

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS

**PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN SISTEMAS BIOELECTROQUÍMICOS CON
LODO ANAEROBIO MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE ANTRAQUINONA
2-SULFONATO**

PRESENTA

CARLOS FRANCISCO AGUILAR ALVAREZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAestrÍA EN CIENCIAS CON
ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA APLICADA**

SEPTIEMBRE, 2018

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres María Trinidad Alvarez Medina y Carlos Ariel Aguilar Lopez.

A mi hermana Alexia María Aguilar Alvarez.

A todas las personas que me apoyaron en esta etapa de mi preparación.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, por la beca 444941 otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

A mi familia por su constante apoyo y motivación a lo largo de toda esta travesía.

Al Dr. Luis Humberto Alvarez Valencia, por brindarme la oportunidad de trabajar con él, darme su apoyo para continuar mi preparación académica y para alcanzar mis metas.

A la Facultad de Ciencias Químicas, por permitirme realizar mis estudios, en sus instalaciones.

A mi Comité Tutorial por guiarme con sus recomendaciones para realizar este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio Cecy, Yair y Daniel.

A mis compañeros de generación y amigos fuera de la universidad por su apoyo moral y compañía durante estos dos años de investigación.

RESUMEN

Carlos Francisco Aguilar Alvarez

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título de tesis: Producción de biogás en sistemas bioelectroquímicos con lodo anaerobio mediante la utilización de Antraquinona 2-sulfonato (AQS)

Número de páginas: 61 Candidato de la Maestría en Ciencias
con Orientación en Microbiología Aplicada

Área de estudio: Microbiología Aplicada

Propósito y métodos del estudio: La obtención de energía alternativa está cobrando mayor importancia en la actualidad debido a que los combustibles fósiles son recursos no renovables y a que su combustión contribuye a la contaminación al generarse gases de efecto invernadero. En este trabajo se utilizan los sistemas bioelectroquímicos para generar energía limpia, ya que los pulsos eléctricos favorecen las rutas metabólicas de los microorganismos presentes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de biogás (hidrógeno y metano) en sistemas bioelectroquímicos mediante el uso de un lodo anaerobio en presencia de AQS y empleándose varios electrodos elaborados de diferentes materiales y variándose los estímulos eléctricos.

Contribución y conclusiones: La mayor producción de hidrógeno se presentó a 1 V con la configuración de barras de grafito en ambos electrodos, produciéndose 115.5 μmol de hidrógeno/g DQO, de igual manera se alcanzó la mayor producción de metano con la configuración de barras de grafito en ambos electrodos y estímulo eléctrico de 1V, siendo esta de 325.5 μmol de metano / g de DQO. Se realizó la modificación de la tela de carbón activado con AQS, logrando una capacidad de adsorción de 1.09 mmol de AQS/ g de tela. Estas telas se utilizaron para producir biogás, cuando se empleó la configuración con tela modificada con AQS en ambos electrodos se alcanzó la mayor producción de hidrógeno, 371.5 μmol de H_2 /g de DQO mediante la utilización del estímulo eléctrico de un 1 Volt, sin embargo no hubo producción de metano, probablemente porque el potencial redox del AQS inmovilizado es menor que el de la metanogénesis. En cambio, cuando se empleó esta tela de carbón en el ánodo y en el cátodo una barra de grafito sin modificar, con el estímulo de 1 V, se obtuvo menor producción de hidrógeno, logrando sólo 249.5 μmol de hidrógeno / g de DQO, pero con esta misma configuración de celda se consiguió una producción de 309 μmol de metano/ g de DQO. Se presentaron aumentos desde un 37 – 53% en la producción de hidrógeno y en el caso del metano fue de un 13-37 %.

Tabla de contenido

AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	0
1. Introducción.....	4
2. Antecedentes.....	6
2.1 Digestión Anaerobia.....	6
2.1.1 Hidrólisis.....	7
2.1.2 Acidogénesis o fermentación	8
2.1.3 Acetogénesis.....	8
2.1.4 Metanogénesis.....	8
2.2 Sistemas bioelectroquímicos	9
2.2.1 Producción de hidrógeno en sistemas bioelectroquímicos	11
2.2.2 Producción de metano en sistemas bioelectroquímicos.....	12
2.3 Materiales de carbón activado	12
2.3.1 Modificación de los electrodos.....	14
2.3.2 Modificación tratamientos fisicoquímicos	14
2.3.3 Adición de revestimientos conductores o electroactivos	14
2.3.4 Electrodos compuestos de metal y grafito.....	15
2.4 Mecanismos de transferencia de electrones	17
2.5.-Mediadores Redox.....	19
2.5.1 Utilización de mediadores redox.....	19
2.6 Inmovilización de mediadores redox.....	20
3 Hipótesis, Objetivos, Justificación y aportación científica.....	22
3.1 Hipótesis.....	22
3.2 Objetivo general	22
3.3 Objetivos específicos.....	22
3.4 Justificación	22
3.5 Aportación científica	22
4.Materiales y Métodos.....	23
4.2 Lodo anaerobio.....	23
4.2.1 Determinación de sólidos totales.....	24
4.2.2 Determinación de sólidos suspendidos volátiles.....	24
4.3 Materiales carbonáceos	25

4.3.1	Modificación de materiales carbonáceos	26
4.3.2	Capacidad de adsorción y desorción del mediador	27
4.4	Cinéticas de producción de biogás	28
4.4.1	Con electrodos sin modificar	28
4.4.2	Cinética de producción de biogás con electrodos modificados	29
4.5	Métodos de análisis	29
4.5.1	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	29
4.5.2	Carbohidratos totales (método de Dubois).....	29
4.5.3	Determinación de biogás por cromatografía de gases.....	29
4.5.4	Gompertz.....	31
5.	Resultados y Discusión	33
5.1	Sólidos Suspendidos Volátiles.....	33
5.2	Cinéticas de producción de biogás con electrodos sin modificar.	35
5.3	Modificación de materiales carbonáceos	39
5.4	Cinéticas de producción de biogás con tela FM50K modificada con AQS.	40
6.	Conclusiones	43
7.	Perspectivas.....	44
8.	Bibliografía.....	45
	Anexos	57

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia</i>	7
<i>Figura 2. Esquema de funcionamiento en los sistemas bioelectroquímicos en la producción de metano con lodo anaerobio</i>	10
<i>Figura 3. Mecanismos de transferencia de electrones: a transferencia de electrones directa; b transportador de electrones soluble y c pilis conductivos o nanocables</i>	18
<i>Figura 4. Mediadores redox en contacto con bacterias</i>	19
<i>Figura 5. Mediadores redox en sistemas bioelectroquímicos</i>	20
<i>Figura 6. Mecanismo de cloración del material carbonáceo</i>	26
<i>Figura 7. Adsorción de AQS en tela FM50-K.</i>	39
<i>Figura 8. Potenciales redox.</i>	41
<i>Figura 9. Curva de calibración de Hidrógeno</i>	57
<i>Figura 10. Curva de calibración de metano</i>	57
<i>Figura 11. Curva de calibración de AQS</i>	58
<i>Figura 12. Cinética de Producción de hidrógeno</i>	58
<i>Figura 13. Cinética de Producción de metano</i>	59

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Valores energéticos de las fuentes de energía.</i>	5
<i>Tabla 2. Características de los materiales elaborados de carbón activado</i>	13
<i>Tabla 3. Trabajos anteriores con electrodos modificados</i>	16
<i>Tabla 4. Condiciones del cromatógrafo de gases.</i>	30
<i>Tabla 5. Sólidos totales y sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio de la cervecería Cuauhtémoc Moctezuma</i>	33
<i>Tabla 6. Sólidos totales y sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio de la cervecería Modelo del Noroeste</i>	34
<i>Tabla 7. Producción de hidrógeno con electrodos sin modificar</i>	36
<i>Tabla 8. Producción de metano con electrodos sin modificar</i>	38
<i>Tabla 9. Producción de hidrógeno con electrodos modificados</i>	41
<i>Tabla 10. Producción de metano con electrodos modificados</i>	42

1. Introducción

Actualmente, el crecimiento de la población e industrialización han provocado un incremento en la demanda energética, esto representa un reto ambiental, ya que el uso desmedido de los combustibles fósiles genera gases de efecto invernadero que contribuyen al calentamiento global y a la generación de lluvia ácida (Saxena *et al.*, 2009).

Una alternativa para ayudar a mitigar estos problemas de contaminación global es utilizar el biogás como combustible ya que se puede producir biológicamente, esto resulta benéfico ya que proporciona un combustible limpio a partir de fuentes renovables, lo cual reemplazaría a los combustibles fósiles y reduciría los impactos medio ambientales ya que el resultado de su combustión es solamente agua (Chynoweth *et al.*, 2001). El biogás producido mediante digestión anaerobia se encuentra compuesto por hidrógeno y metano. Si se comparan los valores energéticos de estos dos gases producidos por vías biológicas con los de otros combustibles fósiles (Tabla 1) se observa que presentan valores similares o superiores (Das y Veziroglu, 2001; Sing *et al.*, 2015).

Tabla 1. Valores energéticos de las fuentes de energía. (García *et al.*1996; Das y Verziroglu, 2001; Singh *et al.*, 2015)

Fuente de energía	Valor energético
Metano	44 kJ/g
Hidrógeno	122 kJ/g
Propano	50.4 kJ/g
Carbón mineral	34.7 kJ/g

2. Antecedentes

2.1 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es una tecnología que se emplea para la degradación de la materia orgánica, se puede utilizar para degradar residuos agroindustriales o contaminantes provenientes de la industria textil o agroquímica, una vez metabolizados estos residuos se obtiene metano como producto final el cual se puede utilizar para generar electricidad (Arantes *et al.* 2017; Xie *et al.* 2018). Los productos de este proceso son metano, dióxido de carbono y otros gases en pequeñas proporciones (ácido sulfhídrico y amoníaco). Las familias de microorganismos que se encuentran presentes en los lodos anaerobios granulares son *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Endobacterias*. La digestión anaerobia se divide en cuatro etapas: (Figura 1) hidrólisis, fermentación o acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Demirel *et al.*, 2008).

Este proceso regularmente se utiliza en el tratamiento de aguas residuales, tanto domésticas, como las provenientes de las industrias cervecera, azucarera y cárnica, también se puede utilizar para la remoción de contaminantes como rojo congo, p-cresol, 1-2 diclorometano, etc (Tawfik *et al.*, 2008; Arantes *et al.*, 2017; Artsupho *et al.*, 2016; Delforno *et al.*, 2017; Işık *et al.*, 2005; Chunshuang *et al.*, 2017; De Wildeman, 2001).

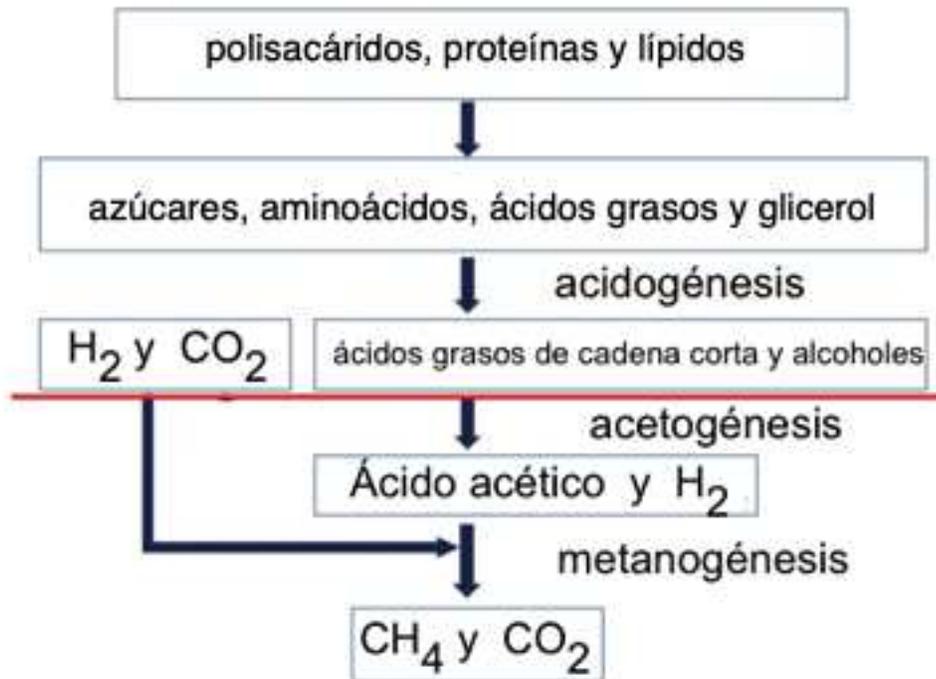


Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia (Sikora *et al.*, 2017).

2.1.1 Hidrólisis

La hidrólisis de las macromoléculas se lleva a cabo mediante reacciones de oxidación-reducción, por enzimas extracelulares producidas por los microorganismos fermentativos. Ésta da como resultado compuestos solubles como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, que serán metabolizados por las bacterias en su interior. Esta etapa se ve afectada por varios factores como la temperatura del proceso, el tiempo de retención hidráulica, la composición del sustrato, el tamaño de partícula, el pH, la concentración de NH_4^+ . (Peece, 1983; Pavlostathis & Giraldo Gómez, 1991).

