



MEDIO AMBIENTE
SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES



IMTA
INSTITUTO MEXICANO
DE TECNOLOGÍA DEL AGUA

COORDINACIÓN DE DESARROLLO PROFESIONAL E INSTITUCIONAL

SUBCOORDINACIÓN DE POSGRADO

TESIS

PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD EN HUMEDALES DE CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA A PARTIR DE EXUDADOS RADICULARES

que para obtener el grado de
Doctor en
Ciencias y Tecnología del Agua

p r e s e n t a

Oscar Guadarrama Pérez

Tutor: Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga
Cotutor: Dr. Armando Rivas Hernández

Jiutepec, Morelos

2020

Paseo Cuaunháhuac No. 8532, Col. Progreso, CP. 62550, Jiutepec, Morelos.
Tel: (777) 329 3600 www.gob.mx/imta



2020
AÑO DE
LEONA VICARIO
BENEMÉRITA MADRE DE LA PATRIA



F.C5.02.44.1



Con fundamento en los artículos 21 y 27 de la **Ley Federal del Derecho de Autor** y como titular de los derechos morales y patrimoniales de la obra titulada “**Producción de bioelectricidad en humedales de celda de combustible microbiana a partir de exudados radiculares**”, otorgo de manera gratuita y permanente al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, autorización para que fijen la obra en cualquier medio, incluido el electrónico y la divulgación entre su personal, estudiantes o terceras personas, sin que pueda percibir por tal divulgación una contraprestación.

Oscar Guadarrama Pérez

Jiutepec, Morelos. Octubre 2020



JURADO ASIGNADO

Presidente:	Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos
Secretario:	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Vocal 1:	Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga
Vocal 2:	Dr. Armando Rivas Hernández
Vocal 3:	Dr. Jesús Hernández Romano

Lugar donde se realizó la tesis

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua

Tutor de tesis



Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga

«Agradecimientos»

Mi sincera gratitud al Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga por dirigir y sustentar esta tesis.

Mi reconocimiento y atención al Dr. Armando Rivas Hernández por sus conducentes comentarios que enriquecieron y fortalecieron la presente investigación.

Agradezco a los integrantes de mi comité tutorial por sus valiosas aportaciones:

Dra. Sofía Esperanza Garrido Hoyos

Dra. Petia Mijaylova Nacheva

Dr. Jesús Hernández Romano

Mi respeto y agradecimiento a los institutos:

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA),
por permitirme cumplir esta meta profesional.

Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS)
del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

Instituto de Física (IF) de la Universidad Nacional
Autónoma de México (UNAM).

Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias
Aplicadas (CIICAP) de la Universidad Autónoma del
Estado de Morelos (UAEM).

Mi gratitud, hacia todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación académica y a la realización de la presente tesis.

«Dedicatoria»

A mi familia.

“En la vida no existe nada que temer, solo cosas que comprender”
-Marie Curie-



RESUMEN

En la presente investigación se determinó el rendimiento bioelectroquímico de una serie de macrófitas operadas en humedales de celda de combustible microbiana (H-CCM). En la primera etapa experimental se evaluó la producción de bioelectricidad de las especies: *Aglaonema commutatum*, *Cyperus papyrus*, *Epipremnum aureum*, *Dranacaena braunii*, *Philodendron cordatum*, *Chrysopogon zizanioides*, *Eichhornia crassipes* y *Juncus effusus*, donde se estudió el efecto de la intensidad de radiación solar sobre la producción de exudados radiculares. Para llevar a cabo la descripción bioelectroquímica se aplicaron diferentes pruebas potencioestáticas, con el propósito de ponderar la contribución de las variables de respuesta observadas. Los H-CCM fueron construidos con electrodos de fieltro de carbón, se operaron con un tiempo de retención hidráulico de 4 días en modo de flujo ascendente y se alimentaron con la solución modificada de Hoagland. Se utilizaron cátodos aireados y sobre cada ánodo se inóculo un consorcio bacteriano proveniente de lodo granular anaerobio. Las especies *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum* presentaron los mejores resultados, con máximos voltajes de 270 y 199 mV y densidades de potencia de 29.0 y 15.8 mW/m² respectivamente. La cuantificación de carbón orgánico total en los efluentes de cada H-CCM determinó la presencia de fotosintatos radiculares.

En la segunda etapa experimental se utilizó una membrana de intercambio protónico para separar la zona rizosférica de la cámara anaerobia, mejorando las condiciones biológicas en el sistema. Cualitativamente se identificaron metabolitos secundarios (terpenos, alcaloides y flavonoides) por cromatografía en capa fina, mismos que dan evidencias de la versatilidad y dinámica biológica presente en la rizósfera. También se cuantificaron distintos tipos de azúcares (sacarosa, fructosa, galactosa y glucosa) por cromatografía líquida, con concentraciones de 100-450 µg/L. Ambos análisis se realizaron a partir de los exudados radiculares de las especies *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum*. La sacarosa y la glucosa fueron los tipos de azúcares que produjeron en mayor cantidad, con porciones de hasta 35 y 24% respectivamente. Los azúcares son compuestos que fungieron como donadores de electrones para la producción de bioelectricidad, al utilizar sustratos endógenos que alimentaron la biopelícula el consumo fue de 45-55 (sacarosa) y 40-65 (glucosa) %.

En la tercera etapa experimental se identificaron los mecanismos de transferencia de electrones de la reacción de reducción de oxígeno (RRO), para ello se aplicaron pruebas electroquímicas e hidrodinámicas con un electrodo rotatorio acoplado a un potencioestato. Para potencializar el rendimiento de bioelectricidad, se impregnaron nanocatalizadores de grafeno/dióxido de titanio (G/TiO₂), grafeno/nitrógeno (G/N) y carbón/platino (C/Pt) sobre los cátodos. Los resultados demostraron que la RRO de cada electrodo se llevó a cabo a través de la vía directa, esta reacción involucra una transferencia de 4 electrones. El mejor rendimiento se obtuvo con G/TiO₂, donde el máximo voltaje fue de 490 mV, con una densidad de potencia de 99.2 mW/m². La modificación catódica propició un aumento de más del 100% de bioelectricidad.

Palabras clave: Humedales de celda de combustible microbiana – bioelectricidad – exudados radiculares – reacción de reducción de oxígeno – nanocatalizadores

ABSTRACT

In the present research work the bioelectrochemical performance of a series of macrophytes operated in wetlands microbial fuel cell (W-MFC) was determined. In the first experimental stage the bioelectricity production of the species: *Aglaonema commutatum*, *Cyperus papyrus*, *Epipremnum aureum*, *Dranacaena braunii*, *Philodendron cordatum*, *Chrysopogon zizanioides*, *Eichhornia crassipes* and *Juncus effusus* was evaluated, where the effect of solar radiation intensity on the production of root exudates was studied. To carry out the bioelectrochemical description, different potentiostatic tests were applied, to weigh the contribution of the observed response variables. The W-MFCs were built with carbon felt electrodes, these were operated with a hydraulic retention time of 4 days in upflow mode and were fed with modified Hoagland solution. Aerated cathodes were used and a bacterial consortium from anaerobic granular sludge was inoculated on each anode. The *Juncus effusus* and *Philodendron cordatum* species presented the best results, with maximum voltages of 270 and 199 mV and power densities of 29.0 and 15.8 mW/m² respectively. The quantification of total organic carbon in the effluents of each W-MFC determined the presence of root photosynthates.

In the second experimental stage a proton exchange membrane was used to separate the rhizospheric zone from the anaerobic chamber, improving the biological conditions in the system. Qualitatively secondary metabolites (terpenes, alkaloids and flavonoids) were identified by thin layer chromatography, which provide evidence of the versatility and biological dynamics present in the rhizosphere. Different types of sugars (sucrose, fructose, galactose and glucose) were also quantified by liquid chromatography, with concentrations of 100-450 µg/L. Both analyzes were performed from the root exudates of the *Juncus effusus* and *Philodendron cordatum* species. Sucrose and glucose were the types of sugars that produced in greater quantity, with portions greater than 35 and 24% respectively. Sugars are compounds that served as electron donors for the production of bioelectricity, using endogenous substrates that fed the biofilm, consumption was 45-55 (sucrose) and 40-65 (glucose) %.

