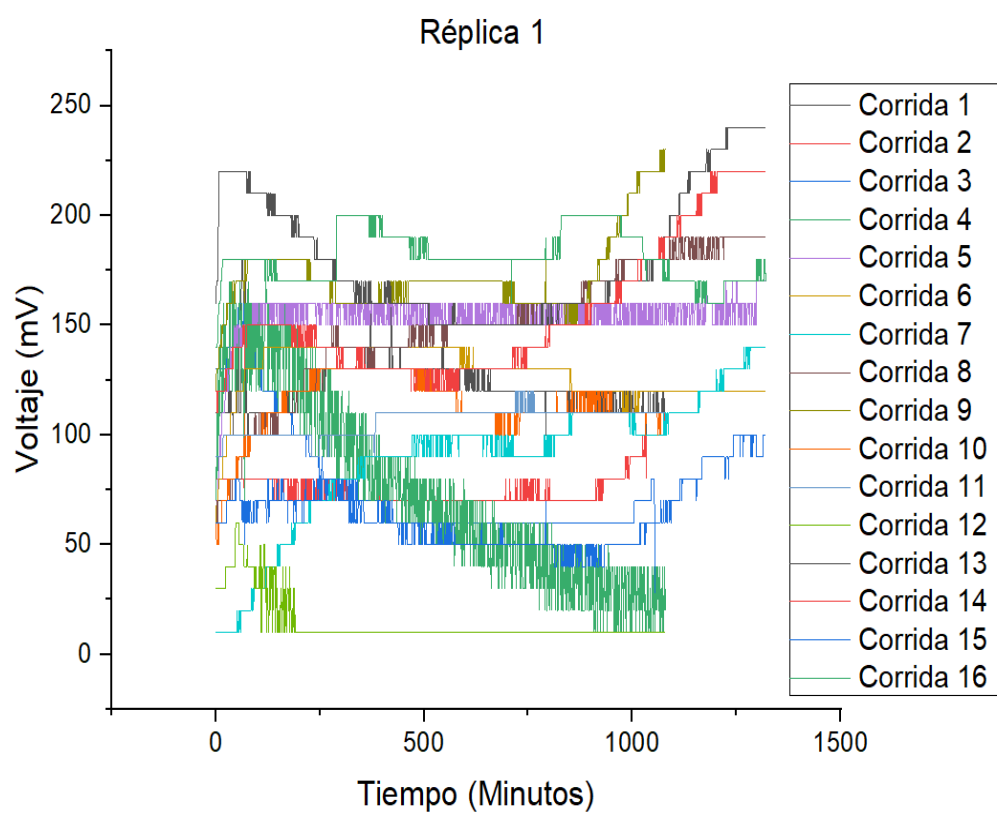


Figura 3.10 Gráfica de la generación de voltaje para la réplica 1 del diseño factorial 2^4

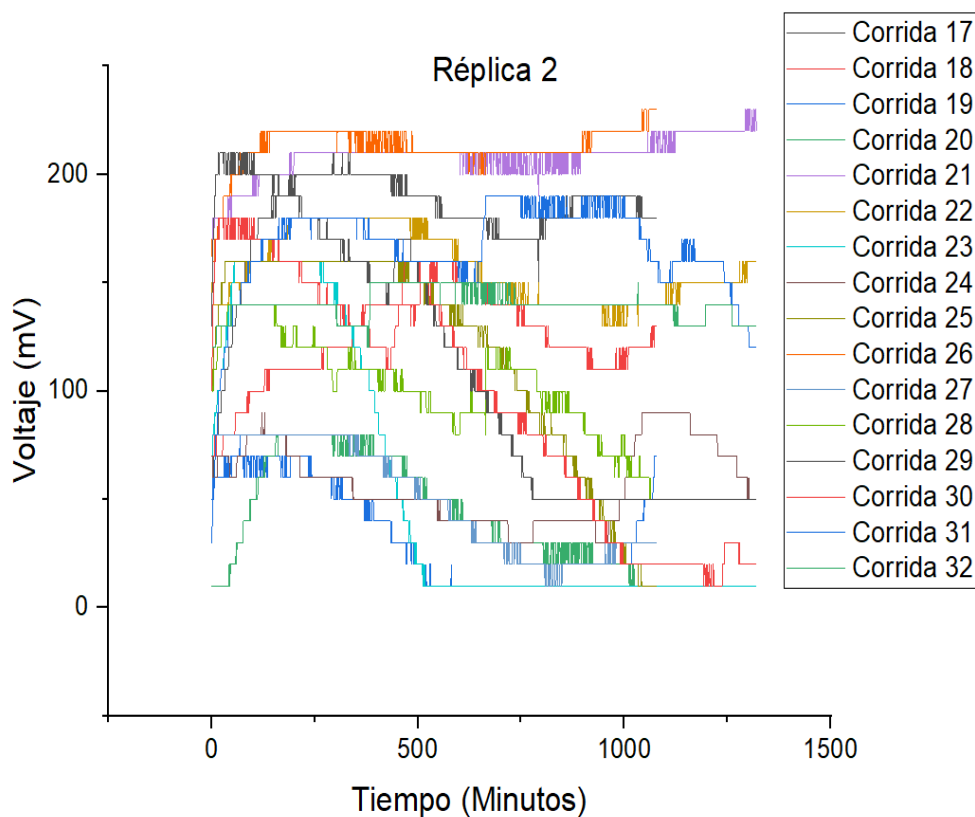


Figura 3.11 Gráfica de la generación de voltaje para la réplica 2 del diseño factorial 2^4

3.7 Análisis de Varianza para el diseño factorial 2^4

Al realizar el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95 se observó que, el factor pH tuvo un valor p de 0.084, apoyándonos de la gráfica de Pareto de efectos estandarizados el factor pH estaba cerca de ser un efecto significativo, con este criterio se hace el análisis de varianza con un nivel de confianza de 90. En la Tabla 3.9 se muestran el resultado del análisis de varianza, se puede observar que los factores resistencia externa, área del ánodo y el tiempo tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta.