2.1.2 Acidogénesis o fermentación

Es la segunda etapa de la digestión anaerobia, donde los monómeros que se obtuvieron durante la hidrólisis son metabolizados por una gran variedad de bacterias fermentativas que producen dióxido de carbono, hidrógeno, alcoholes y ácidos orgánicos como acético, fórmico, láctico, propiónico y butírico (Nayono 2010; Ostrem & Themelis 2004). Estos ácidos van a ser oxidados por las bacterias acetogénicas.

2.1.3 Acetogénesis

Es la tercera etapa de la digestión anaerobia, es donde los ácidos grasos volátiles se van degradar mediante la β -oxidación por las bacterias acetogénicas para producir acetato, hidrógeno y dióxido de carbono (Sikora *et al.*, 2017; Ghimire *et al.*, 2015).

2.1.4 Metanogénesis

La metanogénesis es el último paso de la digestión anaerobia. El nombre lo recibe por los microorganismos metanogénicos ya que forman el metano a partir de varios sustratos como el acetato, H_2 , CO_2 y metanol. Los metanogénicos se ubican dentro del dominio *Arquea*, presenten morfología de bacilos cortos y largos, pueden ser gram positivos o gram negativos (Madigan *et al.*, 2017).

La producción del metano se puede llevar a cabo mediante dos formas, por una reacción acetoclástica, donde los productos finales son metano y dióxido de carbono. Los géneros *Methanosarcina* y *Methanotrix* realizan esta reacción, descarboxilan el acetato y el grupo metilo es reducido a CH_4 y CO_2 sin modificar

su estructura ni afectar la concentración de hidrógeno. Los microorganismos presentan la capacidad de regular el pH mediante la eliminación del ácido acético y la producción de dióxido de carbono que se disuelve formando bicarbonato. La segunda forma de producción de metano es mediante la utilización del hidrógeno y empleando acetato como aceptor de electrones, ya que el hidrógeno es el principal precursor del metano en la digestión anaerobia (Chynoweth & Isaacson, 1987; Lee *et al.*, 2015; Aguilera *et al.*, 2018).

2.2 Sistemas bioelectroquímicos

Los sistemas bioelectroquímicos son una gama de tecnologías emergentes, se caracterizan por utilizar el metabolismo microbiano para oxidar la materia orgánica y realizar reacciones anódicas y catódicas para la generación de biogás, electricidad y biorremediación, teniendo la ventaja de no requerir ningún catalizador metálico (Logan *et al.*, 2006).

Existen dos tipos de sistemas bioelectroquímicos, las celdas de combustible microbiano que son utilizadas para generar electricidad a través de la degradación de la materia orgánica donde el compartimiento catódico se encuentra en condiciones aerobias, y las celdas de electrólisis microbiana donde ambos compartimientos se encuentran en condiciones anaerobias y se les aplica un voltaje para reducir los protones que se generan por el metabolismo microbiano, por último, los sistemas mixtos de reactores UASB (up-flow anerobic sludge blanket) con electrodos (Santoro *et al.*, 2017 ; Cui *et al.*, 2017).

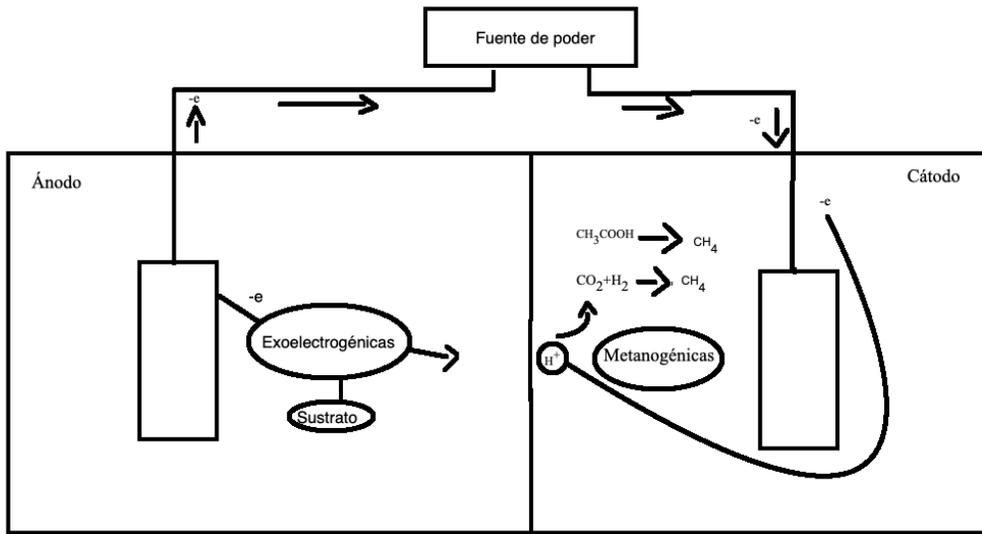


Figura 2. Esquema de funcionamiento en los sistemas bioelectroquímicos en la producción de metano con lodo anaerobio (modificado de Yu *et al.*, 2018).

En la producción de metano en un sistema bioelectroquímico con lodo anaerobio como inóculo, se empieza con la hidrólisis del sustrato para que posteriormente los microorganismos fermentadores metabolizan esos monómeros hidrolizados y produzcan ácidos orgánicos, que serán aprovechados por los microorganismos exoelectrogénicos, los cuales liberan electrones que se conducen mediante los pilis bacterianos y los protones emigran al cátodo, donde son reducidos para formar hidrógeno, el cual será consumido por los por los microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos. Otro mecanismo que se presenta en los sistemas bioelectroquímicos para producir metano es mediante microorganismos metanógenos acetoclásticos que consumen acetato para generar metano y dióxido de carbono (Yu *et al.*, 2018; Appels *et al.*, 2008).

Al utilizar sistemas bioelectroquímicos, se presenta un incremento en la remoción de la demanda química de oxígeno o el consumo de sustrato, se acelera la degradación de los ácidos grasos volátiles y aumenta la producción de gas. Otra aplicación que se les está dando a los sistemas bioelectroquímicos es para reducir contaminantes oxidantes, desnitrificación, romper enlaces azo de colorantes (Liu *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011; Cui *et al.*, 2012).

2.2.1 Producción de hidrógeno en sistemas bioelectroquímicos

Se ha producido hidrógeno en sistemas bioelectroquímicos mediante la utilización de cultivos puros de microorganismos como *Pseudomonas sp.*, *Shewanella sp.*, *Shewanella oniedensis*, o lodos anaerobios a los que se les aplican diferentes tratamientos para la inhibición de microorganismos metanogénicos. En uno de estos procedimientos se utilizó 2-bromoetanosulfonato a la concentración de 50 mM, otro consistió en aplicar un tratamiento térmico a los lodos activados, ya que solo sobreviven microorganismos fermentativos gracias a su capacidad de producir esporas. Los voltajes que más se utilizan en la producción de hidrógeno van de 0.3 a 1.0 V, no se recomienda trabajar con voltajes superiores a 1.1 V ya que la producción se ve afectada por la electrólisis del agua (1.2 V), Lu *et al.* en el 2010 obtuvieron un rendimiento de 21.0 mmol de H₂/g de DQO utilizando agua residual sintética con una concentración de 700 mg de DQO/L, electrodos de fibra de carbón activado recubierto de paladio y aplicando un voltaje de 0.8 V, pero cuando utilizaron una concentración de 1500 mg de DQO/L la producción de hidrógeno presentó una disminución a 2.9 mmol de H₂/g de DQO, esto lo atribuyeron a que se presentó una inhibición en el metabolismo microbiano debido

a que el pH disminuyó por la producción de ácidos orgánicos. (Hu & Chen, 2007; Parameswaran *et al.*, 2010; Liu *et al.* 2010; Lu *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012).

2.2.2 Producción de metano en sistemas bioelectroquímicos

En la producción de metano en sistemas bioelectroquímicos se han utilizado principalmente lodos anaerobios provenientes de diferentes plantas tratadoras de agua, desde la industria cervecera y petroquímica hasta aguas residuales de uso doméstico, sin aplicarles ningún tratamiento para evitar la inhibición de los microorganismos metanogénicos como *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, *Methanosaeta thermophila*, *Methanosaeta soehngenii*. Se han obtenido tasas de producción de 37.5 μ moles de metano/h y 31.6 nmol de metano/d, aplicando estímulos eléctricos que van desde 0.5 V a 0.7 V. La aplicación de estímulos eléctricos ha provocado incrementos desde 1.6% hasta un 56% en comparación con la digestión anaerobia. (Cheng *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2013; Siegert *et al.* 2014; Zhen *et al.* 2016; Liu *et al.* 2017; Park *et al.*, 2018).

2.3 Materiales de carbón activado

Los materiales de carbono son los más ampliamente utilizados como electrodos para los sistemas bioelectroquímicos debido a su buena biocompatibilidad, buena estabilidad química, alta conductividad y un costo relativamente bajo. El electrodo de carbono proviene de diversas fuentes y puede presentarse en diferentes formas y estructuras de las cuales destacan tres: 1) estructuras planas; 2) carbón activado granular; 3) estructura de cepillo. (Wei *et al.*, 2011). En la Tabla 2 se muestran algunas características de estos materiales de carbono.

Tabla 2. Características de los materiales elaborados de carbón activado

Estructura	Características	Área Superficial	Referencia
<p data-bbox="224 338 297 365">Plana</p> 	<p data-bbox="521 338 769 919">Presentan una superficie lisa y sin embargo, cuentan con una baja área específica, tienen un alto costo, lo que no favorece su aplicación en electrodos a gran escala.</p>	<p data-bbox="813 338 1062 426">2.5cm x 4.5cm, 22.5 cm² total</p>	<p data-bbox="1105 338 1338 499">Logan <i>et al.</i>, 2007; Dewan <i>et al.</i>, 2008</p>
<p data-bbox="224 978 435 1066">Carbón activado granular</p> 	<p data-bbox="521 978 769 1251">Presentan una mayor densidad de potencia, que es 2.5 más alta que la de las telas de carbono.</p>	<p data-bbox="813 978 1019 1125">132 gramos de carbón activado grande de 4 x 10</p>	<p data-bbox="1105 978 1317 1066">Zhao <i>et al.</i>, 2015; Jian <i>et al.</i>, .2009</p>
<p data-bbox="224 1425 483 1453">Estructura de cepillo</p> 	<p data-bbox="521 1425 769 1759">Es un electrodo ideal ya que presenta una gran área superficial, alta porosidad y una eficiente captación a la corriente.</p>	<p data-bbox="813 1425 1062 1514">4 cm de largo y 3 cm de diámetro</p>	<p data-bbox="1105 1425 1344 1514">Call y Logan., 2008; Dumas <i>et al.</i>, 2007</p>

2.3.1 Modificación de los electrodos

La modificación de los electrodos facilita la adhesión bacteriana y la transferencia de electrones. Existen varios métodos de modificación, como se muestran en la Tabla 3: tratamientos físicos o químicos, adición de revestimientos altamente conductores o electroactivos y uso de electrodos compuestos de metal y grafito (Wei *et al.*, 2011).

2.3.2 Modificación mediante tratamientos físicos y químicos

Las modificaciones físicas o químicas más utilizadas son los tratamientos ácidos o con calor. Producen un aumento en el área específica del carbono que facilita la adhesión de las bacterias en el electrodo. La relación más alta de un nitrógeno protonado al nitrógeno total proporciona una carga más positiva en la superficie del electrodo, lo que también favorece la adhesión de las bacterias. Una composición de carbón-oxígeno más baja en la superficie tratada con ácido o calor puede indicar una menor cantidad de contaminantes que interfieren con la transferencia de carga de las bacterias a la superficie del electrodo (Wang *et al.*, 2009).

2.3.3 Adición de revestimientos conductores o electroactivos

Se ha utilizado la adición de un revestimiento de superficie para aumentar el rendimiento de los electrodos. Los materiales de revestimiento de superficie utilizados actualmente son polímeros conductores, mediadores redox y metales.

Los mediadores redox que se han utilizado para facilitar el intercambio de electrones desde el interior de la bacteria hacia el exterior son rojo neutro (NR),

ácido antraquinona-1,6-disulfónico (AQDS) y 1,4-naftoquinona (NQ). Sin embargo, estos mediadores deben agregarse o reciclarse continuamente. El problema se puede resolver inmovilizando el mediador redox en la superficie del electrodo. Se ha demostrado que los mediadores inmovilizados en carbón activado aumentan significativamente la actividad metabólica de los microorganismos. Sin embargo, la eficiencia de los mediadores inmovilizados puede verse afectada durante una operación a largo plazo, ya que esta se ve alterada por la capacidad de adsorción y desorción del material de carbono. Por lo tanto, la estabilidad del electrodo modificado debe confirmarse durante el periodo de operación (Lowy y Tender, 2008; Lowy *et al.*, 2006; Park and Zeikus, 2003; Wang *et al.*, 2011).