In the third experimental stage the electron transfer mechanisms of the oxygen reduction reaction (ORR) were identified, for it electrochemical and hydrodynamic tests were applied using a rotating disk electrode coupled to a potentiostat. To potentiate the performance of bioelectricity, graphene/titanium dioxide (G/TiO₂), graphene/nitrogen (G/N) and carbon/platinum nanocatalysts were impregnated on the cathodes. The results showed that the ORR of each electrode was carried out through the direct pathway, this reaction involves a transfer of 4 electrons. The best performance was obtained with G/TiO₂, where the maximum voltage was 490 mV, with a power density of 99.2 mW/m². The cathodic modification led to an increase of more than 100% in bioelectricity.

Keywords: Wetlands microbial fuel cell – bioelectricity – root exudates – oxygen reduction reaction – nanocatalysts

CAPÍTULO 1	1
1.1. Introducción	1
CAPÍTULO 2	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Sistemas bioelectroquímicos para la producción de bioelectricidad	3
2.1.1.1. Humedales de Celda de Combustible Microbiana	4
2.1.1.1.1. Biosistema de H-CCM	5
2.1.1.1.2. Rizodeposición	7
2.1.1.1.3. Luz solar y caminos fotosintéticos	10
2.1.1.1.4. Electroodos de H-CCM	12
2.1.1.1.5. Catalizadores	15
2.1.1.1.6. Separadores	17
2.1.1.1.7. Configuración de H-CCM	18
2.1.1.1.8. Tratamiento de aguas residuales con H-CCM	24
2.1.1.1.9. Microorganismos presentes en la rizósfera de H-CCM	30
2.1.1.1.10. Reacción de reducción de oxígeno	31
CAPÍTULO 3	33
3.1. Objetivo general	33
3.2. Objetivos particulares	33
3.3. Hipótesis	33
3.4. Alcances	33
CAPÍTULO 4	34
4.1. Metodología	34
4.1.1. Sistema experimental 1	34
4.1.1.1. Construcción y operación de los H-CCM	34
4.1.1.2. Estudios bioelectroquímicos	35
4.1.1.3. Mediciones de radiación solar	35
4.1.1.4. Mediciones analíticas	36
4.1.1.5. Análisis elemental	36
4.1.2. Sistema experimental 2	37
4.1.2.1. Construcción y operación de los H-CCM	37
4.1.2.2. Cuantificación de la concentración de exudados radiculares	38
4.1.2.2.1. Determinación de carbohidratos y otros compuestos por CCF	38
4.1.2.2.1.1. Análisis de carbohidratos por UHPLC	39
4.1.2.2.2. Determinación de ácidos orgánicos (AGV)	40
4.1.3. Sistema experimental 3	41
4.1.3.1. Construcción y operación de los H-CCM	41
4.1.3.2. Impregnación de nanocatalizadores	41
4.1.3.3. Electrodo de disco rotatorio (EDR)	42
4.1.3.4. Microscopía electrónica de barrido	43
4.1.3.5. Otras ecuaciones utilizadas para la evaluación de la RRO	44
4.1.3.6. Voltamperometría cíclica	44

CAPÍTULO 5	45
5.1. Resultados y discusión	45
5.1.1. Primera etapa experimental	45
5.1.1.1. Evaluación de colectores de electrones de Latón/Au en electrodos de fieltro de carbón	45
5.1.1.2. Producción de bioelectricidad en H-CCM con distintas especies de macrófitas bajo intensidad de radiación difusa-directa y matriz de <i>tezontle</i>	46
5.1.1.2.1. Producción de voltaje	46
5.1.1.2.2. Producción de densidad de potencia	49
5.1.1.2.3. Producción de bioelectricidad durante fase diurna y nocturna	53
5.1.1.2.4. Curvas de polarización	55
5.1.1.2.4.1. Pérdidas óhmicas	60
5.1.1.2.5. Potencial de los electrodos	62
5.1.1.2.6. Eficiencia fotosintética	65
5.1.1.2.7. Producción de exudados radiculares	69
5.1.1.3. Producción de bioelectricidad en H-CCM con distintas especies de macrófitas bajo intensidad de radiación difusa-directa y matriz de <i>coque</i>	71
5.1.1.3.1. Producción de voltaje y densidad de potencia	71
5.1.1.4. Efecto de la matriz de soporte en H-CCM	75
5.1.2. Segunda etapa experimental	79
5.1.2.1. Identificación cualitativa de carbohidratos y otros compuestos	79
5.1.2.2. Cuantificación de carbohidratos	82
5.1.2.2.1. Implementación del método cromatográfico (UHPLC)	82
5.1.2.2.2. Cuantificación de azúcares a partir de exudados radiculares	84
5.1.2.3. Cuantificación de AGV	90
5.1.2.4. Producción de bioelectricidad	92
5.1.2.4.1. Efecto de la temperatura	95
5.1.2.5. Propuesta de los mecanismos metabólicos involucrados	97
5.1.2.6. Relación exudados-bioelectricidad	100
5.1.3. Tercera etapa experimental	102
5.1.3.1. Microscopía electrónica de barrido	102
5.1.3.2. Cinética de la reacción de reducción de oxígeno	103
5.1.3.2.1. Análisis Koutecky-Levich	105
5.1.3.2.2. Parámetros electrocinéticos	106
5.1.3.3. Evaluación bioelectroquímica aplicando catalizadores en H-CCM	109
CAPÍTULO 6	117
6.1. Conclusiones	117
CAPÍTULO 7	119
7.1. Perspectivas y recomendaciones	119
CAPÍTULO 8	120
8.1. Referencias	120

CAPÍTULO 1		
1.1	Aplicaciones de los H-CCM	2
CAPÍTULO 2		
2.1	Mecanismo de trabajo de un H-CCM	5
2.2	Generación de bioelectricidad en un H-CCM	7
2.3	Interacciones macrófita-bacteria en la rizósfera	9
2.4	Efecto de la luz solar sobre humedales bioelectroquímicos	11
2.5	Electrodos de H-CCM	14
2.6	Configuraciones de H-CCM operados con distintos tipos de flujos	21
2.7	Fotografías de H-CCM	23
2.8	Modelos propuestos en la RRO en electrolitos acuosos	32
CAPÍTULO 4		
4.1	Representación esquemática del sistema experimental 1	36
4.2	Equipos empleados en los experimentos	36
4.3	Representación esquemática del sistema experimental 2	37
4.4	Preconcentración de las muestras por evapotranspiración e identificación cualitativa de exudados radiculares por CCF	38
4.5	Condiciones de operación del UHPLC	39
4.6	Extracción de AGV	40
4.7	Cuantificación de AGV	40
4.8	Estructura de los cátodos impregnados con nanocatalizadores	42
4.9	Configuración del EDR	43
CAPÍTULO 5		
5.1	Producción de voltaje con/sin colectores de electrones de Latón/Au	46
5.2	Producción de voltaje obtenido del sistema de H-CCM	47
5.3	Densidad de potencia obtenida del sistema de H-CCM	50
5.4	Máximas densidades de potencia obtenidas del sistema de H-CCM	51
5.5	Análisis estadístico de varianzas múltiples de DP	52
5.6	Monitoreo de voltaje en fase diurna y nocturna con IRD1 e IRD2	54
5.7	Curvas de polarización obtenidas del sistema de H-CCM con IRD1	57
5.8	Curvas de polarización obtenidas del sistema de H-CCM con IRD2	58
5.9	Diagrama de Nyquist	60
5.10	Potenciales de los electrodos	64
5.11	Análisis estadístico de varianzas múltiples en términos de CE	68
5.12	Producción de exudados radiculares medidos como COT	70
5.13	Producción de voltaje y densidad de potencia obtenida del sistema de H-CCM	72
5.14	Recapitulación de los resultados promedio obtenidos de voltaje, densidad de potencia, resistencia interna y COT del sistema de H-CCH operados con matrices de T_{ez} y C_{oq}	77