Tabla 3.9 Análisis de varianza del diseño factorial 2⁴.

Fuente	GL	SC Ajustados.	MC Ajustados.	Valor F	Valor p
Modelo	15	67487.5	4499.2	2.31	0.053
Lineal	4	59975.0	14993.7	7.71	0.001
Resistencia externa	1	1512.5	1512.5	0.78	0.391
Área del ánodo	1	33800.0	33800.0	17.39	0.001
Tiempo	1	18050.0	18050.0	9.29	0.008
pH	1	6612.5	6612.5	3.40	0.084
Interacciones de 2 términos	6	6875.0	1145.8	0.59	0.734
Resistencia externa*Área del Ánodo	1	1800.0	1800.0	0.93	0.350
Resistencia externa*Tiempo	1	50.0	50.0	0.03	0.875
Resistencia externa*pH	1	1012.5	1012.5	0.52	0.481
Área del ánodo*Tiempo	1	3612.5	3612.5	1.86	0.192
Área del ánodo*pH	1	200.0	200.0	0.10	0.753
Tiempo*pH	1	200.0	200.0	0.10	0.753
Interacciones de 3 términos	4	525.0	131.2	0.07	0.991
Resistencia externa*Área del ánodo*Tiempo	1	312.5	312.5	0.16	0.694
Resistencia externa*Área del ánodo*pH	1	50.0	50.0	0.03	0.875
Resistencia externa*Tiempo*pH	1	50.0	50.0	0.03	0.875
Área del ánodo*Tiempo*pH	1	112.5	112.5	0.06	0.813
Interacciones de 4 términos	1	112.5	112.5	0.06	0.813
Resistencia externa*Área del ánodo*Tiempo*pH	1	112.5	112.5	0.06	0.813
Error	16	31100.0	1943.7		
Total	31	98587.5			

Analizando el diagrama de Pareto de efectos estandarizados (Figura 3.12) se confirma que los 3 factores que tienen efecto significativo sobre la generación de electricidad son el área del ánodo, el pH y el tiempo como factores puros. Empleando un nivel de confianza de 90 % ($\alpha=0.1$).

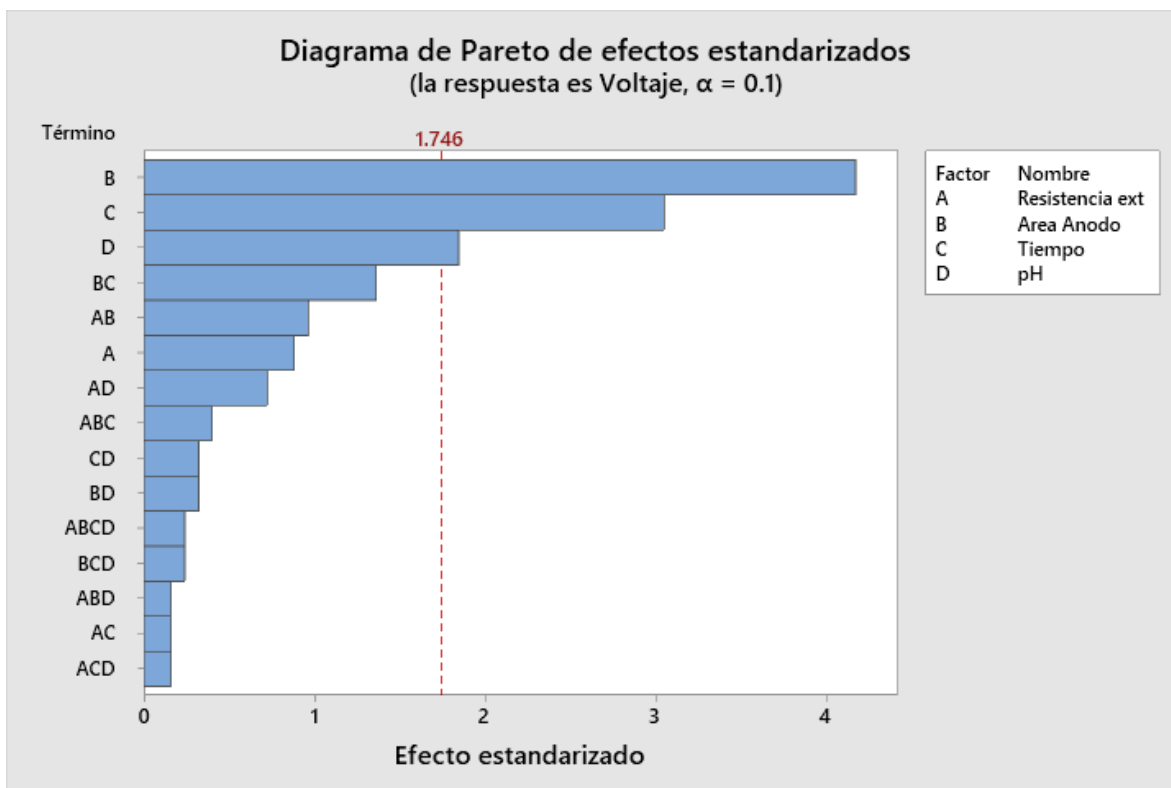


Figura 3.12 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño factorial 2^4

3.8 Ajuste del diseño Box-Behnken para tres factores

El diseño Box-Behnken se ajustó para los factores de pH, tiempo de retención y área del ánodo, estas variables fueron elegidas de acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza del diseño factorial 2^4 . Para estos factores se utilizaron niveles alto, bajo y puntos centrales.