2.3.4 Electrodo compuesto de metal y grafito

Los rendimientos de los electrodos compuestos de metal-grafito han sido utilizados en varios trabajos. Park y Zeikus en el 2002 emplearon un electrodo de Mn^{4+} combinado con grafito, la cantidad de energía eléctrica producida aumentó 1000 veces. Lowy *et al.* en el 2006, demostraron que un electrodo compuesto de grafito con Mn^{2+} y Ni^{2+} es cinéticamente ventajoso sobre el de grafito normal. Estos trabajos se centran en mejorar el rendimiento de la generación de energía, pero se sabe muy poco del mecanismo de interacción entre las bacterias y la superficie del electrodo. Además, se debe evaluar la rentabilidad de estos electrodos modificados en términos de costo y estabilidad a largo plazo (Wei *et al.*, 2011).

Tabla 3. Trabajos anteriores con electrodos modificados

Método de modificación	Tratamiento	Electrodos	Inóculo	Mejora del rendimiento	Referencia
Tratamiento Químico	Ácido (H ₂ SO ₄)	Cepillo de carbón	Agua residual doméstica	Incremento del 25%	Feng <i>et al.</i> , 2010
Tratamiento Físico	Temperatura alta	Cepillo de carbón	Agua residual doméstica	Incremento del 25%	Feng <i>et al.</i> , 2010
Adición de mediador	AQDS	Disco de grafito	de Sedimento marino	Aumento de 0.7 % en la actividad cinética	Lowy <i>et al.</i> , 2006
Electrodo compuesto	Mn ²⁺ con grafito		Sedimento marino	Aumento de 78-509 veces en la actividad cinética	Park y Zeikus, 2003

2.4 Mecanismos de transferencia de electrones

Existen tres mecanismos mediante los cuales los microorganismos transfieren o reciben los electrones hacia o desde un electrodo, los cuales se pueden observar en la Figura 3 y son:

A. Transferencia de electrones directa: mediante el contacto directo de los microorganismos con la superficie de un electrodo. Este mecanismo se presenta cuando las bacterias presentan en su membrana celular o en su matriz extracelular abundantes citocromos C que van a liberar los electrones hacia el electrodo, la gran ventaja que se presenta es que se puede realizar mediante la respiración celular en la generación de los ATP y su desventaja al momento de trabajar en un sistema bioelectroquímico es que necesita un aceptor final de electrones en estado sólido (Torres *et al.*, 2010; Lovley *et al.*, 2012).

B. Presencia de un transportador de electrones soluble, cuyo compuesto (ejemplo: quinonas, flavinas, fenazinas) es un acarreador de electrones entre la bacteria y el electrodo mediante transporte difusivo. Este método presenta una ventaja ya que aumenta el funcionamiento de los sistemas bioelectroquímicos y su mayor desventaja es que se necesita de un soporte para evitar que se degrade o se pierda el transportador durante su tiempo de operación (Newman *et al.*, 2000; Hernández *et al.*, 2004; Von Canstein *et al.*, 2008).

C. Uso mediante pilis conductivos o nanocables; estas estructuras tienen forma de pelo muy delgado, se forman en respuesta a la transferencia de electrones y permiten que las células no presenten un contacto directo con el electrodo, su gran ventaja es que una vez formada la biopelícula microbiana puede reutilizarse varias veces en diferentes ciclos pero la formación de una biopelícula puede requerir un mayor tiempo para su generación (Reguera *et al.*, 2005; Rabaey K. & Rozendal *et al.*, 2010).

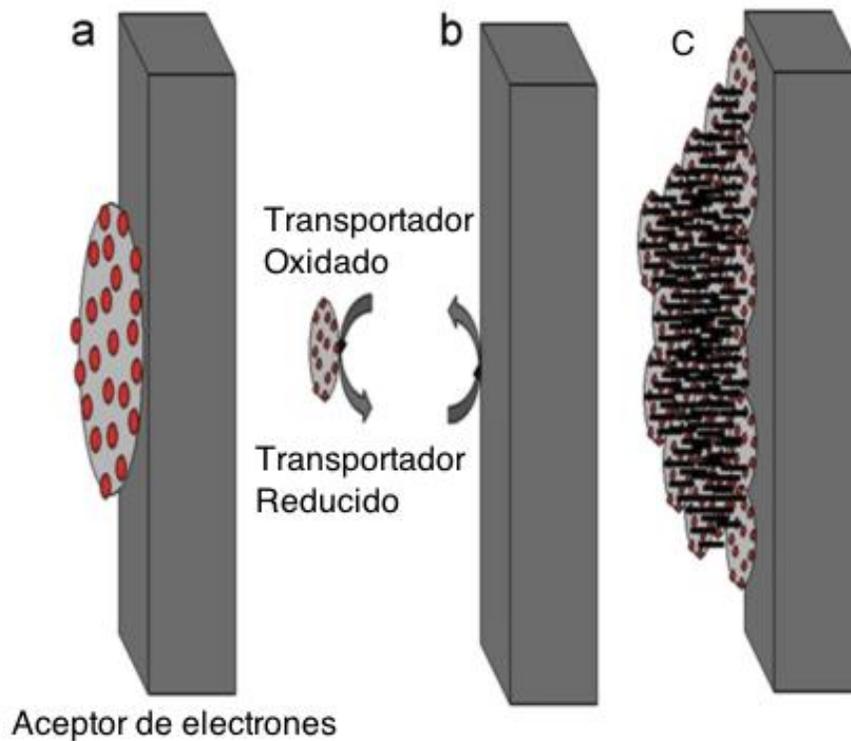


Figura 3. Mecanismos de transferencia de electrones: a. transferencia de electrones directa; b. transportador de electrones soluble y c. pilis conductivos o nanocables (Kadier *et al.*, 2016).

2.5 Mediadores Redox

Los mediadores redox son compuestos capaces de acelerar la transferencia de electrones al servir como catalizadores para las reacciones de óxido-reducción (Figura 4), ya sean estas biológicas o no, razón por la cual se estudian para poder utilizarlas en sistemas bioelectroquímicos (Alvarez *et al.*, 2013; Martínez, C. M. & Alvarez, 2018).

Las quinonas son implementadas en procesos biológicos para aprovechar su capacidad de catalizador y llevar a cabo la degradación de contaminantes o la generación de bioenergéticos.

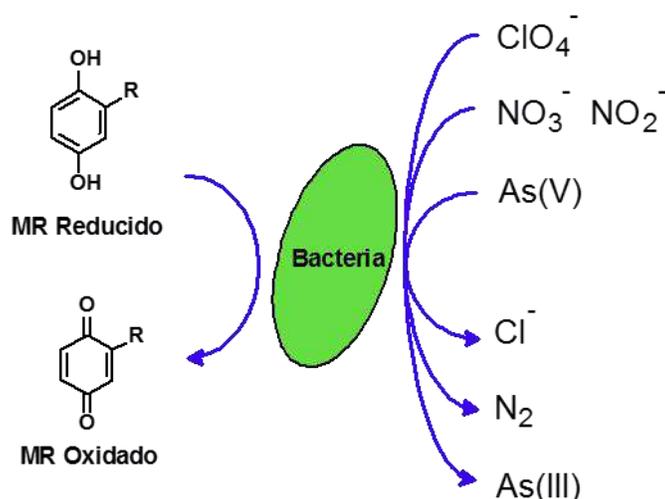


Figura 4. Mediadores redox (MR) en contacto con bacterias (Alvarez *et al.*, 2013).

2.5.1 Utilización de mediadores redox

Ye *et al.* en el 2012 utilizaron antrahidroquinona 2-6 *disulfonato* AH₂QDS como mediador redox en la producción de hidrógeno aumentando de 101 a 115 μmol de H₂. Se ha inmovilizado la forma oxidada de antraquinona 2-6 *disulfonato* (AQDS) logrando aumentar la capacidad de decoloración de azul directo 71, naranja de

metilo y negro eriocromo en un reactor UASB con tasas de decoloración de 76.5%, 70.1% y 80.3% para cada uno de los colorantes sin ningún mediador, al momento de utilizar el mediador la tasas de decoloración aumentaron a 86.7 %, 81.4% y 86.7% respectivamente (Cervantes *et al.*, 2011).

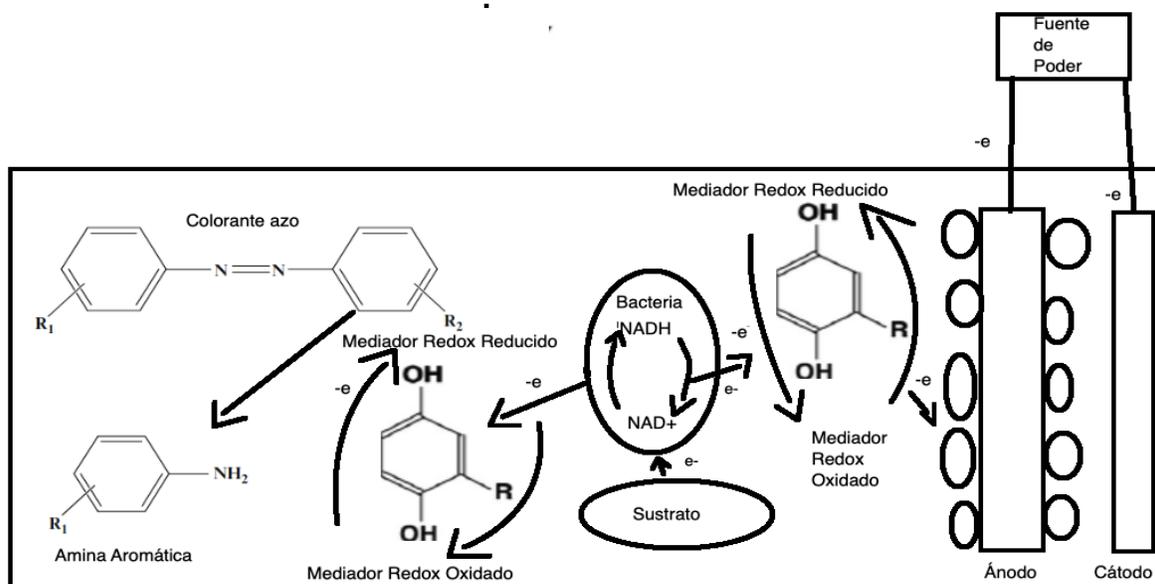


Figura 5. Mediadores redox en sistemas bioelectroquímicos (modificado de Sun *et al.*, 2013).

Sun *et al.* (2013) decoloraron rojo congo con AQDS, riboflavina y ácidos húmicos, logrando un aumento en la tasa de decoloración de 394% con AQDS soluble, 450% con riboflavina soluble y 258% con ácido húmico soluble.

2.6 Inmovilización de mediadores redox

Olivo *et al.* (2018) inmovilizaron 230 mg de lawsona/g de carbón granular activado mediante una modificación ácida, para posteriormente utilizarlo en sistemas batch para decolorar rojo congo, logrando alcanzar porcentajes de decoloración de un 70%. Alvarez *et al.* (2017) inmovilizaron en carbón activado granular AQDS

mediante un tratamiento ácido alcanzando una tasa de adsorción de 0.227 mmol de AQDS/ g de carbón activado granular. En otro estudio Alvarez *et al.* (2017) modificaron carbón activado granular mediante una modificación ácida logrando una tasa de adsorción de 0.469 mmol de AQS/g de carbón activado granular, este material se introdujo a dos reactores UASB alcanzando porcentajes de degradación del p-cresol de un 84% y un 87% decoloración de rojo congo tras 250 días de operación de los reactores.

Se han inmovilizado diferentes mediadores redox como riblofavina, rojo neutro, azul de metileno y menadiona en electrodos de carbón activado o de grafito y se han utilizado tanto en métodos fisicoquímicos como en electroquímicos para posteriormente utilizarlos en sistemas bioelectroquímicos (Popov *et al.*, 2012; Ahmed & Kim, 2013; Guo *et al.*, 2013; Xu & Quan, 2016).

El AQS se ha inmovilizado en fieltro de grafito mediante métodos químicos pudiendo inmovilizar 5.37 nmol/cm² y mediante métodos fisicoquímicos inmovilizaron 0.013 μmol de AQS/ cm², Feng *et al.* (2010) inmovilizaron AQDS en fieltro de carbón mediante electropolimerización para posteriormente utilizarlo en una celda de combustible microbiana (Tang *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2017).

3 Hipótesis, Objetivos, Justificación y aportación científica

3.1 Hipótesis

- La producción de hidrógeno y metano en sistemas bioelectroquímicos con lodo anaerobio aumentará 15% en comparación con el control cuando se utilizan telas de carbón activado con AQS inmovilizado.

3.2 Objetivo general

- Evaluar la producción de biogás en un sistema bioelectroquímico mediante el uso de un lodo anaerobio en presencia de AQS.

3.3 Objetivos específicos

- Realizar cinéticas de producción de biogás aplicando distintos voltajes y concentraciones de AQS soluble.
- Evaluar la producción de biogás utilizando un electrodo de carbón activado modificado con AQS y aplicando diferentes voltajes.

3.4 Justificación

Aumentar la transferencia de electrones en el sistema bioelectroquímico mediante la utilización de electrodos modificados con quinonas para obtener una mayor tasa de producción de biogás en comparación a los controles sin AQS y sin voltaje.