5.15	Difractogramas que describen el contenido de C de las matrices de C_{oq} y T_{ez}	78
5.16	Revelación de azúcares por CCF a partir de exudados radiculares de <i>Juncus effusus</i> y <i>Philodendron cordatum</i>	79
5.17	Revelación de terpenos, alcaloides y flavonoides por CCF a partir de exudados radiculares	80
5.18	Cromatograma de los azúcares estándar a 0.5 mg/L	82
5.19	Curvas de calibración de los azúcares	83
5.20	Concentración teórica y estándar determinada para cada compuesto	84
5.21	Azúcares obtenidos de los exudados de <i>Juncus effusus</i>	84
5.22	Azúcares obtenidos de los exudados de <i>Philodendron cordatum</i>	85
5.23	Cuantificación de azúcares a partir de exudados radiculares	85
5.24	Producción y consumo de azúcares obtenidos de exudados radiculares	87
5.25	Gráfica de anillo que visualiza la producción y consumo de azúcares	88
5.26	Producción y consumo de AGV obtenidos de exudados radiculares	90
5.27	Producción de voltaje, densidad de potencia, resistencia interna y potencial de los electrodos obtenidos de los H-CCM ₁ y H-CCM ₂	93
5.28	Curvas de polarización obtenidas de los H-CCM	94
5.29	Monitoreo de la temperatura en los H-CCM	96
5.30	Rutas metabólicas en la degradación de compuestos orgánicos	97
5.31	Producción de azúcares totales y voltaje a partir de los H-CCM	98
5.32	Análisis estadístico de varianzas múltiples sobre producción de densidad de potencia y prueba de <i>t</i> sobre la producción de exudados radiculares	101
5.33	Micrografías del MEBEC de los nanocatalizadores adheridos sobre las fibras del fieltro de carbón	103
5.34	Voltamperometría lineal de los diferentes nanocatalizadores en H ₂ SO ₄ (0.5 M), saturado con oxígeno a 25°C	104
5.35	Gráfica de Koutecky-Levich sobre la RRO de los nanocatalizadores	105
5.36	Gráficas de Tafel de los nanocatalizadores para la RRO	107
5.37	Producción de voltaje y densidad de potencia aplicando nanocatalizadores en H-CCM	110
5.38	Posibles rutas de reacción para la electrorreducción de oxígeno en los H-CCM	111
5.39	Evaluación de los potenciales anódicos, catódicos, resistencias internas y curvas de polarización a partir del sistema de H-CCM	114
5.40	Análisis estadístico de varianzas múltiples sobre producción de densidad de potencia aplicando nanocatalizadores	115
5.41	Voltamperogramas cíclicos obtenidos del sistema de H-CCM	116

	CAPÍTULO 2	
2.1	Estudios realizados con H-CCM	27
	CAPÍTULO 4	
4.1	Relación de fases móviles a través del tiempo de separación	39
	CAPÍTULO 5	
5.1	ANOVA de rendimiento bioelectroquímico en términos de DP	52
5.2	Resistencias internas obtenidas del sistema de H-CCM	61
5.3	Eficiencias fotosintéticas obtenida de los H-CCM con IRD1 e IRD2	66
5.4	Rendimiento bioelectroquímico general del sistema de H-CCM con matriz de T_{ez}	67
5.5	ANOVA de CE de las diferentes macrófitas estudiadas	68
5.6	Rendimiento bioelectroquímico general del sistema de H-CCM con matriz de C_{oq}	73
5.7	Estudios con H-CCM utilizando exudados radiculares como sustrato	74
5.8	Análisis elemental de las matrices	75
5.9	Valores de F_R calculados en la identificación cualitativa de CCF de exudados	81
5.10	Composición de azúcares obtenidos de los exudados radiculares en la CAM_1	87
5.11	Concentración de carbohidratos en exudados radiculares	89
5.12	Compuestos orgánicos identificados en exudados radiculares	91
5.13	Máximo rendimiento bioelectroquímico del sistema de H-CCM (Etapa 2)	93
5.14	Variables empleadas para el cálculo de i_{lim}	105
5.15	Parámetros electrocinéticos de la RRO	106
5.16	Máximo rendimiento bioelectroquímico del sistema de H-CCM (Etapa 3)	114

Abreviaturas, acrónimos, símbolos y fórmulas químicas

α	Coeficiente de transferencia de carga
$^{\circ}\text{C}$	Grado centígrado
e^{-}	Electrones
E°	Potencial estándar de reducción
H^{+}	Protones
σ	Desviación estándar
λ	Longitud de onda
Ω	Ohm
\bar{x}	Promedio
AC	Corriente alterna (<i>Alternating current</i>)
AGA	Agarosa
AGV	Ácidos grasos volátiles
ATP	Adenosín trifosfato
B	Pendiente de Tafel, pendiente de Levich
C/Pt	Mezcla de carbón y platino
C3	Vía fotosintética de tres carbonos
C4	Vía fotosintética de cuatro carbonos
CAG	Carbón activado granular
CAM	Metabolismo ácido de las crasuláceas (<i>Acid metabolism of crassulase</i>)
CAM ₁	Cámara aerobia
CAM ₂	Cámara anaerobia
CAP	Carbón activado en polvo
CCF	Cromatografía en capa fina
CCM	Celdas de combustible microbiana
CE	Eficiencia de conversión (<i>Conversion efficiency</i>)
CEM	Celdas de electrólisis microbiana
C _{oq}	Coque
COT	Carbón orgánico total
DBO ₅	Demanda bioquímica de oxígeno
DC	Densidad de corriente
DC _i _o	Densidad de corriente de intercambio
DP	Densidad de potencia
DQO	Demanda química de oxígeno
DRX	Difracción de rayos X

Abreviaturas, acrónimos, símbolos y fórmulas químicas

E1	Arreglo de Electrodo 1
E2	Arreglo de Electrodo 2
EDR	Electrodo de disco rotatorio
EEH	Electrodo estándar de hidrógeno
EIS	Espectroscopia de Impedancia electroquímica (<i>Electrochemical impedance spectroscopy</i>)
F _R	Factor de Retención
FRA	Foto-radiación activa
FRU	Fructosa
G	Grafeno
G/N	Mezcla de grafeno y nitrógeno
G/TiO ₂	Mezcla de grafeno y dióxido de titanio
GAL	Galactosa
GEI	Gases de efecto invernadero
GLU	Glucosa
H-CCM	Humedales de celda de combustible microbiana
HCA	Humedales construidos artificialmente
i_k	Intensidad de corriente cinética
i_{lim}	Intensidad de corriente límite
i_o	Intensidad de corriente de intercambio
IRD1	Intensidad de radiación difusa
IRD2	Intensidad de radiación directa
$k_1, k_2, k_3, k_4, k_5,$ k_6	Constantes de reacción
mA	Miliamperio
MEBEC	Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo
mV	Milivoltio
mW	Miliwatt
M ^z	Metales de transición
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
Nd	No detectable
N _T	Nitrógeno total
PA	Potencial anódico
PC	Potencial catódico
PEM	Membrana de intercambio protónico (<i>Membrane exchange proton</i>)

Abreviaturas, acrónimos, símbolos y fórmulas químicas

P _i	Fósforo inorgánico
P _T	Fósforo total
PTFE	Politetrafluoretileno
PV	Potencia volumétrica
R ²	Coefficientes de regresión
R _{ext}	Resistencia externa
R _{int}	Resistencia interna
Rpm	Revoluciones por minuto
RRO	Reacción de reducción de oxígeno
R _u	Revelador universal
R _x ED	Rayos-X por energía dispersa
SAC	Sacarosa
SBE	Sistemas bioelectroquímicos
SST	Sólidos suspendidos totales
<i>t</i>	Distribución <i>t</i> de student
T _{ambiental}	Temperatura ambiental
T _{ánodo}	Temperatura del ánodo
T _{cátodo}	Temperatura del cátodo
T _{ez}	Tezontle
T _r	Tiempo de retención
TRH	Tiempo de retención hidráulico
u.a.	Unidades arbitrarias
UASB	Reactor anaerobio de flujo ascendente (<i>Upflow anaerobic sludge blanket</i>)
UDP	Difosfato de uridina (<i>Uridine diphosphate</i>)
UHPLC	Cromatografía de líquidos de ultra alta resolución (<i>Ultra high performance liquid chromatography</i>)
UTP	Trifosfato de uridina (<i>Uridine triphosphate</i>)
UV	Ultravioleta
V	Voltaje
VC	Voltamperometría cíclica
VCA	Voltaje a circuito abierto
VCC	Voltaje a circuito cerrado

CAPÍTULO 1

1.1. Introducción

Los problemas de contaminación ambiental y el calentamiento global han dado lugar a la búsqueda de fuentes de energías renovables, con el fin de minimizar la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) producidos por el uso de combustibles fósiles. Algunos tipos de energía alternativa, tales como: la energía eólica, solar, geotérmica e hidroeléctrica indudablemente reducen las emisiones de dióxido de carbono (CO₂). Sin embargo, tienen algunas desventajas, entre ellas: la transformación del paisaje, los procesos de uso intensivo de energía y las limitaciones geográficas (Narimisa et al., 2018; Bombelli et al., 2016; Olivier et al., 2017; Singh et al., 2018). Por otro lado, el crecimiento económico-demográfico y el desarrollo industrial-social de muchos países está aumentando, esto conduce a un incremento en la producción de aguas residuales (Kaewkannetra et al., 2011; Singh et al., 2018; Neczaj y Grosser, 2018; Akpor et al., 2014). Aunado a lo anterior, la tecnología que diseña la obtención de bioenergía para mitigar el efecto del cambio climático sería un candidato adecuado, como lo ofrece la tecnología electroquímica de celdas de combustible microbiana (CCM), donde se presentan interesantes aplicaciones, por ejemplo: la producción de bioelectricidad, la producción de biogás y el tratamiento de residuos (**Figura 1.1**).