A los factores utilizados se les agregaron niveles medios, para el área del ánodo como nivel medio se usaron 188 cm^2 . Al factor tiempo se ajustaron nuevos valores; para el nivel bajo se utilizaron 16 horas, para nivel medio 18 horas y como nivel alto 24 horas. El factor pH se utilizaron los mismos niveles alto y bajo que se usaron en el diseño 2^4 , sólo se agregó el nivel medio con valor de 6.5.

En la Tabla 3.10 se observa la matriz de diseño empleada en el diseño Box-Behnken con los factores codificados y la variable de respuesta.

Tabla 3.10 Matriz de diseño con niveles bajos, medios y altos de los factores para el diseño Box-Behnken.

Factores	Niveles del factor			Variable de respuesta (voltaje)
	-1	0	1	
Área del ánodo (cm ²)	160	188	216	mV
Tiempo (h)	16	18	24	mV
pH	5.5	6.5	7.5	mV

Posteriormente, se realizaron las pruebas experimentales de manera aleatoria, los resultados fueron graficados y en la Figura 3.13 se resumen los resultados de la primera réplica, la cual contiene 15 corridas. En la Figura 3.14 se presentan los resultados para la segunda réplica. Se puede observar que en estas figuras que su comportamiento es muy variado debido a las combinaciones de las variables.

3.9 Superficie de respuesta Diseño Box-Behnken

Al obtener los datos de las dos replicas se procedió a realizar el análisis de varianza a través de Minitab 19, los datos obtenidos se presentan en la Tabla 3.11 y se observa que el área del ánodo tiene un efecto significativo, así como el efecto cuadrático del tiempo.

De igual manera se obtuvo el diagrama de Pareto de efectos estandarizados como se muestra en la Figura 3.15, donde se corrobora el efecto significativo del área del ánodo y del efecto cuadrático del tiempo.

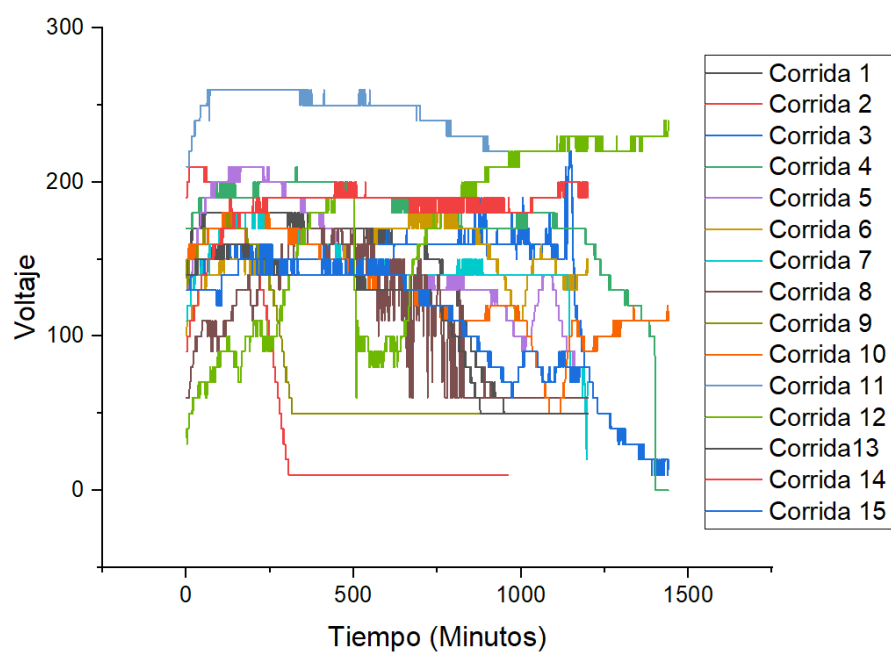


Figura 3.13 Generación de voltaje de la réplica 1 del diseño Box-Benhken.