3.5 Aportación científica

Utilizar AQS como mediador redox para la producción de hidrógeno y metano en sistemas bioelectroquímicos con lodo anaerobio.

4. Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Tratamientos de Aguas Residuales II de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Se realizaron los experimentos por triplicado y se tomaron los promedios de cada muestreo para realizar los cálculos correspondientes.

4.1 Medio de cultivo

El medio de cultivo que se utilizó para las cinéticas de producción de biogás contiene los siguientes reactivos en g/L: NaHCO_3 (3.0), NH_4Cl (0.3), KH_2PO_4 (0.2), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.03), CaCl_2 (0.1), y 1 mL/L de solución de elementos traza. La solución de elementos traza contiene (mg/L) $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, (2,000); H_3BO_3 , (50); ZnCl_2 , (50); $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (38); $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500); $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, (50); $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, (90); $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, (2,000); $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, (92); $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, (162); EDTA, (1,000); y 1 mL/L de HCl (36%) (Alvarez *et al.*, 2012).

4.2 Lodo anaerobio

La fuente de microorganismos que se utilizó fue un lodo anaerobio obtenido de la planta de tratamiento de agua de dos industrias cerveceras, una localizada en la ciudad de Monterrey, Nuevo León y la otra en Ciudad Obregón, Sonora. Se les determinaron sólidos totales (ST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV) (APHA, 2005).

4.2.1 Determinación de sólidos totales

Se tomó la cantidad necesaria de muestra líquida que contuviera la cantidad de 25 mg de sólidos y se colocó en una cápsula tarada, ésta se transfirió a una estufa a 103 °C -105°C para secar la muestra y llevar a peso constante, posteriormente se colocó en un desecador y se permitió que adquiriera la temperatura ambiente, se pesó y se determinó el contenido de sólidos aplicando la siguiente ecuación (APHA, 2005).

$$ST = \left(\frac{G_1 - G}{V} \right) \times 1000 \quad \text{ecuación 1}$$

Donde:

ST = sólidos totales, en g/L.

G₁ = peso de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en g.

G = peso de la cápsula vacía, en g.

V = volumen de muestra, en mL.

4.2.2 Determinación de sólidos suspendidos volátiles

Una vez determinados los sólidos totales, la cápsula se colocó en el interior de una mufla a 550°C durante 20 minutos para eliminar la materia orgánica, posteriormente se transfirió a un desecador para enfriar la muestra y se pesó

nuevamente. Se empleó la ecuación 2 para determinar los sólidos suspendidos volátiles (APHA, 1992).

$$SSV = \left[\frac{G_1 - G_2}{V} \right] \times 100 \quad \text{ecuación 2}$$

Donde:

SVV = sólidos totales volátiles, en g/L.

G1 = peso de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en g.

G2 = peso de la cápsula con el residuo, después de la calcinación, en g.

V = volumen de muestra, en mL.

4.3 Materiales carbonáceos

Los materiales carbonáceos que se utilizaron para los experimentos fueron tela de carbón activado (FM50-K Zorflex®), lámina de grafito, barras de grafito y fieltro de grafito, estos tres materiales de grafito fueron adquiridos en Brunssen de Occidente S.A. de C.V., México.

4.3.1 Modificación de materiales carbonáceos

La modificación que se realizó fue una cloración, para lo cual se preparó una solución de reacción de $ZnCl_2$ al 26% en HCl concentrado (Figura 6), y se colocaron 4 g del material de la tela de carbono por cada 100 mL de solución. Se dejó reaccionar por 48 horas con agitación. Una vez que transcurrió el tiempo de la cloración se realizaron tres lavados del material con 30 mL de HCl concentrado cada vez. El material lavado se incorporó en un matraz que contenía 1.5 L de solución de AQS, se midió la absorbancia a 330 nm y posteriormente se calculó la concentración de AQS mediante espectrofotometría empleando una curva de calibración realizada previamente con estándares de AQS a concentraciones de 0 a 50 mg/L de AQS (anexos) y se dejó en agitación durante 20 h a 150 rpm y 35°C para permitir una absorción del AQS en el material.

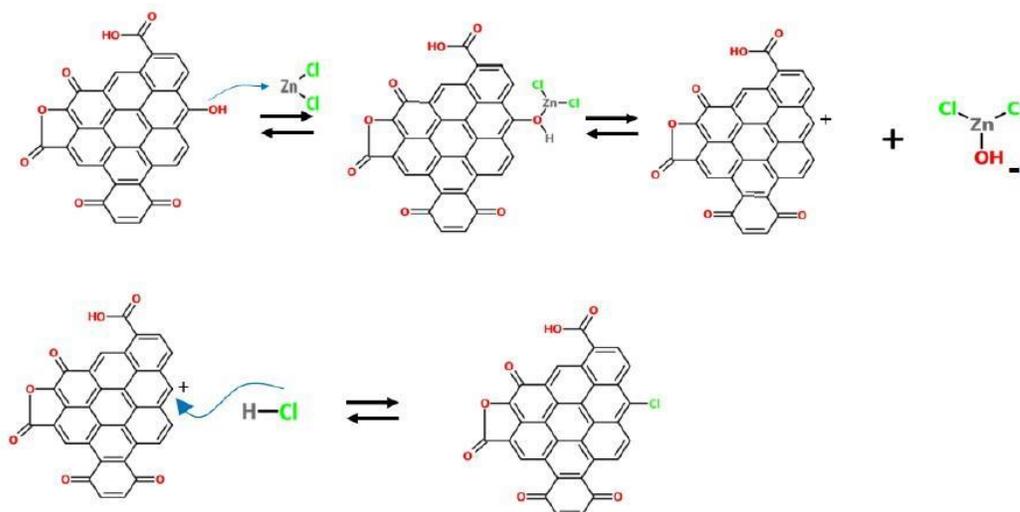


Figura 6.- Mecanismo de cloración del material carbonáceo (Olivo, 2015).

4.3.2 Capacidad de adsorción y desorción del mediador

Una vez que transcurrió el tiempo de inmovilización, se tomó una lectura final a 330 nm, se calculó la concentración final de AQS que quedó soluble y se decantó la solución, se calculó la capacidad de adsorción (Q_{ad}) mediante la ecuación 3.

$$Q_{ad} = \frac{V(C_i - C_f)}{m} \quad \text{ecuación 3}$$

Donde:

Q = Capacidad de adsorción

C_i = Concentración inicial de la solución

C_f = Concentración en el equilibrio de la solución

V = Volumen de la solución

m = masa de la tela de carbón activado

Se realizaron 3 lavados del material con 1.5 litros del medio descrito en el punto 4.1 pero sin glucosa, los lavados se realizaron cada 24 horas hasta alcanzar las 72 horas y se tomó muestra antes de realizar el lavado para poder determinar la concentración del AQS y calcular la capacidad de desorción (Q_{des}) mediante la ecuación 4.

$$Q_{des} = Q_{ad} - (V \times C_f) \quad \text{ecuación 4}$$

Donde

Q_{ad} = capacidad de adsorción

V = Volumen

C_f = Concentración final de la solución

4.4 Cinéticas de producción de biogás

4.4.1 Con electrodos sin modificar

Se realizaron en botellas de 150 mL de capacidad, colocándose 100 mL de medio descrito por Alvarez *et al.*, 2012, e inoculando con una concentración de biomasa de 1 g de lodo. Se les intercambié la atmósfera con nitrógeno y se llevaron a incubar en agitación a 120 rpm, pH 8.5 a 35 °C y con 2 g de glucosa /L como fuente de carbono, se estuvieron monitoreando por 72 horas. Previo a a la inoculación, el lodo anaerobio se filtró en un tamiz de 0.7 mm. Durante la etapa experimental se aplicaron estímulos eléctricos desde 0.5-1.5 V mediante una fuente de poder Bk Precision. Se utilizaron diferentes materiales carbonáceos como electrodos que fueron los siguientes:

1ra cinética: tela fm50k en ambos electrodos.

2da cinética: fieltro de grafito en ambos electrodos.

3ra cinética: láminas de grafito en ambos electrodos.

4ta cinética: barras de grafito en ambos electrodos.

4.4.2 Cinética de producción de biogás con electrodos modificados

Las cinéticas se realizaron de la misma manera que en el punto 4.4.1, solo se varió la configuración de los electrodos, quedando de la siguiente manera:

5ta cinética: barra de grafito como ánodo y tela fm50k modifica con AQS funcionando como cátodo.

6ta cinética: la tela fm50k modificada con AQS se colocó en el ánodo y en el cátodo.

4.5 Métodos de análisis

4.5.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno es un parámetro que indica la cantidad de materia orgánica contenida en una muestra líquida mediante la oxidación química (APHA/AWWA/WFE, 2005).

4.5.2 Cuantificación de carbohidratos totales (método de Dubois)

El contenido total de carbohidratos en el medio de cultivo se determinó mediante hidrólisis ácida establecido por Dubois *et al.*, 1956.

4.5.3 Determinación de biogás por cromatografía de gases

La concentración de biogás producido se midió a través de un cromatógrafo de gases ThermoScientific Trace 1310. Este cromatógrafo está equipado con un detector de conductividad térmica, una columna TG-BOND Msieve 5A (Thermo

Scientific) diámetro 0.32 mm, 30 metros de largo y malla 30 μm , el gas acarreador utilizado fue nitrógeno grado cromatográfico a una presión de 60-80 psi. Las condiciones de operación del cromatógrafo de gases en la detección de biogás se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Condiciones del cromatógrafo de gases.

Parámetro	Valor
Tiempo de corrida	5 minutos
Flujo del gas acarreador	20 mL/min
Pico de hidrógeno	2.5 minutos
Pico de metano	3.8 minutos
Condiciones de columna	Temperatura del horno 100°C, temperatura del detector 200°C, temperatura del inyector 150°C.

Se realizó una curva de calibración para cada gas que se deseaba analizar (Hidrógeno y Metano), para ello se inyectaron volúmenes de 0.5 hasta 10 mL (de 20 a 408 μmolar) de cada gas por separado. Las concentraciones de gases se calcularon mediante la fórmula de gases ideales (Ecuación 5)

$$n = \frac{PV}{RT}$$

ecuación 5

Donde:

$$R = 82.057 \text{ atm} \cdot \text{mL/K} \cdot \text{mol},$$

$$P = 101325 \text{ kPa},$$

V = es el volumen inyectado de la muestra en L

T = es la temperatura en grados °K.

4.5.4 Gompertz

Para evaluar las cinéticas en el proceso de producción de metano, se utilizó el modelo de Gompertz, esta prueba se realizó al terminar cada cinética. Mediante este modelo es posible cuantificar la cantidad de metano producido, en términos de rendimiento y tasa. La ecuación 6 muestra un modelo matemático ajustado para describir el progreso acumulativo de la producción de hidrógeno y metano en un experimento batch, tal como se realizó en este estudio.

$$H = H_{max} \times \exp \left[-\exp \left(\frac{\exp \times R_{max}(\lambda - T) + 1}{H_{max}} \right) \right]$$

ecuación 6

Donde :

H = corresponde a la producción acumulada de hidrógeno o metano (mmol).

Hmax = Es la tasa de producción producida de hidrógeno o metano (mmol)

Rmax = Es la tasa de producción máxima por hora de hidrógeno o metano (mmol/h),

T = es el tiempo de la cinética (h),

λ = es la fase lag (h).

E = es el valor exponencial (2.71).

(Buitrón y Carvajal, 2010; Zheng *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2018).

5. Resultados y Discusión

5.1 Sólidos Suspendidos Volátiles

Lodo anaerobio proveniente de la planta de tratamiento de agua de la cervecería Cuauhtémoc Moctezuma planta Monterrey, Nuevo León, cuenta con las siguientes características:

Tabla 5. Sólidos totales y sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio de la cervecería Cuauhtémoc Moctezuma

ST	SV	SSV	% volátil
11390 mg	1527 mg	9863 mg	86

Lodo anaerobio proveniente de la planta de tratamiento de agua de la Cervecería Modelo del Noroeste localizada en Ciudad Obregón, Sonora. Cuenta con las siguientes características:

Tabla 6. Sólidos totales y sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio de la cervecería Modelo del Noroeste

ST	SV	SSV	% volátil
6318 mg	696 mg	5622 mg	88

Una vez que se realizaron los cálculos de lodos suspendidos volátiles, se eligió el lodo anaerobio proveniente de cervecería Cuauhtémoc Moctezuma planta Monterrey para trabajar, ya que tiene un mayor valor en materia orgánica, y en esta carga orgánica podemos encontrar proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, lípidos (Schmidt & Ahring.,1994), y microorganismos como *Clostridium ramosum* (Lin *et al.*, 2006); *Geobacter sp* (Escapa *et al.*, 2015) y *Methanosaeta* (Sun *et al.*, 2015). Zhao *et al.* en el 2018 analizaron la cantidad de sólidos suspendidos de lodo anaerobio proveniente de la planta tratadora de aguas de una refinería, presentado una cantidad de 5.1 g de SSV/L. Guo *et al.*, 2013 obtuvieron 5.980 g de SSV/L de un lodo anaerobio proveniente de un tanque de sedimentación secundaria de una planta tratadora de agua de la ciudad de Beijing, China. Si se compara con estos dos trabajos el lodo que se eligió tiene un valor más alto que los obtenidos por Zhao y Guo.