En la actualidad muchos tratamientos con sistemas bioelectroquímicos (SBE) han surgido como una tecnología interesante, que puede ser utilizada para la generación de bioelectricidad a partir de biocombustibles obtenidos en el tratamiento de aguas residuales (Selim et al., 2017). Dentro de la investigación con SBE, se encuentran los humedales de celda de combustible microbiana (H-CCM), estos se definen como dispositivos bioelectroquímicos, que convierten la energía solar en bioelectricidad con ayuda de microorganismos presentes en la rizósfera de macrófitas acuáticas (Nitorisravut y Regmi, 2017). Mediante la síntesis enzimática que llevan a cabo las bacterias electroquímicamente activas y los compuestos orgánicos liberados por el sistema radicular de las plantas se producen electrones (e⁻), protones (H⁺) y CO₂. Los electrones son adheridos al ánodo y los protones se dirigen al cátodo, ahí ocurre la reducción de oxígeno para llevar a cabo la reacción de la formación de agua y la generación simultánea de bioelectricidad (Sophia y Sreeja, 2017).

Entre los rizodepósitos son liberados los exudados radiculares, uno de los fines de utilizar macrófitas, es para aprovechar todas estas secreciones como sustrato. Las bacterias productoras de bioelectricidad que se encuentran presentes de forma natural en el ánodo, oxidan la materia orgánica liberada por las macrófitas, por tal motivo, la formación de la biopelícula sobre la superficie anódica es necesaria para una transferencia eficiente de electrones al electrodo (Lu et al., 2015; Timmers et al., 2012; Franks et al., 2010; Wetser, 2016; Sudirjo et al., 2019; Deng et al., 2012).

En el año 2008 se proporcionó el principio para la obtención de bioenergía a partir de sustratos fotosintéticos, además los dispositivos de H-CCM han reportado altas eficiencias de eliminación de contaminantes (Srivastava et al., 2015; Regmi et al., 2018^a), teniendo la ventaja de que estos sistemas pueden alimentarse con aguas residuales diversas. Los estudios con estos prototipos son limitados, considerando que su desarrollo se encuentra en la fase de infancia, por lo que se requiere indagar profundamente en la investigación. De los trabajos con H-CCM, se han realizado estudios que involucran: los registros de voltajes (Helder et al., 2010; Strik et al., 2008), degradación de compuestos aromáticos (Yan et al., 2015), remociones de DQO (Saz et al., 2018; Liu et al., 2013; Regmi et al., 2018^b), análisis de la comunidad microbiana (Timmers et al., 2012), tamaño de los electrodos (Takanezawa et al., 2010), aplicación de biocátodos (Wetser et al., 2015), configuraciones del diseño (Helder et al., 2012) y diferentes tipos de flujo (Doherty et al., 2015^a; Liu et al., 2013).

En la primera etapa experimental de esta investigación, se realizaron estudios sobre el rendimiento bioelectroquímico de ocho especies de macrófitas acuáticas, bajo intensidades de radiación solar difusa y directa. También se cuantificó la secreción de exudados radiculares de cada especie como fuente de sustrato orgánico. En la segunda etapa se identificaron los rizodepósitos en forma de azúcares reductores liberados en la rizósfera, los cuales fungen como sustrato endógeno que alimenta la biopelícula. Finalmente, se identificaron las vías de transferencia de electrones en la reacción de reducción de oxígeno con el uso de nanocatalizadores. Toda esta investigación, tiene el objetivo de contribuir al desarrollo científico e implementación de tecnologías que mitiguen las adversidades ocasionadas por los GEI.



Figura 1.1. Aplicaciones de los H-CCM.

CAPÍTULO 2

2.1. Antecedentes

Actualmente son pocos artículos publicados de Review sobre H-CCM. La primera revisión publicada fue por Deng et al. (2012) quienes presentaron una visión de la operación de CCM acopladas a humedales construidos artificialmente (HCA). En la revisión de Corbella y Puigagut (2016) describieron la implementación de una CCM a humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales y la obtención de bioelectricidad. Doherty et al. (2015^a) y Shi et al. (2018) recopilaron información sobre las arquitecturas y las formas de operación, así como el efecto de algunas condiciones fisicoquímicas que afectan el rendimiento bioelectroquímico. Nitisoravut y Regmi (2017) presentaron una descripción sobre algunos factores fotosintéticos involucrados en el rendimiento bioelectroquímico y los tipos de macrófitas que se han estudiado. Wang et al. (2017^a) reportaron los rendimientos y las eficiencias de remoción de contaminantes presentes en aguas residuales y Regmi et al. (2018^{a,b}) realizaron una cronología histórica sobre el progreso de los estudios con H-CCM, también mencionaron algunos factores biológicos que afectan su rendimiento.

La revisión de esta tesis, aborda una descripción sobre los H-CCM en el estado actual, abarcando aspectos sobre el rendimiento obtenido bajo diferentes formas de operación, configuraciones, tipos de flujo, materiales, diseños, tratamiento de aguas residuales, así como puntos determinantes para posibles investigaciones futuras. También se presentan los procesos biológicos involucrados que resultan de interés para la presente investigación, tanto en los SBE, como en los H-CCM y HCA. A continuación, se explican los principios de funcionamiento, así como los principales componentes del sistema, la descripción bioelectroquímica y las metodologías con resultados reportados en previas investigaciones.

2.1.1. Sistemas bioelectroquímicos para la producción de bioelectricidad

En la actualidad, los SBE han surgido como una tecnología interesante que puede ser utilizada para la generación de bioelectricidad a partir de combustibles obtenidos de residuos orgánicos. En estos dispositivos, los microorganismos electroactivos son capaces de convertir la energía bioquímica contenida en la materia orgánica en bioelectricidad de forma directa (Selim et al., 2017; Logan et al., 2006). En el campo de investigación se incluye una amplia gama de tecnologías emergentes, esta se caracteriza por utilizar a las bacterias para la generación de bioelectricidad mediante reacciones anódicas y catódicas dentro de una configuración bioelectroquímica (McCormick et al., 2015). Los SBE funcionan bajo diferentes formas de operación y se clasifican en diferentes modalidades, entre ellas destacan: las CCM y celdas de

electrólisis microbiana (CEM), en las cuales las configuraciones y componentes son similares (Ruiz, 2014; Pant et al., 2011). En una CCM se genera corriente eléctrica de manera directa y espontánea por reacciones redox. A diferencia de, en una CEM se requiere una fuente de energía eléctrica externa para llevar a cabo reacciones químicas no espontaneas redox, con el efecto de producir hidrógeno y oxígeno por electrólisis al disociar la molécula del agua (Rivera, 2014). El hecho de que algunos microorganismos pueden transportar electrones fuera de sus membranas celulares y por lo tanto, comunicarse eléctricamente con el ambiente exterior se descubrió desde hace cien años. Esta característica se ha utilizado para desarrollar procesos bioelectroquímicos avanzados. Básicamente, la bioelectricidad dependerá de la oxidación de los sustratos como la principal fuente de energía en la producción de electrones. Las cadenas transportadoras de electrones son el compartimiento más importante en las bacterias, mediante su actividad catalítica se liberan electrones que son transferidos a los electrodos. Como resultado se genera un diferencial de potencial (fuerza electromotriz), ese es el principio básico del funcionamiento de los prototipos bioelectroquímicos (Sudirjo, 2020; Włodarczyk et al., 2019; Logan et al., 2006; Shen et al., 2018; Goto et al., 2015; Giorgi y Leccese, 2013).