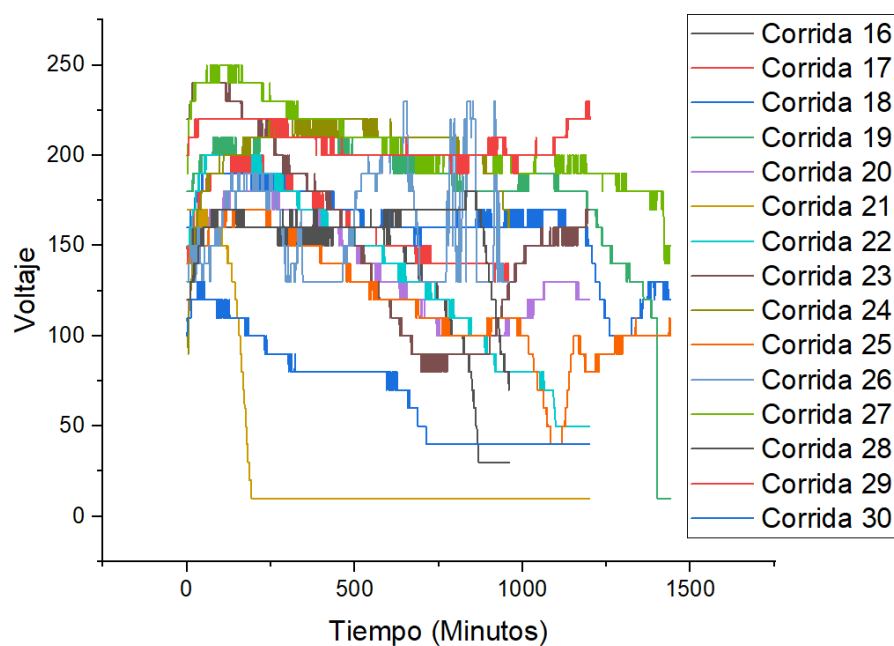


Figura 3.14 Generación de voltaje en la réplica 2 del diseño Box-Benhken.

Las graficas muestran el comportamiento de las corridas experimentales del diseño Box-Benhken, al realizar el análisis de varianza se determina que el factor área del ánodo y un factor cuadrático (tiempo), son significantes para el modelo de predicción cuadrático.

Tabla 3.11 Análisis de varianza para el diseño Box-Benhken

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	12759.2	1417.69	1.85	0.121
Lineal	3	5262.5	1754.17	2.29	0.110
pH	1	306.2	306.25	0.40	0.535
Tiempo	1	56.2	56.25	0.07	0.789
Área del ánodo	1	4900.0	4900.00	6.39	0.020
Cuadrado	3	6121.7	2040.56	2.66	0.076
pH*pH	1	11.5	11.54	0.02	0.904
Tiempo*Tiempo	1	4165.4	4165.38	5.43	0.030
Área del ánodo*Área del ánodo	1	2261.5	2261.54	2.95	0.101
Interacción de 2 factores	3	1375.0	458.33	0.60	0.624
pH*Tiempo	1	450.0	450.00	0.59	0.453
pH*Área del ánodo	1	612.5	612.50	0.80	0.382
Tiempo*Área del ánodo	1	312.5	312.50	0.41	0.530
Error	20	15337.5	766.88		
Falta de ajuste	3	3587.5	1195.83	1.73	0.199
Error puro	17	11750.0	691.18		
Total	29	28096.7			

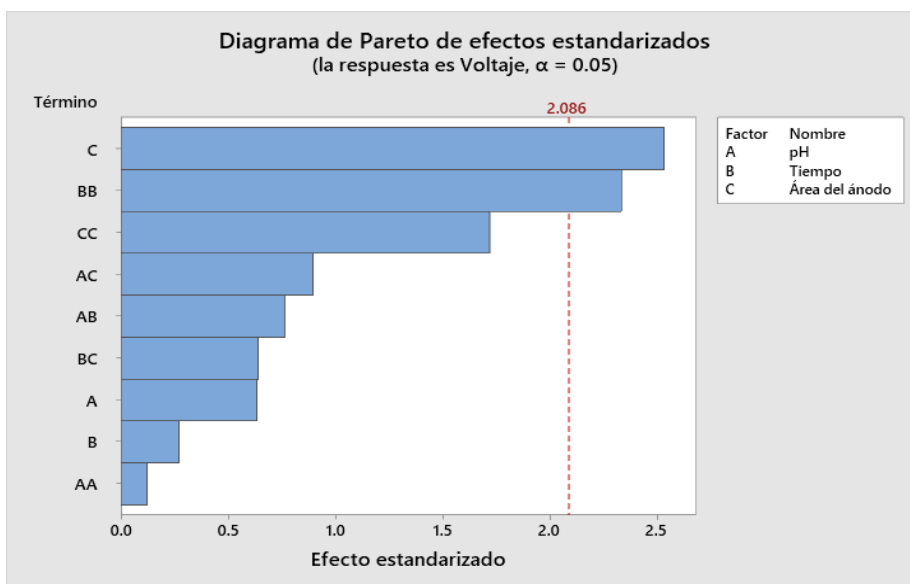


Figura 3.15 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño experimental Box-Behnken.

3.9.1. Gráficas de superficie del diseño Box-Behnken

Se utilizaron gráficas de superficie para observar el comportamiento del sistema (prototipo) desarrollado. La primera gráfica se realizó con las variables de tiempo y pH dejando como valor fijo intermedio la variable área del ánodo, como se presenta en la Figura 3.16 a), la superficie obtenida fue un punto de silla, lo que indica que no es posible encontrar un máximo o un mínimo. En la Figura 3.16 b) se graficó el área del ánodo y el pH dejando fijo en un punto intermedio la variable tiempo, la superficie obtenida representa de igual manera un punto de silla, lo cual indica que estas condiciones no son aptas para la optimización. Como última combinación se graficó el área del ánodo y el tiempo dejando el pH con valor intermedio, en este caso la superficie que se muestra es un valle, lo cual indica una región de un mínimo como se muestra en la Figura 3.16 c).