5.2 Cinéticas de producción de biogás con electrodos sin modificar.

La actividad hidrogenogénica presentó fases lag con duración de 9 a 14 horas, las mayores producciones de hidrógeno se presentaron desde las 21 horas y hasta las 33 horas experimentales, donde el fieltro de grafito (Tabla 7) presentó una mayor tasa de producción con 117.5 μmol de H_2/g de DQO. Sin embargo, fue preferible utilizar el valor producido por las barras de grafito con 115.5 μmol de H_2/g de DQO, ya que el valor producido con el fieltro se vio alterado por la electrólisis del agua, lo que ayudó a producir hidrógeno por vía electroquímica. Después de las 33 horas se empezó a disminuir la producción de hidrógeno, debido a la actividad de los microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos que oxidan el hidrógeno utilizando el dióxido de carbono como aceptor final de electrones para producir metano.

Tabla 7. Producción de hidrógeno con electrodos sin modificar

Voltajes	Consumo de sustrato (%)	Producción acumulada de H ₂ (μmol/ g de DQO)	Hmax (μmol/ g de DQO)	Rmax (μmol/h* g de DQO)	Tiempo de latencia (h)	Incremento relativo de Hmax(%)	Tasa especifica de la producción de H ₂ (μmol/L*H)
Láminas de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos 0 V	86.8	80.5	73.51	8.565	14.07	0	85.65
	88.28	77	77.89	6.645	13.76	5.62	66.45
0.5 V	89.23	90.5	90.23	7.135	13.31	18.53	71.35
1.0 V	94.51	92.5	85.92	8.055	12.92	14.44	80.55
1.5 V	89.86	102	96.55	10.26	14.43	23.86	102.6
Filtro de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos 0 V	90.87	97	93.675	9.825	9.36	0	98.25
	87.17	106	90.24	6.295	11.59	-3.81	62.95
0.5 V	88.81	80.5	127.685	8.305	8.74	26.64	83.05
1 V	90.13	107	118.035	6.72	11.35	20.64	67.2
1.5 V	88.38	117.5	107.665	6.5	11.01	12.99	65
Barras de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos 0 V	96.3	94	100.63	4.598	11.12	0.00	45.98
	95.33	91	90.24	6.295	11.59	-11.51	62.95
0.5 V	97.09	139	127.685	8.305	8.74	21.19	83.05
1.0 V	97.57	115.5	118.035	6.72	11.35	14.75	67.2
1.5 V	90.39	106.5	107.665	6.5	11.01	6.53	65

Durante la actividad metanogénica se presentaron fases lag que duraron de 8 a 17 horas (Anexos), alcanzado su mayor producción desde las 40 a las 48 horas. Cuando se emplearon láminas de grafito la mayor producción de metano se logró con el estímulo de un 1 V y fue de 294.5 μmol de CH₄/ g de DQO, presentando un incremento del 18% en comparación con el control sin electrodos y estímulo eléctrico (Tabla 8). Siegert *et al.* (2014) reportaron una producción de 0.116 μmol de metano/día, atribuyendo los bajos niveles de producción de metano a la poca área superficial y baja relación de superficie en comparación con las de los materiales más porosos. En este trabajo se logró una mayor producción que la obtenida por Siegert y colaboradores, esto puede deberse a que los electrodos

tenían un área superficial de 3 cm de ancho x 5 cm de largo y el área de los electrodos empleados por estos investigadores era de 2 cm x 2 cm.

Cuando se utilizó fieltro de grafito se alcanzó la mayor producción con el estímulo de 1 V, siendo ésta de 276 μmol de CH_4 / g de DQO (Tabla 8), sin embargo fue menor que la que se logró cuando se utilizaron láminas de grafito en ambos electrodos, presentando un 20% de incremento en comparación con el control sin estímulos eléctricos. Zhen *et al.* (2016) mencionan que el estímulo donde se presenta un mayor incremento en la producción es con el estímulo eléctrico de un 1 V. La mayor producción con barras de grafito en ambos electrodos fue con el estímulo de 1 V con 325.5 μmol de CH_4 / g de DQO (Tabla 8), presentando un incremento del 23.37% en comparación con el control. Liu *et al.* (2017) reportan un incremento de un 56% mediante la utilización de electrodos de grafito aplicando un estímulo de 0.8 V, en una celda de un compartimiento, el inóculo fue un lodo anaerobio activado 24 horas previas al inicio de las cinéticas y en este estudio se empleó un lodo activo que se encontraba en su reservorio. La producción de metano con tela FM50K en ambos electrodos (Tabla 8) fue de 262.5 μmol de CH_4 / g de DQO con un estímulo de 0.5 V, con un incremento del 16.50% en comparación con el control. Cheng *et al.* (2009) presentaron una producción de 900 μmol de CH_4 /día con un estímulo de 0.7 V utilizando telas de carbono en ambos electrodos. La tela de carbono fue previamente utilizada para la formación de una biopelícula de bacterias exoelectrogénicas. Los incrementos en la producción de metano en el presente estudio probablemente se pueden ver influenciados por el aumento en la producción de hidrógeno y de ácidos orgánicos

que favorecen el metabolismo de los microorganismos exoelectrogénicos ya que van a transferir mayor cantidad de electrones hacia el material conductor, lo que beneficia a los microorganismos metanogénicos (Li *et al.*2017).

Tabla 8. Producción de metano con electrodos sin modificar

Voltajes	Consumo de sustrato (%)	Producción acumulada de CH ₄ (μmol/g de DQO)	Hmax (μmol/g de DQO)	Rmax (μmol/h* g de DQO)	Tiempo de latencia (h)	Incremento relativo de Hmax(%)	Tasa específica de la producción de CH ₄ (μmol/L*H)
Láminas de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos	86.8	250	259.585	13.32	17.5	3.69	133.2
0 V	88.28	273.5	285.8	13.83	16.96	12.53	138.3
0.5 V	89.23	287.5	292.925	14.595	16.52	14.65	146
1.0 V	94.51	294.5	306.63	14.61	15.65	18.47	146.1
1.5 V	89.86	275	283.75	13.95	16.63	11.89	139.6
Filtro de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos	90.87	243.5	222.39	17.98	16.51	0.00	179.80
0 V	87.17	234.5	249.85	17.93	16.51	10.99	179.30
0.5 V	88.81	215	220.64	9.58	13.85	-0.80	95.75
1 V	90.13	276	281.16	11.79	13.85	20.90	117.85
1.5 V	88.38	261	251.08	15.14	12.91	11.42	151.40
Barras de grafito en ambos electrodos							
Control sin electrodos	96.3	250	236.95	14.56	14.97	0	145.6
0 V	95.33	256.5	249.71	12.02	12.88	5.11	120.25
0.5 V	97.09	304	305.18	13.77	13.65	22.35	137.7
1.0 V	97.57	325.5	309.22	13.34	8.65	23.37	133.4
1.5 V	90.39	237.5	319.22	12.84	8.65	25.77	128.4
Tela de carbon activado en ambos electrodos							
Control sin electrodos	92.53	222.5	217.25	17.1	12.74	0.00	171
0 V	84.28	217.5	192.52	12.59	15.77	-12.84	125.9
0.5 V	86.06	262.5	260.17	18.03	16.37	16.50	180.35
1.0 V	86.62	252	251.95	18.08	13.61	13.77	180.85
1.5 V	81.04	245.5	244.35	13.28	13.62	11.09	132.85

5.3 Modificación de materiales carbonáceos

Se realizó la modificación de la tela FM50K (Figura 7), donde se obtuvo una capacidad de adsorción de 1.31 mmol de AQS/g de tela fm50k. Una vez que se realizaron los tres lavados al material, la capacidad de adsorción inicial disminuyó a 1.09 mmol de AQS/g. Esta disminución en la concentración se puede deber a que no todo el AQS presentó una interacción de su grupo sulfonato (SO_3^-) con el Cl^- de la tela modificada. Alvarez *et al.* (2017) lograron una inmovilización de 0.276 mmol de AQDS/g de carbón activado mineral, en este estudio la tela FM50K adsorbió 3.9 veces más AQS que en dicho trabajo.

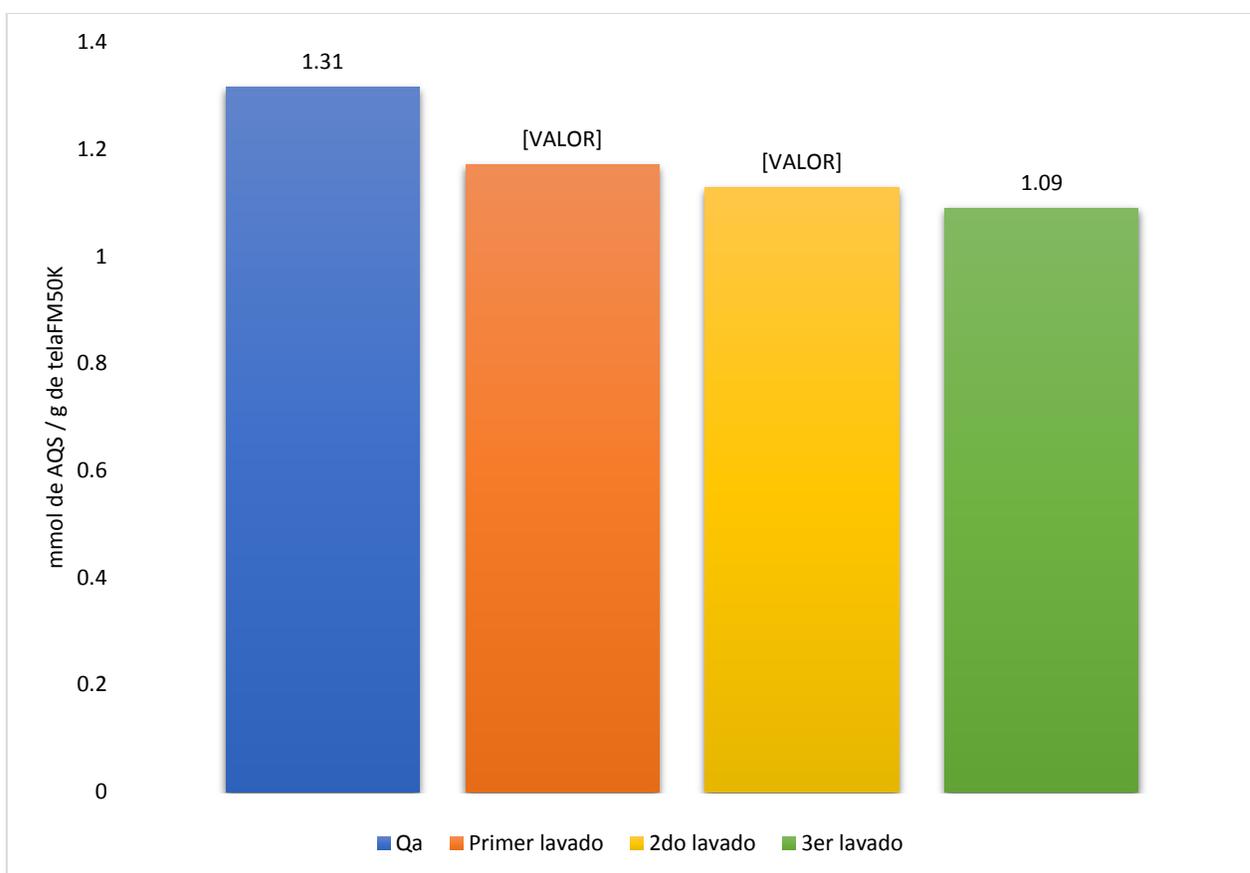


Figura 7. Adsorción de AQS en tela FM50-K

5.4 Cinéticas de producción de biogás con tela FM50K modificada con AQS.

Se utilizó la tela FM50K modificada con AQS en ambos electrodos, donde la mayor producción de hidrógeno (Tabla 9) fue de 371.5 μmol de H_2 /g de DQO mediante la utilización del estímulo eléctrico de un 1 V, presentado un consumo de sustrato del 86.57 %. Comparado con el control de digestión anaerobia sin electrodos, se presentó un incremento relativo de 39.77%. Cuando se utiliza tela FM50K en el ánodo y barra de grafito en el cátodo la producción fue menor con 249.5 μmol de H_2 / g de DQO con la aplicación de un estímulo eléctrico de 1 V, presentado un incremento del 52% en comparación con el control sin electrodos. Esta producción fue mucho menor comparada con la configuración de tela en ambos electrodos, esto se debe a que cuando se utilizó tela modificada en ambos electrodos no se presentó actividad metanogénica ya que el potencial redox del AQS inmovilizado es de -248 mV mientras que el potencial redox de la metanogénesis es de -240 mV (Figura 8). El AQS inmovilizado presenta un potencial más bajo que el de la metanogénesis, por lo que actúa como secuestrante de electrones para que los microorganismos puedan reducirlo, mientras que estos electrones deberían estar destinados a la actividad metanogénica (Tang *et al.*, 2014; Sikora *et al.*, 2017).