2.1.1.1. Humedales de Celda de Combustible Microbiana

Recientemente investigadores encontraron que los gradientes redox estratificados naturalmente en HCA, son alta y completamente consistentes con las condiciones de una CCM. Es decir, un humedal convencional cuenta con una zona aerobia en el interfaz aire-agua y una zona anaerobia en la parte inferior (Wang et al., 2017^a). De manera similar, en un sistema de CCM, las condiciones también corresponden a las de un HCA. El ánodo y el cátodo se pueden colocar estratégicamente bajo condiciones anaerobias y aerobias respectivamente (Xu et al., 2016^a). Por lo que los avances tecnológicos han dado lugar a una hibridación entre ambos sistemas, denominándolos como: *Humedales de Celda de Combustible Microbiana* (H-CCM) (Doherty et al., 2015^a). En un principio esta tecnología no consiguió un importante interés por la investigación, más tarde se observó que estos dispositivos pueden producir bioenergía sin la formación de algún subproducto tóxico. Un H-CCM se describe como un mecanismo bioelectroquímico que convierte la energía solar en bioelectricidad por procesos fotosintéticos con ayuda de microorganismos que se encuentran presentes en la rizósfera (Nitorisavut y Regmi, 2017; Deng et al., 2012). Con la síntesis enzimática de bacterias electroactivas, diferentes rutas metabólicas involucradas en la oxidación de sustratos y los compuestos orgánicos liberados por las raíces de las macrófitas se transfieren electrones y protones. Los primeros son adheridos al ánodo, los segundos cruzan una membrana de intercambio protónico y se dirigen al cátodo, siguiendo el mecanismo de una CCM (Sophia y Sreeja, 2017).

2.1.1.1.1. Biosistema de H-CCM

Un H-CCM está conformado por dos electrodos, cuenta con un ánodo en la cámara anaerobia, sobre el cual se desarrolla la biopelícula de bacterias electroactivas y los exudados radiculares producidos a través de la rizodeposición de las macrófitas son aprovechados como biocombustible (Jawre et al., 2019; Singh et al., 2018; Wetser, 2016; Corbella et al., 2017). También cuenta con un cátodo en la cámara rizosférica, lugar donde ocurre la reducción de oxígeno, ambos electrodos son conectados a una resistencia externa (Ω) para el cierre del circuito (Regmi et al., 2018^a; Helder et al., 2012). Cuando se utilizan reactores de doble cámara, comúnmente se coloca algún tipo de separador para prevalecer las condiciones biológicas requeridas para cada cámara, las membranas de intercambio protónico y materiales fibrosos son muy utilizados como separadores. Para dar estabilidad física a las macrófitas, se utilizan medios de soporte granulados que posibilitan el crecimiento de las raíces y permiten la operación de distintos tipos de flujos (Santoro et al., 2017; Baudler et al., 2015; Corbella et al., 2014; Wu et al., 2013). En la **Figura 2.1** se muestra la composición típica de un H-CCM, la incorporación de un reactor electroquímico con un humedal, comprende áreas multidisciplinarias, que van desde el estudio de las bacterias, flora, procesos electroquímicos y diferentes campos de ingeniería.

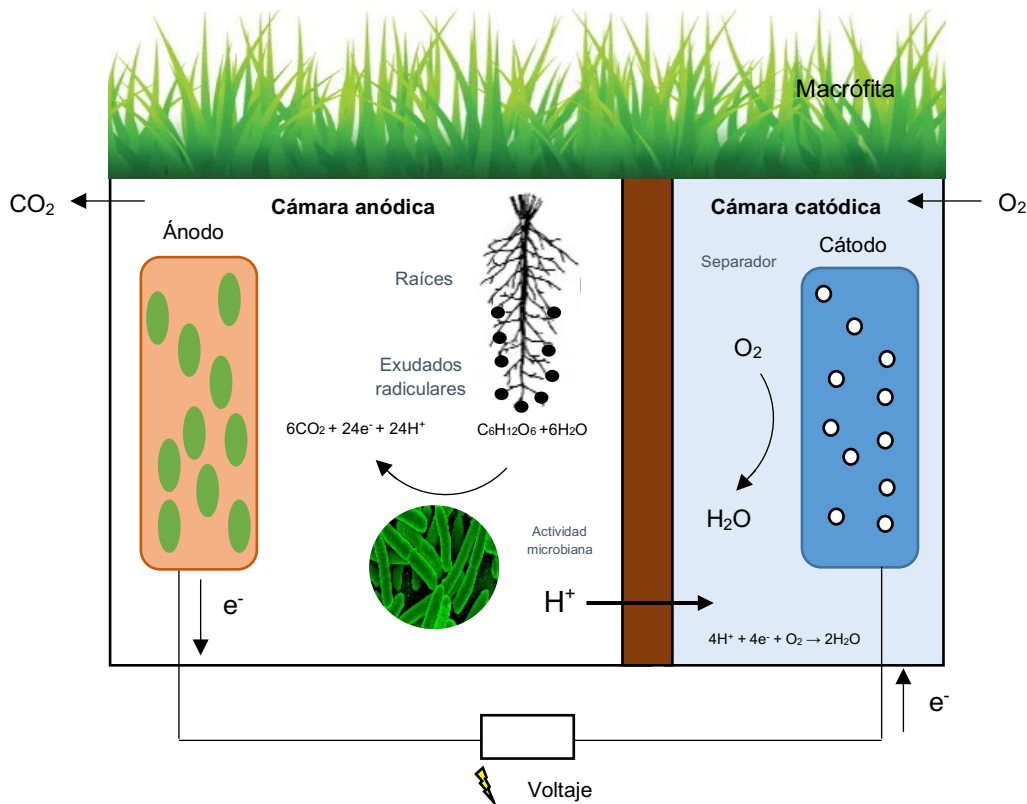


Figura 2.1. Mecanismo de trabajo de un H-CCM.

La mejor forma de comprender la interrelación entre estos campos de estudio, es unificándolos en un único biosistema, el cual comprende componentes bióticos y abióticos para la obtención de bioenergía. Un H-CCM se puede ver como un tipo de biosistema, el cual se divide en dos estructuras: el biocontrol y el bioproceso. La estructura de biocontrol involucra la macrófita, donde recibe una entrada de luz solar para la producción de voltaje por procesos fotosintéticos (exudados). La estructura del bioproceso se refiere a la población microbiana, estos toman los exudados que se producen en la raíz y a través del metabolismo bacteriano producen la salida de bioenergía (Nitorisavut y Regmi, 2017; Alocilja, 2000; Treesubstorn et al., 2019).

Los factores que afectan el rendimiento del sistema de H-CCM se categorizan como: factores biológicos y fisicoquímicos. Las macrófitas, algas y bacterias se pueden agrupar en factores biológicos, mientras que parámetros como: la conductividad, el pH, la humedad y la temperatura representan factores fisicoquímicos (Regmi et al., 2018^b). Sin embargo, los H-CCM son de naturaleza compleja y cuando se aplican en condiciones naturales, estos factores podrían ser difícilmente controlables. La optimización de los parámetros mencionados es un aspecto importante para realizar una operación eficiente. Los reactores con cámara doble y cámara única a escala laboratorio, arrozales, pantanos y humedales construidos son escenarios que se han utilizado para la investigación. En algunos casos se utilizan cámaras climáticas para controlar algunos factores ambientales, entre ellos períodos de luz y oscuridad, humedad y temperatura (Timmers et al., 2012; Regmi et al., 2018^b; Takanezawa et al., 2010; Lu et al., 2015). En el momento que se opera bajo condiciones naturales, existen algunas limitaciones que deben valorarse, la baja transferencia de masa es el principal desafío que debe resolverse, considerando que bajas transferencias de protones puede causar un incremento en la resistencia interna y una disminución en la densidad de potencia (Regmi et al., 2018^b; Corbella y Puigagut, 2016).