3.9.2. Gráficas de contorno del diseño Box-Behnken

Se realizaron gráficas de contorno para las tres superficies de respuesta presentadas anteriormente, en la Figura 3.17 a) se graficaron las variables de pH y tiempo dejando constante la variable de área del ánodo, en dicha figura se observa que ninguna de

sus regiones se cierra debido a que se trata de un punto de silla. En la Figura 3.17 b) se graficaron las variables de pH y área del ánodo dejando fija la variable tiempo, en esta gráfica no existen regiones que se cierran puesto que de igual manera se trata de un punto de silla, esta gráfica corrobora a la gráfica de superficie de respuesta para estas mismas variables. En la Figura 3.17 c) se realizó una gráfica de contorno de las variables tiempo y dejando la variable pH fija, en esta figura se observa que las regiones se cierran y nos llevan a un mínimo al centro, pero entre más se alejan del centro los valores del voltaje aumentan.

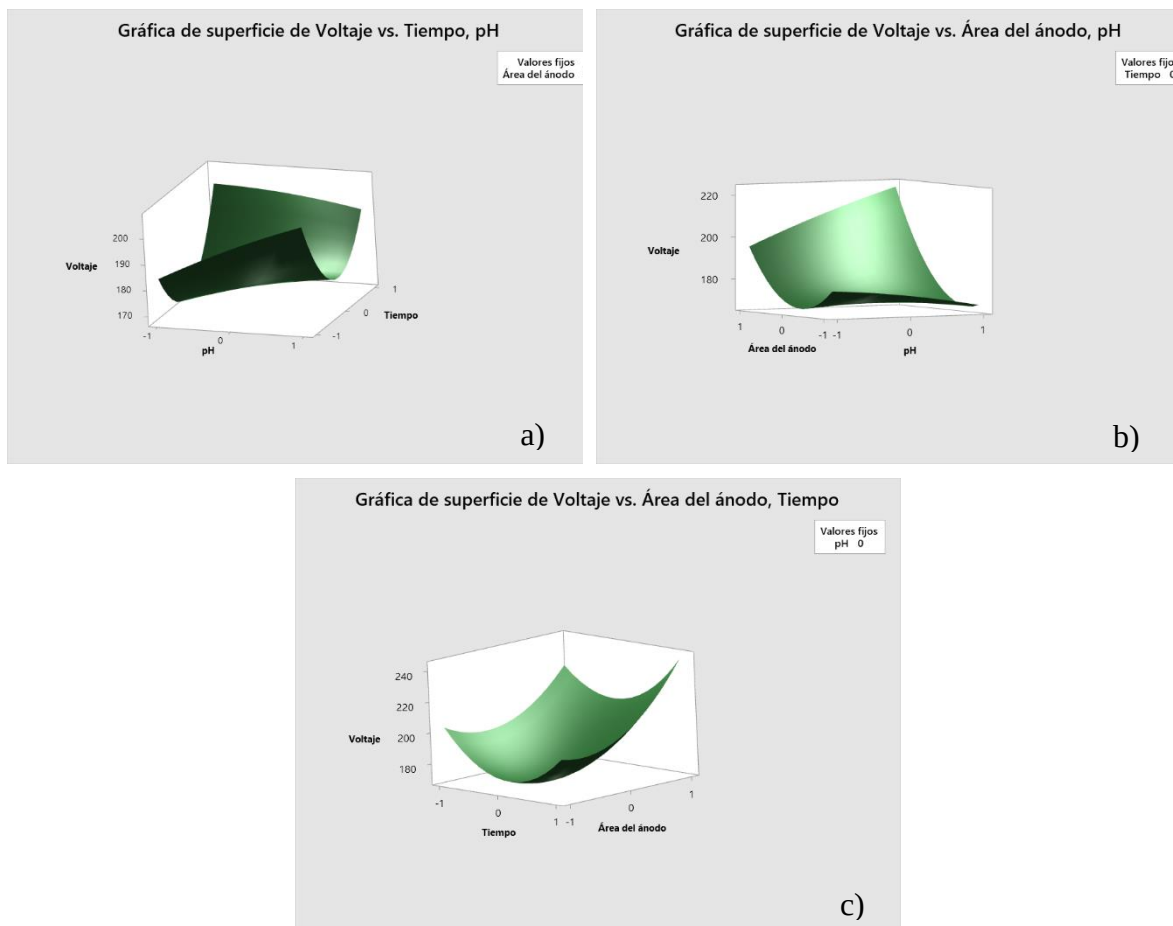


Figura 3.16 Gráficas de superficie de respuesta

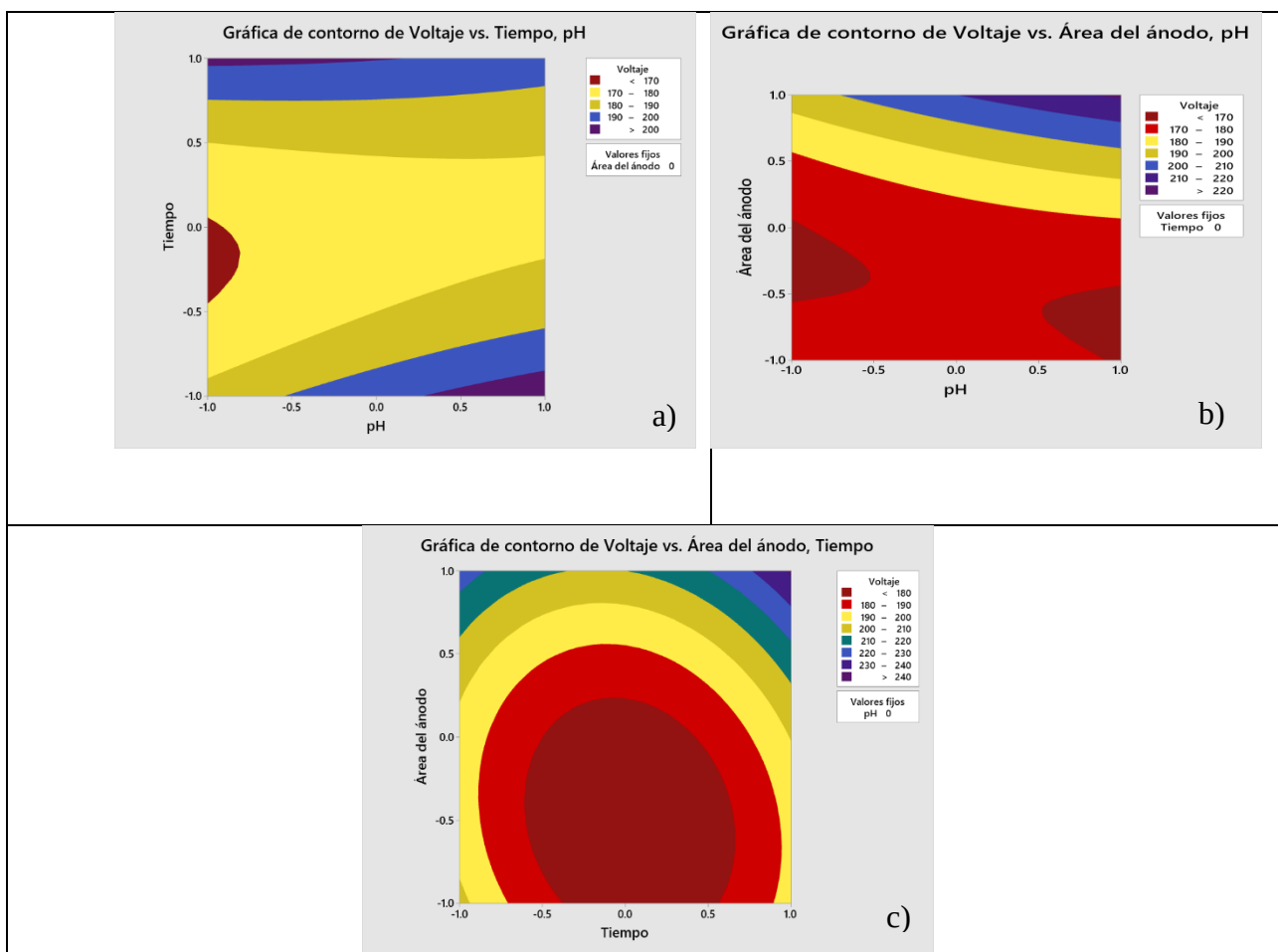


Figura 3.17 Gráficas de contorno

3.9.3. Valores de las variables para obtener el mayor voltaje

Con base a la respuesta obtenida de las gráficas de contorno se pueden tomar los datos de la Figura 3.17 c) en la cual no presenta un máximo sino lo contrario que es un mínimo; cuando se toman los valores de área del ánodo en nivel intermedio, tiempo intermedio y pH intermedio se obtienen valores de voltaje de 180 a 190 mV.

Los valores que se deben de trabajar para optimizar el proceso son área del ánodo alto, tiempo alto y pH intermedio con estos valores se consiguen voltajes de 220 a 240 mV o más.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Al cabo de la realización de este proyecto y con la experiencia obtenida durante el proceso se llega a las conclusiones siguientes:

- El recubrimiento térmico realizado a la cámara anódica utilizando el diseño de bloques completos al azar, permitió que el crecimiento de las bacterias fuera constante, esto se reflejó en la consistencia de la producción de bioelectricidad que tuvo un promedio de 145 mV. por experimento.
- La relación alimento/ microorganismo tiene un papel importante en el tiempo de desarrollo de las bacterias, esto se debe a que encontrando una buena relación (34.09 g/L de DQO/0.0104 gramos de solidos volátiles) se crean mejores condiciones para el desarrollo de los microorganismos. Con esta relación se puede mejorar los tiempos de degradación de la materia orgánica y puede ayudar al proceso a ser más eficiente en cuestión de tiempo (60 minutos) para que alcanzara una producción constante de 200 mV.
- Se identificaron 3 variables de control (pH, área del ánodo y tiempo de retención), las cuales tienen un efecto significativo menor del 0.01 sobre la variable de control (voltaje producido).
- A partir de la metodología de superficie de respuesta se determinaron los valores óptimos de los niveles de las variables pH, área del ánodo y tiempo de retención que maximizan el proceso de producción de bioelectricidad, encontrando que un nivel alto de tiempo de retención, un nivel alto de área del ánodo y nivel de pH intermedio se obtienen voltajes de 220 a 240 mV.

RECOMENDACIONES

Con la información obtenida en este trabajo se recomienda como primera parte el explorar regiones más amplias para la relación alimento microorganismo para poder encontrar las mejores condiciones en las que las bacterias puedan desarrollarse de manera más rápida y eficiente.