Tabla 9. Producción de hidrógeno con electrodos modificados

Voltajes	Consumo de sustrato (%)	Producción acumulada de H ₂ (μmol/g de DQO)	Hmax (μmol/g de DQO)	Rmax (μmol/h* g de DQO)	Tiempo de latencia (h)	Incremento relativo de Hmax(%)	Tasa específica de la producción de H ₂ (μmol/L*H)
Tela de carbon activado con AQS en ambos electrodos							
Control sin electrodos	90.41	167	227.16	8.565	9.86	0	109.05
0 V	87.67	213.5	210.57	10.90	14.62	-7.88	131.7
0.5 V	89.86	262.5	257.07	13.17	14.09	11.63	136.7
1.0 V	86.57	371.5	377.18	14.65	14.72	39.77	146.55
1.5 V	99.26	247.5	234.6	15.55	13.45	3.17	155.5
Tela de carbon activado con AQS en el ánodo y barra de grafito en el cátodo (H ₂)							
Control sin electrodos	93.98	148.5	135.33	4.49	11.12	0	45.98
0 V	94.09	229.5	294	13.1	13.61	53.97	131
0.5 V	95.99	218.4	217.75	19.66	14.08	37.85	196.65
1.0 V	93.98	249.5	285.06	12.77	11.12	52.36	127.75
1.5 V	91.24	277	135.44	7.94	10.21	0.08	79.4

E'º (mV)		Referencias
-420	Reducción de protones	(Rabae and Verstraete 2005)
-320	NAD+	(Rabae and Verstraete 2005)
-248	AQS inmovilizado en electrodos	(Tang <i>et al</i> 2014)
-240	Metanogénesis	(Sikora <i>et al</i> 2017)
-225	AQS soluble	(Tang <i>et al</i> 2017)
-220	reducción de sulfato	(Sikora <i>et al</i> 2017)
-185	piruvato a lactato	(Rabae and Verstraete 2005)
-184	reducción del AQDS	(Du <i>et al</i> 2017)
-180	FAD	(Rabae and Verstraete 2005)

Figura 8. Potenciales redox

La máxima tasa de producción de metano se presentó con el estímulo de 1 V produciéndose 309 μmol de CH_4/g de DQO (Tabla 10), presentando una tasa de consumo del 93.98 %. Se presentó un incremento relativo en la producción de un 22.25% en comparación con el control de digestión anaerobia sin electrodos. Ye *et al.* (2012) reportan un incremento del 15% en la producción cuando se utiliza AQDS en su estado reducido. Los incrementos obtenidos en este estudio fueron superiores a lo reportado por Ye y colaboradores.

Tabla 10. Producción de metano con electrodos modificados

Voltajes	Consumo de sustrato (%)	Producción acumulada de CH_4 ($\mu\text{mol}/\text{g}$ de DQO)	Hmax ($\mu\text{mol}/\text{g}$ de DQO)	Rmax ($\mu\text{mol}/\text{h}^*$ g de DQO)	Tiempo de latencia (h)	Incremento relativo de Hmax(%)	Tasa específica de la producción de CH_4 ($\mu\text{mol}/\text{L}^*\text{H}$)
<i>Tela de carbon activado con AQS en el ánodo y barra de grafito en el ánodo (CH_4)</i>							
Control sin electrodos	93.98	297	305.18	12.77	12.77	0	135.9
0 V	94.09	294	316.34	10.32	12.57	13.54	103.25
0.5 V	95.99	373	424.95	12.7	14.74	37.91	127
1.0 V	93.98	309	339.37	9.21	8.92	22.25	92.15
1.5 V	91.24	260	263.84	10.18	10.64	0	101.85

6. Conclusiones

Las producciones de biogás más altas se presentaron con el estímulo eléctrico de 1 V. La mejor configuración de electrodos sin modificar con AQS fueron las barras de grafito ya que se produjeron 115.5 μmol de H_2/g de DQO y 325.5 μmol de CH_4/g de DQO.

Se logró inmovilizar 1.31 mmol de AQS/g de tela FM50K, aunque durante una cinética se presentó una ligera desorción, esto se podría deber a que el estímulo eléctrico contribuyó a la desorción de AQS o a que fue necesario realizar más lavados de la tela para que el material que no se adsorbió se eliminara con los lavados.

En la cinética de producción de biogás con tela FM50K modificada con AQS en ambos electrodos, solo hubo producción de hidrógeno y no de metano ya que los microorganismos destinaron sus electrones hacia el electrodo con AQS, esto se puede deber por la diferencia de potenciales redox, viéndose más favorecidos los microorganismos fermentadores que los metanogénicos.

Cuando se trabajó con la configuración tela FM50K con AQS en el ánodo y barra de grafito en el cátodo, se presentó un aumento del 13% en la producción de metano cuando no se aplicó voltaje, se incrementa un 37.91% al aplicar un estímulo de 0.5 V y cuando se aplicó un estímulo de 1 V el aumento fue de 22.25%.

7. Perspectivas

Evaluar el uso de los sistemas bioelectroquímicos con AQS inmovilizados en el tratamiento de efluentes industriales que tengan una alta cantidad de materia orgánica o que contengan algún contaminante recalcitrante.

Evaluar el uso de los electrodos en el interior de un reactor tipo UASB en un sistema semicontinuo.

8. Bibliografía

1. Aguilera, E. A. R. (2018). Generación de biogás mediante el proceso de digestión anaerobia, a partir del aprovechamiento de sustratos orgánicos. *Revista Científica de FAREM-Estelí*, (24), 60-81.
2. Alvarez, L. H., & Cervantes, F. J. "Assessing the impact of alumina nanoparticles in an anaerobic consortium: methanogenic and humus reducing activity". *Applied microbiology and biotechnology*, 95(5), 1323-1331, (2012).
3. Alvarez, L. H., Cervantes, F. J., & Gortares, P. (2013). Avances en la aplicación de mediadores redox durante la (bio) transformación de contaminantes recalcitrantes. *BioTecnología*, 17(3), 43.
4. Alvarez, L. H., Arvizu, I. C., García-Reyes, R. B., Martínez, C. M., Olivo-Alanis, D., & Del Angel, Y. A. (2017). Quinone-functionalized activated carbon improves the reduction of congo red coupled to the removal of p-cresol in a UASB reactor. *Journal of hazardous materials*, 338, 233-240.
5. Ahmed, J., Kim, S., 2013. Menadione-modified anodes for power enhancement in single chamber microbial fuel cells. *Bull. Kor. Chem. Soc.* 34, 3649–3653
6. APHA/AWWA/WFE. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th edn, Washington DC, USA.
7. Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in energy and combustion science*, 34(6), 755-781.
8. Arantes, M. K., Alves, H. J., Sequinel, R., & da Silva, E. A. (2017). Treatment of brewery wastewater and its use for biological production of methane and hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy*.
9. Artsupho, L., Jutakradsada, P., Laungphairojana, A., Rodriguez, J. F., & Kamwilaisak, K. (2016). Effect of temperature on increasing biogas production from sugar industrial wastewater treatment by UASB process in pilot scale. *Energy Procedia*, 100, 30-33.

10. Buitrón, G., & Carvajal, C. (2010). Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, 101(23), 9071-9077.
11. Call, D., & Logan, B. E. (2008). Hydrogen production in a single chamber microbial electrolysis cell lacking a membrane. *Environmental science & technology*, 42(9), 3401-3406.
12. Cervantes, F. J., Valenzuela, K. M. C., Ochoa, H. A. A., Díaz, F. S., & Flores, E. R. (2011). INMOVILIZACIÓN DE UN MEDIADOR REDOX EN CARBÓN ACTIVADO Y SU APLICACIÓN EN LA REDUCCIÓN BIOLÓGICA DE COLORANTES AZO. *Ene*, 3(5), 1.
13. Cheng, S., Xing, D., Call, D. F., & Logan, B. E. (2009). Direct biological conversion of electrical current into methane by electromethanogenesis. *Environmental science & technology*, 43(10), 3953-3958.
14. Chunshuang, L., Wenfei, L., Dongfeng, Z., Wei, L., Xuechen, L., Chaocheng, Z., & Fang, L. (2017). Simultaneous Biological Removal of p-Cresol, Sulfide and Nitrate by Denitrification.
15. Chong, M. L., Sabaratnam, V., Shirai, Y., & Hassan, M. A. (2009). Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(8), 3277-3287.
16. Cheng, S., & Logan, B. E. (2011). High hydrogen production rate of microbial electrolysis cell (MEC) with reduced electrode spacing. *Bioresource technology*, 102(3), 3571-3574.
17. Chynoweth, D. P., & Isaacson, R. (1987). Digestión anaerobia de la biomasa. Elsevier Applied Science, 1-15.
18. Chynoweth, D. P., Owens, J. M., & Legrand, R. (2001). Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. *Renewable energy*, 22(1-3), 1-8.
19. Cui, D., Guo, Y.Q., Cheng, H.Y., Liang, B., Kong, F.Y., Lee, H.S., Wang, A.J., 2012. Azo dye removal in a membrane-free up-flow biocatalyzed electrolysis reactor coupled with an aerobic bio-contact oxidation reactor. *J. Hazard. Mater* 239e240, 257e264.

20. Cui, M. H., Cui, D., Gao, L., Wang, A. J., & Cheng, H. Y. (2017). Evaluation of anaerobic sludge volume for improving azo dye decolorization in a hybrid anaerobic reactor with built-in bioelectrochemical system. *Chemosphere*, *169*, 18-22.
21. Das, D., & Veziroğlu, T. N. (2001). Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, *26*(1), 13-28.
22. Demirel, B., & Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *7*(2), 173-190.
23. Delforno, T. P., Júnior, L., Vieira, G., Noronha, M. F., Sakamoto, I. K., Varesche, M. B. A., & Oliveira, V. M. (2017). Microbial diversity of a full-scale UASB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. *MicrobiologyOpen*, *6*(3).
24. De Wildeman, S., Nollet, H., Van Langenhove, H., & Verstraete, W. (2001). Reductive biodegradation of 1, 2-dichloroethane by methanogenic granular sludge in lab-scale UASB reactors. *Advances in Environmental Research*, *6*(1), 17-27
25. Dewan, A., Beyenal, H., & Lewandowski, Z. (2008). Scaling up microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, *42*(20), 7643-7648.
26. Dubois M, GILLES KA, HAMILTON JK, REBERS PA, SMITH F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal Chem* **28**:350–356.
27. Dumas, C., Mollica, A., Feron, D., Basseguy, R., Etcheverry, L., Bergel, A., 2007. Marine microbial fuel cell: use of stainless steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochim. Acta* *53*, 468–473.
28. Escapa, A., San-Martín, M. I., Mateos, R., & Morán, A. (2015). Scaling-up of membraneless microbial electrolysis cells (MECs) for domestic wastewater treatment: Bottlenecks and limitations. *Bioresource technology*, *180*, 72-78.
29. Feng, Y., Yang, Q., Wang, X., & Logan, B. E. (2010). Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air–cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, *195*(7), 1841-1844.

30. Feng, C., Ma, L., Li, F., Mai, H., Lang, X., & Fan, S. (2010). A polypyrrole/anthraquinone-2, 6-disulphonic disodium salt (PPy/AQDS)-modified anode to improve performance of microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(6), 1516-1520.
31. García Galludo, M., Goded Velardo, J. M., & Suárez Navarro, M. J. (1996). *Sistemas Energéticos. Termodinámica y termotecnia.*
32. Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P. N., & Esposito, G. (2015). A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. *Applied Energy*, 144, 73-95.
33. Guo, X., Liu, J., & Xiao, B. (2013). Bioelectrochemical enhancement of hydrogen and methane production from the anaerobic digestion of sewage sludge in single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *international journal of hydrogen energy*, 38(3), 1342-1347.
34. Guo, W., Feng, J., Song, H., Sun, J., 2014. Simultaneous bioelectricity generation and decolorization of methyl orange in a two-chambered microbial fuel cell and bacterial diversity. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 11531–11540.
35. Hernandez, M. E., Kappler, A., & Newman, D. K. (2004). Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. *Applied and environmental microbiology*, 70(2), 921-928.
36. Hu, B., & Chen, S. (2007). Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(15), 3266-3273.
37. Holladay, J. D., Hu, J., King, D. L. & Wang, Y. An overview of hydrogen production technologies. *Catalysis Today* **139**, 244–260 (2009).
38. Işık, M., & Sponza, D. T. (2005). Effects of alkalinity and co-substrate on the performance of an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor through decolorization of Congo Red azo dye. *Bioresource Technology*, 96(5), 633-643.
39. Jo, J. H., Lee, D. S., Park, D., & Park, J. M. (2008). Biological hydrogen production by immobilized cells of *Clostridium tyrobutyricum* JM1 isolated from a food waste treatment process. *Bioresource Technology*, 99(14), 6666-6672.