Entre las especies de macrófitas más estudiadas se encuentran: *Canna indica* (Regmi et al., 2018^a), *Pennisetum setaceum* (Chiranjeevi et al., 2012), *Cyperus involucratus* (Nattawut y Holasut, 2015), *Typha latifolia* (Oon et al., 2015), *Acorus calamus* (Yan et al., 2015), *Echinochloa glabrescens* (Bombelli et al., 2013), *Phragmites australis* (Villasenor et al., 2013), *Ipomea acuatica* (Fang et al., 2013), *Lolium perenne* (Habibul et al., 2016), *Echinorria crassipes* (Mohan et al., 2011), *Alocasia macrorrhiza* (Zaman y Wardhana, 2018), *Typha angustifolia* (Saz et al., 2018), *Sporobolasarabicus* (Gilani et al., 2016), *Elodea nuttallii* (Oon et al., 2017), *Glyceria maxima* (Strik et al., 2008), *Oryza sativa* (Kouzuma et al., 2014), *Typha orientalis*, *Scirpus validus* (Wang et al., 2017^b), *Iris pseudacorus* (Wu et al., 2015), *Chlorophytum inornatum*, *Asparagus fern* (Manohar et al., 2017), *Setaria faberi* (Kuzyakov, 2010), *Sedum kamschaticum* (Tapia et al., 2018), *Juncus effusus* (Vargas et al., 2018) y *Pleurocapous* (Castresana et al., 2019).

A lo largo de la investigación, se han operado H-CCM bajo diferentes condiciones, configuraciones y parámetros de control, pero todos siguen el mismo principio, con la recombinación del flujo de electrones y protones que se producen en la cámara anaerobia y el oxígeno de la cámara aerobia se cierra el circuito (voltaje a circuito cerrado), dando lugar a la formación de agua como se observa en la **Ecuación 2.2**. Respecto a la fuente de materia orgánica, suponiendo que el sustrato fuese glucosa, se producen las siguientes reacciones en cada electrodo (**Ec. 2.1-2.3**). En la **Figura 2.2** se muestra el mecanismo para la producción de bioelectricidad en un H-CCM.

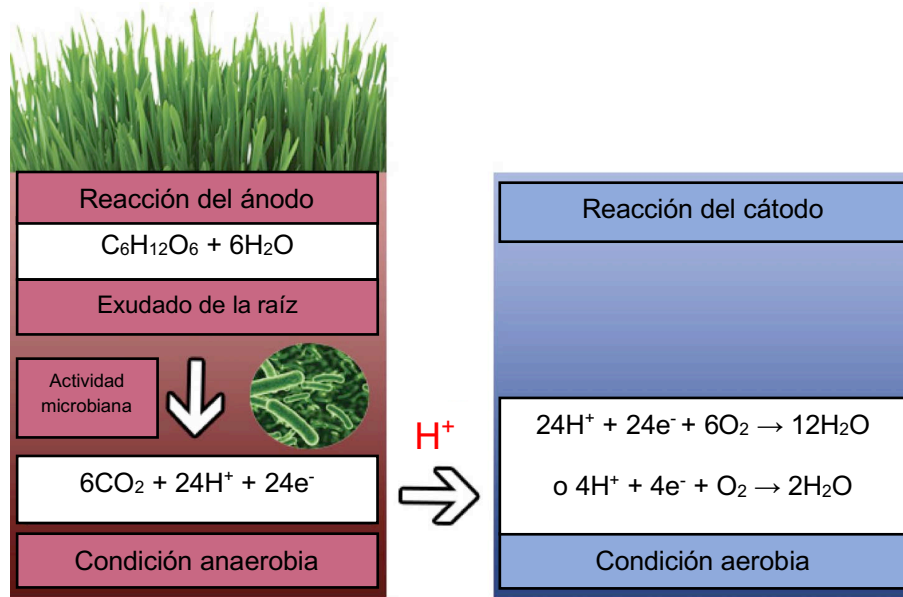
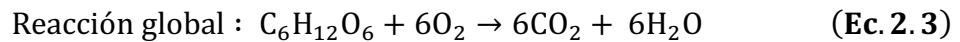
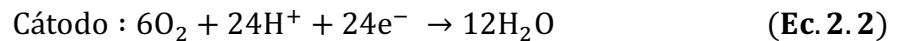
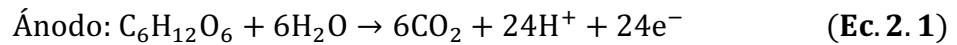


Figura 2.2. Generación de bioelectricidad en un H-CCM (Regmi et al., 2018^b).

2.1.1.1.2. Rizodeposición

El proceso de rizodeposición se define como el transporte de material orgánico originado en las raíces de las macrófitas hacia la rizósfera. Durante el crecimiento y desarrollo de las macrófitas el carbón orgánico ingresa al suelo como rizodepósitos, que son células orgánicas radiculares desprendidas, estas son utilizadas como biocombustible por parte de la comunidad microbiana (De Schamphelaire et al., 2010; Timmers et al., 2012). Los rizodepósitos orgánicos son desde exudados de bajo peso molecular, hasta raíces completas, siendo estos sustratos potencialmente biodegradables (Treesubstorn et al., 2019; Udvardi y Poole, 2013).

Los tipos de sustratos influyen en la comunidad electroactiva en el ánodo y por lo tanto, afectan el rendimiento del sistema (Chae et al., 2009). La rizodeposición representa cerca del 40% de la productividad fotosintética (Bajracharya et al., 2016), es decir, que una porción de los carbohidratos y las sustancias orgánicas que no se utilizan en su desarrollo, se excretan en la raíz como rizodepósitos (Timmers et al., 2012). Una gran diversidad de materia orgánica se dispone a partir de exudados, desde metabolitos simples, hasta compuestos orgánicos más complejos como la glucosa (Lu et al., 2015; De Schamphelaire et al., 2010; Franks et al., 2010).

Las macrófitas aparte de producir rizodepósitos como fuente de bioenergía, liberan oxígeno como aceptor final de electrones para la reducción catódica, su crecimiento se lleva a cabo a través de la respiración aerobia, por ende necesitan de oxígeno. Las macrófitas generalmente se desarrollan en un ambiente anóxico-aerobio en la rizósfera, estas transportan el oxígeno requerido para su respiración desde el aire hacia las raíces a través de su sistema aerenquimal. Algunas especies, entre ellas: *Spartina anglica*, son capaces de sobrevivir gracias a este tejido vegetal, estos son espacios intracelulares que sirven como canales de transporte de gases (Maricle y Lee, 2007). Además de proporcionar el oxígeno para llevar a cabo la respiración aerobia, este sistema también libera oxígeno para la desintoxicación de fitotoxinas y la adquisición eficiente de los nutrientes (Koop-jakobsen y Wenzhöfer, 2015; Wetser, 2016). Parte de la biomasa que se produce es asignada para la respiración y crecimiento, siendo la biomasa subterránea (exudados, mucílagos, secreciones, células muertas, entre otros compuestos) utilizada como sustrato por las bacterias (Helder et al., 2012). Los exudados son excretados específicamente por el sistema radicular (Kuzyakov, 2010; Pausch y Kuzyakov, 2011), estos compuestos inician y controlan la interacción simbiótica entre las raíces y las bacterias del suelo como se muestra en la **Figura 2.3** (Badri y Vivanco, 2009; Chae et al., 2009; Rincon et al., 2013; Moore et al., 2007; Hennion et al., 2019; Udvardi y Poole, 2013).

Los rizodepósitos se pueden clasificar en dos grupos: exudados radiculares de bajo peso molecular y exudados radiculares de alto peso molecular. Los primeros son liberados hacia la solución de suelo mediante difusión pasiva a través de la bicapa lipídica y mediante canales proteicos presentes en la membrana plasmática. Dentro de los exudados de bajo peso molecular liberados, se han identificado algunos ácidos orgánicos, tales como: como el ácido pirúvico, fumárico, málico, oxálico, láctico, malónico, maléico, tartárico, aconítico, cítrico, entre otros. Dentro de los compuestos de alto peso molecular se encuentra un conjunto de carbohidratos, ácidos grasos y proteínas (Ibarra, 2011). La composición de los exudados de las raíces varía de acuerdo a la biología y el crecimiento de la macrófita, se piensa que en los compuestos de bajo peso molecular se involucra la mayor cantidad y tipos de exudados expulsados las raíces (Wu et al., 2013; Hennion et al., 2019).