De igual manera se recomienda hacer un estudio más amplio en los niveles de las variables utilizadas en la metodología de superficie de respuesta con el objetivo de encontrar una zona con un máximo bien definido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ahn, Y., Ivanov, I., Nagaiah, T. C., Bordoloi, A., & Logan, B. E. 2014. Mesoporous nitrogen-rich carbon materials as cathode catalysts in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 269, 212-215.

Ahn, Y. y Logan, BE 2012. Una celda de combustible microbiana de flujo continuo de electrodos múltiples con diseño de ensamblaje de electrodo separador. *Microbiología aplicada y biotecnología*, 93 (5), 2241-2248.

Antolini, E. 2015. Materiales compuestos para celdas de combustible microbianas de membrana de electrolito polimérico. *Biosensores y Bioelectrónica*, 69, 54-70.

Bai, L., Zhou, M., y Gu, C. 2016. Advanced nanomaterials for the design and construction of anode for microbial fuel cells. *Advanced electrode materials*. Wiley Scrivener Publishing LLC, 457-483.

Bermúdez Montaña, M. A., and Bernal Aragón, E. D. 2018. Implementación de una celda de combustible microbiana a escala laboratorio para generación de energía eléctrica (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).

Bhargavi, G., Venu, V., and Renganathan, S. 2018. Microbial fuel cells: recent developments in design and materials. *Conference Series: Materials Science and Engineering*. 330 (1), 012034.

Bird, R. B., Stewart, W. E., and Lightfoot, E. N. 2006. *Fenómenos de transporte*. México D.F.: Limusa Wiley.

Bond, D. R., Holmes, D. E., Tender, L. M., and Lovley, D. R. 2002. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 295(5554), 483-485.

Buitrón G, Pérez J. 2011. Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: Efecto de la distancia entre electrodos. TIP Rev Esp Cienc Quim Biol. 14(1):5-11.

Busalmen, J. P. 2010. Bacterias electrogénicas: de los sedimentos a las celdas de combustible microbianas. Ciencia e investigación. 60(2):29-34

Colmenares Valero, L., y Wittinghan Puentes, D. F. 2018. Evaluación del efecto de la concentración de mediador en la producción de energía eléctrica en agua residual sintética mediante celdas de combustible microbianas a escala laboratorio. Tesis de Licenciatura.

Condori Pacheco, A. E., y Torres Zamata, G. 2019. Biodegradación de la materia orgánica y producción de Bioelectricidad en Celdas de Combustible Microbiano (CCM) a partir del agua residual doméstica-Lima. Lima-Perú. Tesis presentada para optar el Título profesional de ingeniero ambiental.

Córdoba, B. Y. Fuentes, A. M del C., Ojeda, M. M. E., Martínez, P. G. and Álvarez, R. J. G. 2018. Generación de bioelectricidad por electrógeno Gram-positivo bajo condiciones ácidas y resistencias externas en celdas de combustible microbianas. Paper_377.

Del Campo A. 2015. Valorización energética y tratamiento de efluentes residuales mediante celdas de combustible microbiológicas. Memoria para optar el título de doctor. Universidad Castilla – La Mancha.

Du, Z., Li, H. and Gu, T. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. Biotechnology Advances, 25 464–82.

Dumas, C., Mollica, A., Féron, D., Basséguy, R., Etcheverry, L., y Bergel, A. 2007. Marine microbial fuel cell: use of stainless steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochimica acta*, 53(2), 468-473.

Farias G., Cercado – Quezada B., Asaff S., Reyes – Vidal, Y. (2015 – 2016). Sistemas Innovadores para obtener energías renovables. Innovation Match MX 88 2015 – 2016 1er Foro Internacional de Talento Mexicano. Articulando Conocimiento Global.

Fernández, S. 2020. Diseño de experimentos: diseño factorial. Tesis de Maestría (Universitat Politècnica de Catalunya).

Galicia G. 2016. Evaluación de la eficiencia de operación de una celda microbiana de biocombustible utilizando sistemas electrónicos. Tesis para optar el título de ingeniero eléctrico electrónico. Universidad Autónoma de México.

Ghassemi, Z., y Slaughter, G. 2017. Biological fuel cells and membranes. *Membranes*, 7(1), 3.

He, L., Du, P., Chen, Y., Lu, H., Cheng, X., Chang, B., y Wang, Z. 2017. Advances in microbial fuel cells for wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71, 388-403.

Hernández-Fernández, F. J., de los Ríos, A. P., Mateo-Ramírez, F., Godínez, C., Lozano-Blanco, L. J., Moreno, J. I., y Tomás-Alonso, F. 2015. New application of supported ionic liquids membranes as proton exchange membranes in microbial fuel cell for waste water treatment. *Chemical Engineering Journal*, 279, 115-119.

Jung, SP y Pandit, S. 2019. Factores importantes que influyen en el rendimiento de las pilas de combustible microbianas. En Tecnología electroquímica microbiana (págs. 377-406). Elsevier.

Kuehl, R. O. 2001. "Diseño de experimentos: Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones". 2ª Ed. Thomson Learning. México.

Li, F., Yin, C., Sun, L., Li, Y., Guo, X., y Song, H. 2018. Synthetic *Klebsiella pneumoniae*-*Shewanella oneidensis* Consortium Enables Glycerol-Fed High-Performance Microbial Fuel Cells. *Biotechnology journal*, 13(5), 1700491.