40. Jiang, D., & Li, B. (2009). Novel electrode materials to enhance the bacterial adhesion and increase the power generation in microbial fuel cells (MFCs). *Water Science and Technology*, 59(3), 557-563.
41. Kadier, A., Kalil, M. S., Abdeshahian, P., Chandrasekhar, K., Mohamed, A., Azman, N. F., ... & Hamid, A. A. (2016). Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 61, 501-525
42. Kyazze, G., Popov, A., Dinsdale, R., Esteves, S., Hawkes, F., Premier, G., & Guwy, A. (2010). Influence of catholyte pH and temperature on hydrogen production from acetate using a two chamber concentric tubular microbial electrolysis cell. *international journal of hydrogen energy*, 35(15), 7716-7722.
43. Lee, S. H., Park, J. H., Kim, S. H., Yu, B. J., Yoon, J. J., & Park, H. D. (2015). Evidence of syntrophic acetate oxidation by Spirochaetes during anaerobic methane production. *Bioresource technology*, 190, 543-549.
44. Lin, P. Y., Whang, L. M., Wu, Y. R., Ren, W. J., Hsiao, C. J., Li, S. L., & Chang, J. S. (2007). Biological hydrogen production of the genus *Clostridium*: metabolic study and mathematical model simulation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(12), 1728-1735.
45. Liu H, Hu H, Chignell J, Fan Y. Microbial electrolysis: novel technology for hydrogen production from biomass. *Biofuels* 2010;1(1):129–42.
46. Liu, Z., Liu, J., Zhang, S., Xing, X. H., & Su, Z. (2011). Microbial fuel cell based biosensor for in situ monitoring of anaerobic digestion process. *Bioresource technology*, 102(22), 10221-10229.
47. Liu, W., Wang, A., Sun, D., Ren, N., Zhang, Y., & Zhou, J. (2012). Characterization of microbial communities during anode biofilm reformation in a two-chambered microbial electrolysis cell (MEC). *Journal of biotechnology*, 157(4), 628-632.
48. Liu H, Hu H, Chignell J, Fan Y. Microbial electrolysis: novel technology for hydrogen production from biomass. *Biofuels* 2010;1(1):129–42.
49. Lin, C. Y., Lee, C. Y., Tseng, I. C., & Shiao, I. Z. (2006). Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora. *Process Biochemistry*, 41(4), 915-919.

50. Lovley, D. R. (2012). Electromicrobiology. *Annual review of microbiology*, 66, 391-409.
51. Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., ... & Rabaey, K. (2006). Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, 40(17), 5181-5192.
52. Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., ... & Rabaey, K. (2006). Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, 40(17), 5181-5192.
53. Logan, B., Cheng, S., Watson, V., & Estadt, G. (2007). Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 41(9), 3341-3346.
54. Logan, B. E., Call, D., Cheng, S., Hamelers, H. V., Sleutels, T. H., Jeremiasse, A. W., & Rozendal, R. A. (2008). Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter. *Environmental science & technology*, 42(23), 8630-8640.
55. Lowy, D. A., Tender, L. M., Zeikus, J. G., Park, D. H., & Lovley, D. R. (2006). Harvesting energy from the marine sediment–water interface II: kinetic activity of anode materials. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(11), 2058-2063.
56. Lowy, D. A., & Tender, L. M. (2008). Harvesting energy from the marine sediment–water interface: III. Kinetic activity of quinone- and antimony-based anode materials. *Journal of Power Sources*, 185(1), 70-75.
57. Lu, L., Ren, N., Xing, D., & Logan, B. E. (2009). Hydrogen production with effluent from an ethanol–H₂-coproducing fermentation reactor using a single-chamber microbial electrolysis cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(10), 3055-3060.
58. Lu, L., Xing, D., Xie, T., Ren, N., & Logan, B. E. (2010). Hydrogen production from proteins via electrohydrogenesis in microbial electrolysis cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(12), 2690-2695.
59. Lei, Y., Sun, D., Dang, Y., Chen, H., Zhao, Z., Zhang, Y., & Holmes, D. E. (2016). Stimulation of methanogenesis in anaerobic digesters treating leachate from a municipal solid waste incineration plant with carbon cloth. *Bioresource technology*, 222, 270-276.

60. Lin, C. Y., Lee, C. Y., Tseng, I. C., & Shiao, I. Z. (2006). Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora. *Process Biochemistry*, 41(4), 915-919.
61. Li, Y., Zhang, Y., Yang, Y., Quan, X., & Zhao, Z. (2017). Potentially direct interspecies electron transfer of methanogenesis for syntrophic metabolism under sulfate reducing conditions with stainless steel. *Bioresource technology*, 234, 303-309.
62. Linji, X., Wenzong, L., Yining, W., Aijie, W., Shuai, L., & Wei, J. (2013). Optimizing external voltage for enhanced energy recovery from sludge fermentation liquid in microbial electrolysis cell. *international journal of hydrogen energy*, 38(35), 15801-15806.
63. Liu, S. Y., Charles, W., Ho, G., Cord-Ruwisch, R., & Cheng, K. Y. (2017). Bioelectrochemical enhancement of anaerobic digestion: Comparing single- and two-chamber reactor configurations at thermophilic conditions. *Bioresource technology*, 245, 1168-1175.
64. Park, D. H., & Zeikus, J. G. (2003). Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and bioengineering*, 81(3), 348-355.
65. Parameswaran, P., Zhang, H., Torres, C. I., Rittmann, B. E., & Krajmalnik-Brown, R. (2010). Microbial community structure in a biofilm anode fed with a fermentable substrate: the significance of hydrogen scavengers. *Biotechnology and bioengineering*, 105(1), 69-78.
66. Pavlostathis, S. G., & Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 21(5-6), 411-490.
67. Peece, R. E. (1983). Biotechnology for anaerobic waste treatment. *Science and Technology*(17), 416A - 427A.
68. Popov, A.L., Kim, J.R., Dinsdale, R.M., Esteves, S.R., Guwy, A.J., Premier, G.C., 2012. The effect of physico-chemically immobilized methylene blue and neutral red on the anode of microbial fuel cell. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 17, 361–370.
69. Peiris BRH, Rathnashri PG, Johansen JE, Kuhn A, Bakke R. ADM1 simulations of hydrogen production. *Water Sci Technol* 2006;53:129–37.

70. Rivera, I., Buitrón, G., Bakonyi, P., Nemestóthy, N., & Bélafi-Bakó, K. (2015). Hydrogen production in a microbial electrolysis cell fed with a dark fermentation effluent. *Journal of Applied Electrochemistry*, 45(11), 1223-1229.
71. Rozendal, R. A., Jeremiasse, A. W., Hamelers, H. V., & Buisman, C. J. (2007). Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environmental science & technology*, 42(2), 629-634.
72. Rozendal, R. A., Harnisch, F., Jeremiasse, A., & Schroder, U. (2010). Chemically catalyzed cathodes in bioelectrochemical systems.
73. Sangcharoen, A., Niyom, W., & Suwannasilp, B. B. (2015). A microbial fuel cell treating organic wastewater containing high sulfate under continuous operation: Performance and microbial community. *Process Biochemistry*, 50(10), 1648-1655.
74. Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., & Ieropoulos, I. (2017). Microbial fuel cells: from fundamentals to applications. A review. *Journal of power sources*, 356, 225-244.
75. Samsudeen, N., Radhakrishnan, T. K., & Matheswaran, M. (2015). Bioelectricity production from microbial fuel cell using mixed bacterial culture isolated from distillery wastewater. *Bioresour. Technol.*, 195, 242-247.
76. Saxena, R. C., Adhikari, D. K., & Goyal, H. B. (2009). Biomass-based energy fuel through biochemical routes: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(1), 167-178.
77. Schmidt, J. E. E., & Ahring, B. K. (1994). Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42(2-3), 457-462.
78. Siegert, M., Yates, M. D., Call, D. F., Zhu, X., Spormann, A., & Logan, B. E. (2014). Comparison of nonprecious metal cathode materials for methane production by electromethanogenesis. *ACS sustainable chemistry & engineering*, 2(4), 910-917.
79. Singh, S. *et al.* Hydrogen: A sustainable fuel for future of the transport sector. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 51, 623–633 (2015).
80. Sikora, A., Błaszczak, M., Jurkowski, M., & Zielenkiewicz, U. (2013). Lactic acid bacteria in hydrogen-producing consortia: on purpose or by

coincidence?. In *Lactic acid bacteria-R & D for food, health and livestock purposes*. InTech.

81. Sikora, A., Detman, A., Chojnacka, A., & Błaszczuk, M. K. (2017). Anaerobic Digestion: I. A Common Process Ensuring Energy Flow and the Circulation of Matter in Ecosystems. II. A Tool for the Production of Gaseous Biofuels. In *Fermentation Processes*. InTech.
82. Sun, J., Li, W., Li, Y., Hu, Y., & Zhang, Y. (2013). Redox mediator enhanced simultaneous decolorization of azo dye and bioelectricity generation in air-cathode microbial fuel cell. *Bioresource technology*, *142*, 407-414.
83. Sun, R., Zhou, A., Jia, J., Liang, Q., Liu, Q., Xing, D., & Ren, N. (2015). Characterization of methane production and microbial community shifts during waste activated sludge degradation in microbial electrolysis cells. *Bioresource technology*, *175*, 68-74.
84. Tang, X., Li, H., Du, Z., & Ng, H. Y. (2014). Spontaneous modification of graphite anode by anthraquinone-2-sulfonic acid for microbial fuel cells. *Bioresource technology*, *164*, 184-188
85. Tang, X., & Ng, H. Y. (2017). Anthraquinone-2-sulfonate immobilized to conductive polypyrrole hydrogel as a bioanode to enhance power production in microbial fuel cell. *Bioresource technology*, *244*, 452-455.
86. Tawfik, A., Sobhey, M., & Badawy, M. (2008). Treatment of a combined dairy and domestic wastewater in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor followed by activated sludge (AS system). *Desalination*, *227*(1-3), 167-177.
87. Torres, C. I., Marcus, A. K., Lee, H. S., Parameswaran, P., Krajmalnik-Brown, R., & Rittmann, B. E. (2010). A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. *FEMS microbiology reviews*, *34*(1), 3-17.
88. Rabaey, K., & Rozendal, R. A. (2010). Microbial electrosynthesis—revisiting the electrical route for microbial production. *Nature Reviews Microbiology*, *8*(10), 706
89. Rivera, I., Buitrón, G., Bakonyi, P., Nemestóthy, N., & Bélafi-Bakó, K. (2015). Hydrogen production in a microbial electrolysis cell fed with a dark fermentation effluent. *Journal of Applied Electrochemistry*, *45*(11), 1223-1229.

90. Rozendal, R. A., Jeremiasse, A. W., Hamelers, H. V., & Buisman, C. J. (2007). Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environmental science & technology*, 42(2), 629-634.
91. Rozendal RA, Jeremiasse AW, Hamelers HVM, Buisman CJN. Hydrogen production with a microbial biocathode. *Environ Sci Technol*. 2008;42:629–34.
92. Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., Tuominen, M. T., & Lovley, D. R. (2005). Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 435(7045), 1098.
93. Ma, J., Ke, S., & Chen, Y. (2008). Biological hydrogen production by anaerobic fermentation from carbohydrate-containing waste. *Journal of Biotechnology*, 136, S661.
94. Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2017). *Brock biology of microorganisms* (Vol. 13). Pearson.
95. Martinez, C. M., & Alvarez, L. H. (2018). Application of redox mediators in bioelectrochemical systems. *Biotechnology advances*.
96. MU, Yang, et al. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2006, vol. 31, no 6, p. 780-785.
97. Nayono, S. E. (2010). *Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production* (Vol. 46). KIT Scientific Publishing.
98. Newman DK, Kolter R. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer. *Nature* 2000;405:94–7
99. Ntaikou, I., Antonopoulou, G., & Lyberatos, G. (2010). Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: a review. *Waste and Biomass Valorization*, 1(1), 21-39.
100. Olivo-Alanis, D., Garcia-Reyes, R. B., Alvarez, L. H., & Garcia-Gonzalez, A. (2018). Mechanism of anaerobic bio-reduction of azo dye assisted with lawsone-immobilized activated carbon. *Journal of hazardous materials*, 347, 423-430.
101. Ostrem, K., & Themelis, N. J. (2004). Greening waste: Anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes. *Earth Engineering Center Columbia University*, 6-9.