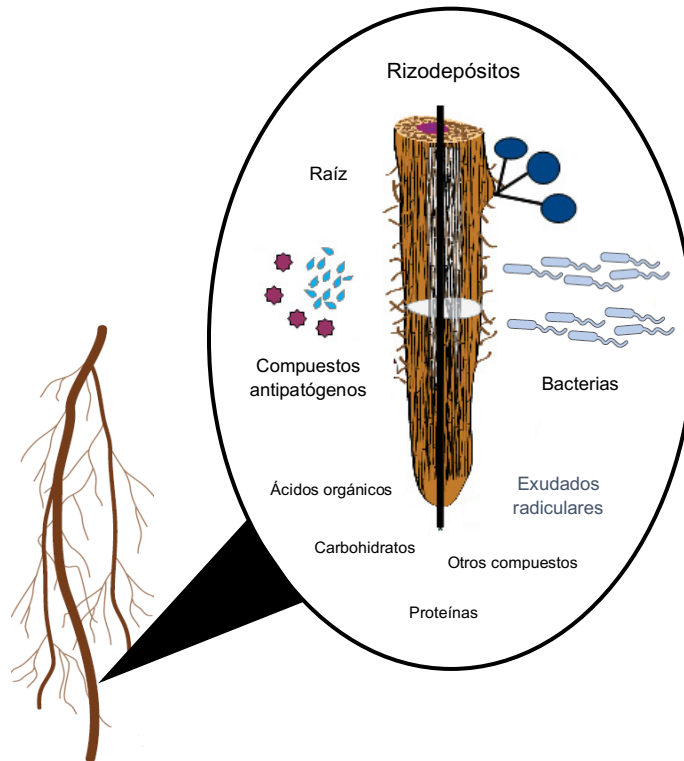


Figura 2.3. Interacciones macrofita-bacteria en la rizósfera.
Modificado de Rincon et al. (2013) y Bais et al. (2006).

La bioelectricidad producida en los H-CCM es una variable de respuesta de la cantidad de los exudados de las raíces, la morfología radicular, la relación macrofita-bacteria y su eficiencia fotosintética (Chiranjeevi et al., 2012). De tal modo que el rendimiento puede mejorar con las condiciones fisicoquímicas y biológicas óptimas para tener una mejor rizodeposición. Actualmente son pocos los reportes enfocados al estudio de los exudados, Sophia y Sreeja (2017) realizaron un trabajo donde evaluaron tres diferentes macrofitas (*Brassica juncea*, *Trigonella foenumgraecum* y *Canna stuttgart*) en H-CCM independientes. La mayor producción de voltaje fue con la especie *Canna stuttgart*, explicaron que esta puede albergar altas cantidades de exudados. El registro de voltajes fue de 505, 485 y 523 mV con densidades de potencia de 69, 80 y 222 mW/m² respectivamente. Por impedancia electroquímica realizaron pruebas para determinar las pérdidas óhmicas. Reportaron que la menor resistencia interna se obtuvo con la especie *Canna stuttgart* (22 Ω) y mencionaron que posiblemente se debe a las diferencias en los tipos de exudados, la velocidad de exudación, los nutrientes del suelo, la población microbiana en la rizósfera y otros factores complejos presentes en el sistema bioelectroquímico heterogéneo.

2.1.1.1.3. Luz solar y caminos fotosintéticos

Un H-CCM puede producir bioelectricidad sin la introducción externa de elementos orgánicos o nutrientes exógenos debido a los procesos fotosintéticos (Eisenhut et al., 2017). La fotorrespiración de la flora en general se clasifica en tres mecanismos: C3, C4 y CAM. La flora de cada grupo tiene diferentes vías fotosintéticas, haciendo referencia a la producción de oxígeno y fijación del CO₂ (Helder et al., 2010; Sivaram et al., 2018). Las vías fotosintéticas juegan un papel importante en la eficiencia bioenergética (Gilani et al., 2016). Las especies que se encuentran dentro de la clasificación C4, significa que su actividad fotosintética es mayor que las especies de las otras categorías (Wang et al., 2012), por lo que es recomendable implementar flora de este tipo, ya que permiten mayores tasas de conversión de energía solar en bioeléctrica. La flora C4 tiene ventajas sobre las tipo C3, la principal es poseer mayor actividad fotorrespiratoria (6.0% vs 4.6%), donde la rizodeposición es directamente proporcional a los exudados formados. Dado esto, las especies C4 en comparación con las C3 y CAM, tienen mayor capacidad para la generación de sustrato endógeno y reproducción bacteriana (Deng et al., 2012; Regmi et al., 2018^a; Yan et al., 2015).

La luz solar es un factor que modifica los potenciales fotosintéticos (Regmi, 2017), en el estudio de Sophia y Sreeja (2017) observaron un patrón diurno de los registros de voltajes en un periodo experimental de 30 días, quienes evaluaron la producción de voltaje de las macrófitas: *Brassica juncea*, *Trigonella foenum-graecum* y *Canna stuttgart*. Reportaron que la primera especie presentó mayores variaciones diurnas y plantearon la hipótesis de que esta especie produjo menores concentraciones de exudados liberados en la rizósfera. Por tal motivo, la intensidad y calidad de luz solar son parámetros que afectan el rendimiento de un H-CCM y la vitalidad de las macrófitas (Shin et al., 2008; Sevda et al., 2013; Nitisoravut y Regmi, 2017). En otro caso evaluaron reactores de celdas de combustible microbiana fotosintéticas, donde observaron el efecto de la iluminación y los registros de potencia. Se demostró que esta se encuentra directamente vinculada a la actividad metabólica de las bacterias (Wu et al., 2013; Juang et al., 2012). Dentro de las condiciones operacionales de un sistema de este tipo, se requiere de una intensidad óptima de luz para las macrófitas en operación, siendo la fotosíntesis un proceso sustancial para la generación de biomasa y bioelectricidad (Xiao y He, 2014). Con una intensidad de luz óptima, las macrófitas pueden tener altas eficiencias fotosintéticas y mayores cantidades de exudados radiculares, esto beneficiaría la comunidad microbiana heterogénea en la rizósfera. Ambos aspectos deben explorarse en la investigación experimental.

El rendimiento de un H-CCM depende primeramente de la fisiología de la macrófita, la síntesis de compuestos orgánicos, el transporte de los compuestos hacia la raíz, la liberación-absorción de exudados asimilables por las bacterias y la generación de electrones y protones (Bombelli et al., 2013). En muchos de los estudios, la variación

en la producción de voltaje está relacionada con la radiación solar. Kaku et al. (2008) informaron que la sombra en las macrófitas puede disminuir la producción en la salida de voltaje por la inhibición de la fotosíntesis, acompañado de una disminución en la rizodeposición. La intensidad de la luz afecta la translocación de nutrientes en la rizósfera y la secreción de exudados. Por lo cual, una alta exposición aumenta la producción de rizodepósitos, también puede afectar las condiciones de operación, incluida la temperatura, de tal forma que las actividades de las enzimas catalíticas del metabolismo microbiano son aceleradas en la degradación de los sustratos orgánicos. Por esta razón, la intensidad de radiación solar afecta la señal de entrada de bioenergía y afecta la bioelectricidad de salida (Nitorisavut y Regmi, 2017; Sevda et al., 2013) como se muestra en la **Figura 2.4**.