Liu, H., y Logan, B. E. 2004. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental science & technology*, 38(14), 4040-4046.

Liu, Z., Liu, J., Zhang, S., y Su, Z. 2009. Study of operational performance and electrical response on mediator-less microbial fuel cells fed with carbon-and protein-rich substrates. *Biochemical Engineering Journal*, 45(3), 185-191.

Logan, B. E. 2010. Scaling up microbial fuel cells and other bioelectrochemical systems. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(6), 1665-1671.

López, J. 2014. Desarrollo de una celda de combustible microbiana (CCM) para aplicación en tratamiento de aguas residuales (Doctoral dissertation, Tesis pregrado, Centro de investigación y desarrollo tecnológico en electroquímica).

Manning, S. D. 2010. *Escherichia coli* infections. Segunda edición. Infobase Publishing. New York, the United States of America.

Malik, D., JayitaThakur, S. S., Singh, R. K., Kapur, A., Kaur, A., y Nijhawan, A. K. 2014. Nanocomposite electrode microbial fuel cell: a promising technology for enhanced power generation from yamuna water. IJSR, 3, 641-46.

Mihajlovski, K. R., Radovanović, N. R., Veljović, Đ. N., Šiler-Marinković, S. S., and Dimitrijević-Branković, S. I. 2016. Improved β -amylase production on molasses and sugar beet pulp by a novel strain *Paenibacillus chitinolyticus* CKS1. Industrial crops and products, 80, 115-122.

Montgomery, D. C. 2017. Design and analysis of experiments. Ninth Edition. Arizona StateUniversity, John Wiley and sons. Arizona, United States of America.

Moon, H., Chang, I. S., Jang, J. K., y Kim, B. H. 2005. Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. Biochemical Engineering Journal, 27(1), 59–65.

Muñoz, A. L., Páez, A., Vélez, D. B., y Garzón, D. Q. 2016. Estabilización de temperatura en un digestor anaerobio tipo UASB alimentado con residuos bovinos y lodos. Revista de investigación, 9(2), 69-83.

Mustakeem, M. 2015. Electrode materials for microbial fuel cells: nanomaterial approach, Materials for Renewable and Sustainable Energy, 4 1-11.

Nandy, A., Jana, S., Khamrai, M., Kumar, V., Mukherjee, S., Bhattacharyya, A., y Kundu, P. P. 2019. Cloning and expression of α -amylase in *E. coli*: genesis of a superior biocatalyst for substrate-specific MFC. International Journal of Green Energy, 16(4), 309-316.

Napolitano, H. (2010). Diseño de experimentos. Industria y Química, 354 62-69.

Oh, S. T., Kim, J. R., Premier, G. C., Lee, T. H., Kim, C., y Sloan, W. T. 2010. Sustainable wastewater treatment: how might microbial fuel cells contribute. *Biotechnology advances*, 28(6), 871-881.

Páez, A., Lache-Muñoz, A., Medina, S., y Zapata, J. 2019. Electric power production in a microbial fuel cell using *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, synthetic wastewater as substrate, carbon cloth and graphite as electrodes, and methylene blue as mediator. Laboratory scale. *Escala laboratorio. Tecnología y ciencias del agua*, 10(6), 261-282.

Pandey, P., Shinde, V. N., Deopurkar, R. L., Kale, S. P., Patil, S. A., y Pant, D. 2016. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Applied Energy*, 168, 706-723.

Park, Y., Park, S., Nguyen, V. K., Kim, J. R., Kim, H. S., Kim, B. G., ... Lee, T. 2017. Effect of gradual transition of substrate on performance of flat-panel air-cathode microbial fuel cells to treat domestic wastewater. *Bioresource Technology*, 226, 158–163.

Quintero, G.A. 2021. Análisis de la factibilidad del uso de una celda de combustible microbiana para la producción de bioelectricidad empleando residuos de la industria azucarera. Tesis de maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba.

Rabaey, K. 2010. Bioelectrochemical systems: A new approach towards environmental and industrial biotechnology. In K. Rabaey, L. Angenent, U. Schröder and J. Keller (Eds.). *Bioelectrochemical systems: From extracellular electron transfer to biotechnological application*. London, U.K.; New York, U.S.A. IWA Publishing. pp. 1-16.

Rabaey Korneel and Verstraete Willy. 2005. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. 291-298

Rahimnejad, M., Adhami, A., Darvari, S., Zirepour, A., y Oh, S. E. 2015. Microbial fuel cell as new technology for bioelectricity generation: a review. *Alexandria Engineering Journal*, 54(3), 745-756.

Ramírez, V. R. 2009. Optimización de procesos. Celaya: Instituto Tecnológico de Celaya.

Revelo, D. M., Hurtado, N. H., y Ruiz, J. O. 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.

Semarnat. 2014. Agua-calidad. El medio ambiente en México. https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_3.html

Torrescano, K. L. 2009. Parámetros de operación en el proceso de tratamiento de agua residual por lodos activados. *Aquaforum*, 52, 14-19.

Wei, J., Liang, P., y Huang, X. 2011. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresource technology*, 102(20), 9335-9344.

Zhang, T., Cui, C., Chen, S., Ai, X., Yang, H., Shen, P., y Peng, Z. 2006. A novel mediatorless microbial fuel cell based on direct biocatalysis of *Escherichia coli*. *Chemical communications*, (21), 2257-2259.