102. Von Canstein, H., Ogawa, J., Shimizu, S., & Lloyd, J. R. (2008). Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Applied and environmental microbiology*, 74(3), 615-623.
103. Wang, X., Cheng, S., Feng, Y., Merrill, M. D., Saito, T., & Logan, B. E. (2009). Use of carbon mesh anodes and the effect of different pretreatment methods on power production in microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 43(17), 6870-6874.
104. Wang, K., Liu, Y., & Chen, S. (2011). Improved microbial electrocatalysis with neutral red immobilized electrode. *Journal of Power Sources*, 196(1), 164-168.
105. Wei, J., Liang, P., & Huang, X. (2011). Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresource technology*, 102(20), 9335-9344.
106. Wen, Q., Wu, Y., Cao, D., Zhao, L., & Sun, Q. (2009). Electricity generation and modeling of microbial fuel cell from continuous beer brewery wastewater. *Bioresource Technology*, 100(18), 4171-4175.
107. Xie, T., Jing, Z., Hu, J., Yuan, P., Liu, Y., & Cao, S. (2018). Degradation of nitrobenzene-containing wastewater by a microbial-fuel-cell-coupled constructed wetland. *Ecological Engineering*, 112, 65-71.
108. Xu, H., Quan, X., 2016. Anode modification with peptide nanotubes encapsulating ribo- flavin enhanced power generation in microbial fuel cells. *Int. J. Hydrog. Energy* 41, 1966–1973.
109. Yu, Z., Leng, X., Zhao, S., Ji, J., Zhou, T., Khan, A., ... & Li, X. (2018). A review on the applications of microbial electrolysis cells in anaerobic digestion. *Bioresource technology*.
110. Zhen, G., Lu, X., Kobayashi, T., Kumar, G., & Xu, K. (2016). Promoted electromethanogenesis in a two-chamber microbial electrolysis cells (MECs) containing a hybrid biocathode covered with graphite felt (GF). *Chemical Engineering Journal*, 284, 1146-1155.
111. Zhao, Z., Zhang, Y., Woodard, T. L., Nevin, K. P., & Lovley, D. R. (2015). Enhancing syntrophic metabolism in up-flow anaerobic sludge blanket reactors with conductive carbon materials. *Bioresource technology*, 191, 140-145.
112. Zhao, L., Li, J., Battaglia, F., & He, Z. (2016). Computational investigation of the flow field contribution to improve electricity generation in granular activated carbon-assisted microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 333, 83-87.

113. Zhao, L., Zhang, C., Bao, M., & Lu, J. (2018). Effects of different electron acceptors on the methanogenesis of hydrolyzed polyacrylamide biodegradation in anaerobic activated sludge systems. *Bioresource Technology*, 247, 759-768.
114. Zhao, C., Mu, H., Zhao, Y., Wang, L., & Zuo, B. (2018). Microbial characteristics analysis and kinetic studies on substrate composition to methane after microbial and nutritional regulation of fruit and vegetable wastes anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 249, 315-321.

Anexos

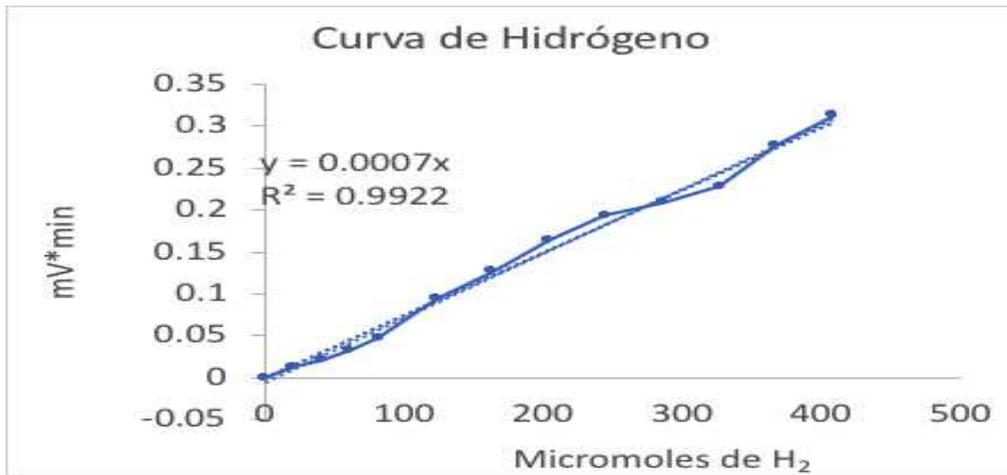


Figura 9. Curva de calibración de Hidrógeno mediante cromatografía

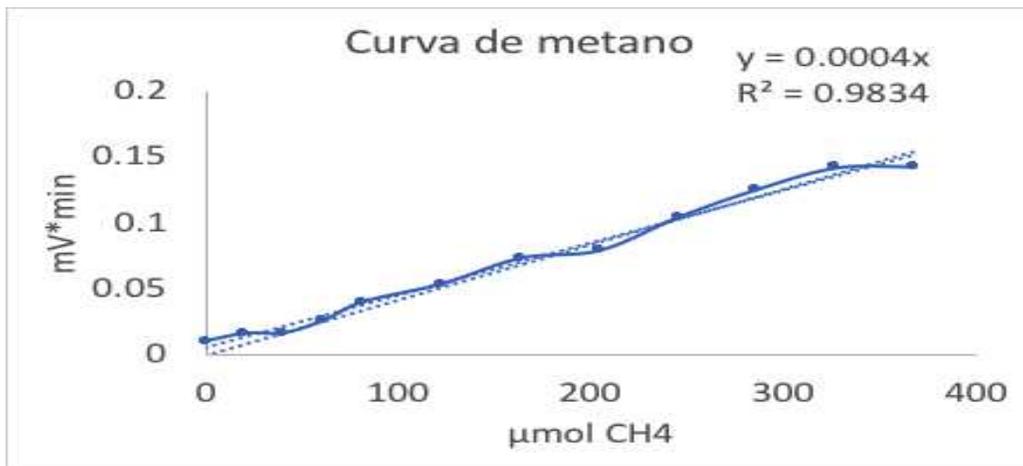


Figura 10. Curva de calibración de metano mediante cromatografía

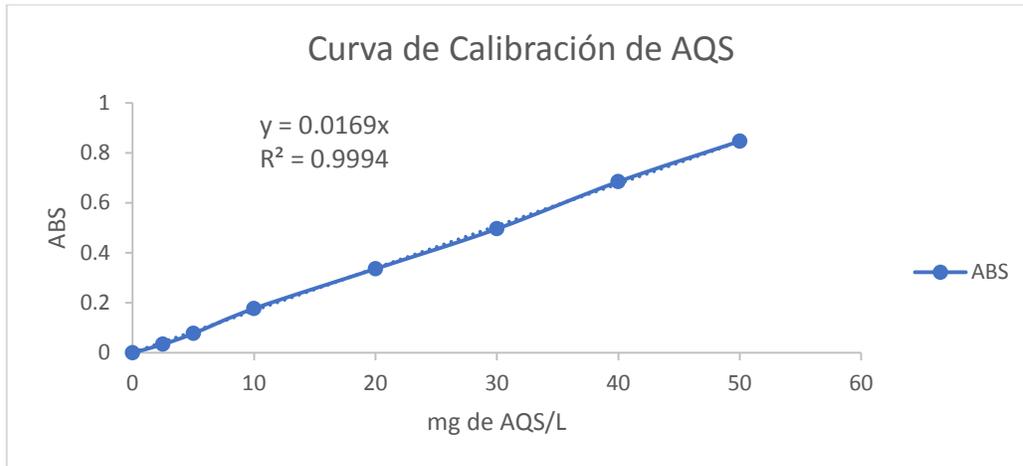


Figura 11. Curva de calibración de AQS

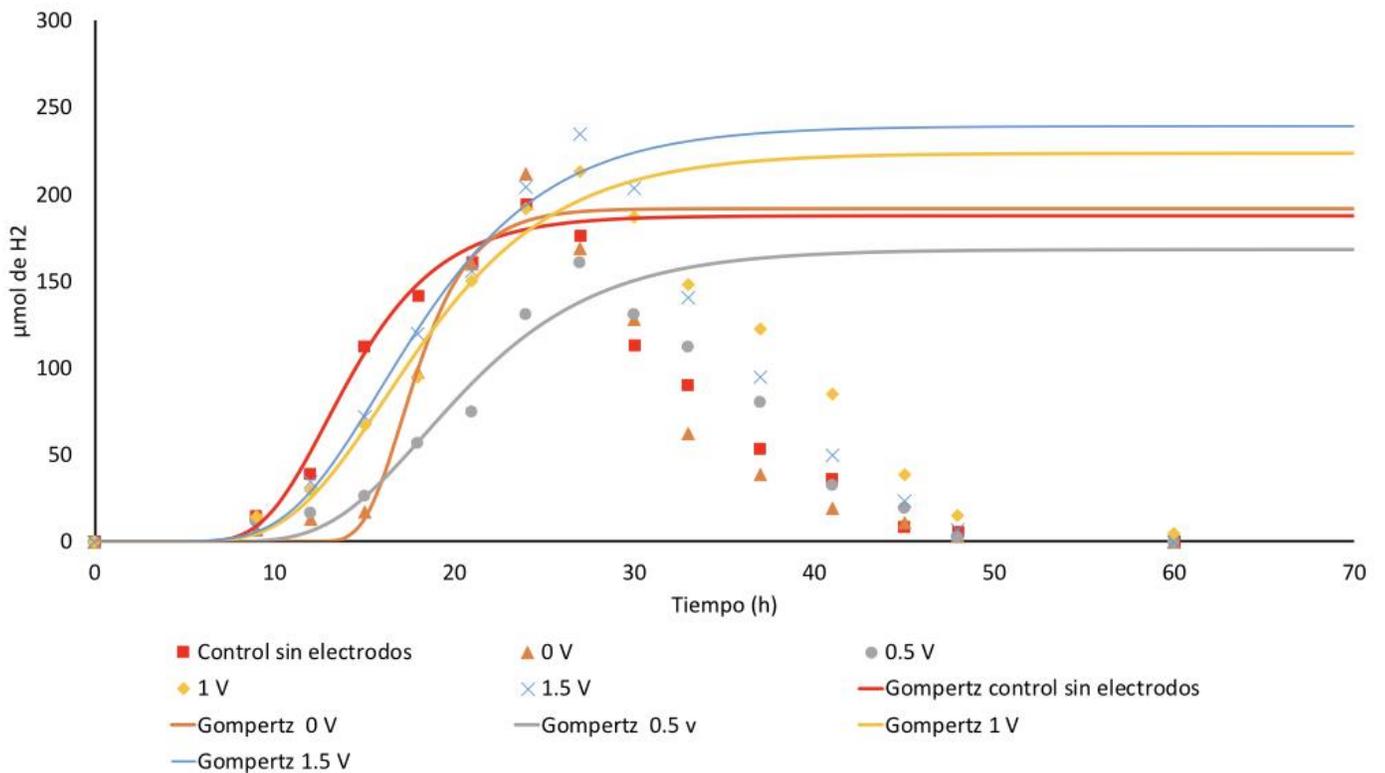


Figura 12. Cinética de Producción de hidrógeno

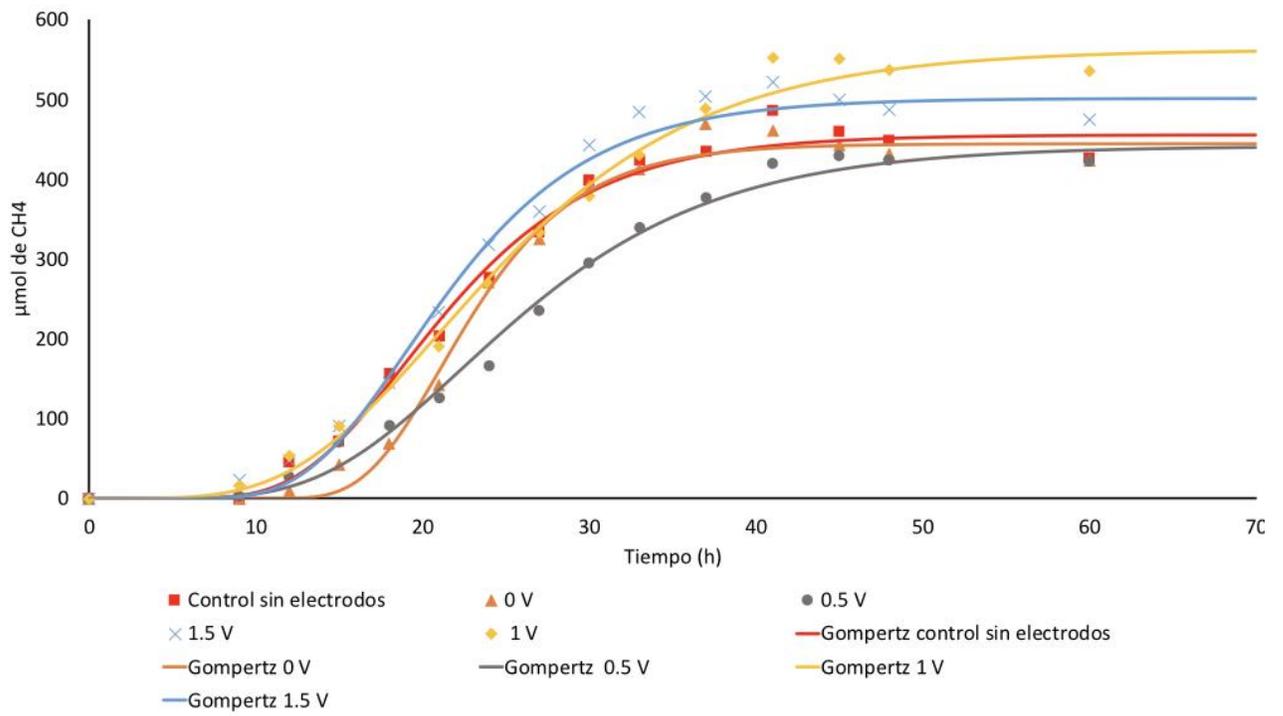


Figura 13. Cinética de Producción de metano