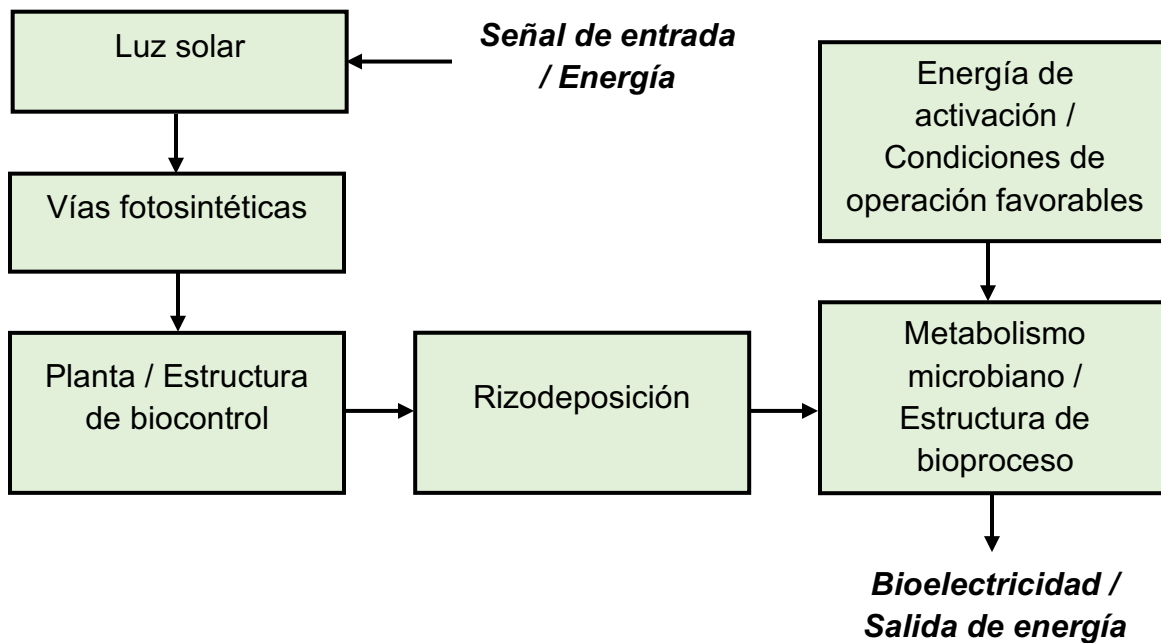


Figura 2.4. Efecto de la luz solar sobre humedales bioelectroquímicos.
 Adaptado de Nitorisavut y Regmi (2017).

Moqsud et al. (2015) informaron que la fotosíntesis de la macrófita se combina con la oxidación de compuestos orgánicos para producir bioelectricidad, sus estudios demostraron que la radiación solar afecta el rendimiento bioelectroquímico. En un H-CCM basado en macrófitas de la especie *Oryza sativa*, encontraron que el voltaje era mayor cuando la radiación solar era directa. La utilización óptima de la energía solar en prototipos bioelectroquímicos es un gran desafío científico y tecnológico, la información publicada sobre esto es limitada, de manera que es necesario evaluar experimentos bajo distintas intensidades de radiación solar (Wang et al., 2013^{a,b}; Regmi et al., 2018^a; Sivaram et al., 2018; Wu et al., 2014).

2.1.1.1.4. Electroodos de H-CCM

Se utiliza una gran variedad de electrodos anódicos y catódicos en los sistemas de CCM. Entre muchos materiales se destacan los electrodos carbonosos, por ejemplo: la tela de carbón, escobilla de carbón, barra de carbón, malla de carbón, velo de carbón, papel carbón, fieltro de carbón, carbón activado granular, grafito granular, placa de grafito y carbón vítreo reticulado (Baudler et al., 2014; Santoro et al., 2017). Dentro de los electrodos metálicos se ha utilizado: placa de acero inoxidable, malla de acero inoxidable, depurador de acero inoxidable, lámina de plata, lámina de níquel, lámina de cobre, lámina de oro, lámina de latón y placa de titanio (Baudler et al., 2015). La tela de carbón es un material que se utiliza con mucha frecuencia como material anódico. Este electrodo garantiza una amplia área de superficie con porosidad relativamente alta, cuenta con elevada conductividad eléctrica, así como flexibilidad y resistencia mecánica (Guerrini et al., 2014). El fieltro de carbón es quizá el material más utilizado como electrodo. Igualmente cuenta con una alta porosidad y conductividad eléctrica, el tamaño de los poros grandes permite una mayor área de contacto con las bacterias electroactivas, el costo es relativamente bajo y la resistencia química-mecánica es alta dependiendo del grosor del material (Santoro et al., 2017; Seviour et al., 2015; Calignano et al., 2015; Logan et al., 2007).

Conocer las interacciones entre bacteria-ánodo es fundamental para optimizar las arquitecturas del ánodo, algunos factores que pueden afectar estas interacciones son: la rugosidad superficial, la química superficial, el tipo de material, la porosidad y la hidrofobicidad (Li et al., 2017^a; Xie et al., 2015). El carbón es un material muy utilizado por su biocompatibilidad, durabilidad y conductividad prolongada, además exhibe varias morfologías y estructuras para el diseño de electrodos eficientes. Con este tipo de materiales se desea promover una mejor unión con la biopelícula, fomentando la formación acelerada de bacterias electroactivas, lo que proporciona una mejor vía conductiva para el transporte extracelular de electrones (Kalathil et al., 2017; Calignano et al., 2015). El carbón es sin duda un material prometedor para ser implementados como bioelectrodos en SBE (Kalathil y Pant, 2016).

Algunos estudios previos han utilizado carbón granular, se ha demostrado que este material poroso actúa como un soporte (también llamado «matriz») de bacterias exoelectrógenas y puede funcionar como un condensador de electrones (Xu et al., 2016^{a,b}). Por ejemplo, Helder et al. (2010) utilizaron gránulos pequeños de grafito como ánodo para elevar la producción voltajes en H-CCM, explicaron que con este material incrementaron el área superficial, lo que podría aumentar el contacto entre los microorganismos y el electrodo. Es posible intuir que los materiales granulados pueden inducir una menor resistencia interna y una mayor densidad de potencia al poseer más sitios activos, debido a su alta porosidad y disponibilidad de superficie.

En el estudio de Gilani et al. (2016) operaron un H-CCM para evaluar la densidad de potencia con dos electrodos de distintos materiales (níquel y grafito), la especie de macrófita que utilizaron fue *Sporobolus arabicus*. Ambos electrodos (cátodos) generaron densidades de potencia de 23.0 y 10.7 mW/m² respectivamente. Moqsud et al. (2015) emplearon electrodos de fibras de carbón (**Figura 2.5a**) sobre suelo de composta. Evaluaron los registros de bioelectricidad con la especie *Oryza sativa*, observaron que los reactores con las macrófitas donde adicionaron la composta, presentaron valores altos de voltaje y densidad de potencia. El valor máximo fue de 700 mV y 39 mW/m² cuando emplearon una macrófita con 1% de suelo mezclado con composta, concluyeron que adicionar un sustrato orgánico sobre un ánodo de fibras de carbón potencializa la bioelectricidad de salida en el sistema.

El contacto entre las raíces con el ánodo es conveniente (**Figura 2.5b**), tomando en cuenta que las bacterias rizosféricas oxidan los compuestos orgánicos fotosintéticos excretados, generando los electrones que se transfieren inmediatamente al ánodo (Kouzuma et al., 2014). Timmers et al. (2013) probaron dos electrodos anódicos, un fieltro de grafito (**Figura 2.5c**) y gránulos de carbón, utilizaron la macrófita *Glyceria maxima* y reportaron rendimientos de 10 y 12 mW/m² para cada material respectivo. Esto muestra que es posible reducir del uso de membranas de intercambio protónico PEM (por sus siglas en inglés: Proton Exchange Membrane), al mismo tiempo se pueden obtener salidas de potencia eléctrica comparables con electrodos que usan membranas PEM. En otros estudios: Corbella et al. (2017) evaluaron ánodos de grafito granular y cátodos de fieltro de carbón (**Figura 2.5d**), ambos materiales fueron envueltos con una malla de acero inoxidable como colector de electrones, generaron una máxima potencia volumétrica de 346 mW/m³. En el experimento de Cabezas (2010), utilizó cátodos y ánodos de fieltro de carbón entretejidos a barras de grafito (**Figura 2.5e**), con la especie *Oryza sativa* produjo 2.8 mW/m².

Respecto a electrodos carbonosos particulados, Liu et al. (2013) evaluaron un H-CCM utilizando los exudados radiculares de la especie *Ipomoea aquatica* como parte del biocombustible y como material de soporte usaron gravilla. El ánodo se construyó con carbón activado granular (CAG), el cátodo empleado fue de malla de acero inoxidable, conectaron ambos electrodos con un alambre de titanio hacia una resistencia externa de 1000 Ω. La máxima densidad de potencia que obtuvieron fue de 12.4 mW/m², con el reactor sin macrófita solo produjeron 5.1 mW/m². Xu et al. (2016^a) operaron varios H-CCM con ánodos de carbón activado en polvo (CAP) (**Figura 2.5g**), adicionaron CAP en diferentes cantidades junto con lodo de alumbre deshidratado, el cátodo fue de grafito granular (**Figura 2.5h**). El objetivo fue explorar sus influencias en el rendimiento del sistema, aumentar la proporción del CAP de 2 a 10% mejoró las densidades de potencia, incrementando el rendimiento de 36.5 a 87.7 mW/m², esto representa un aumento de más del doble de bioelectricidad.

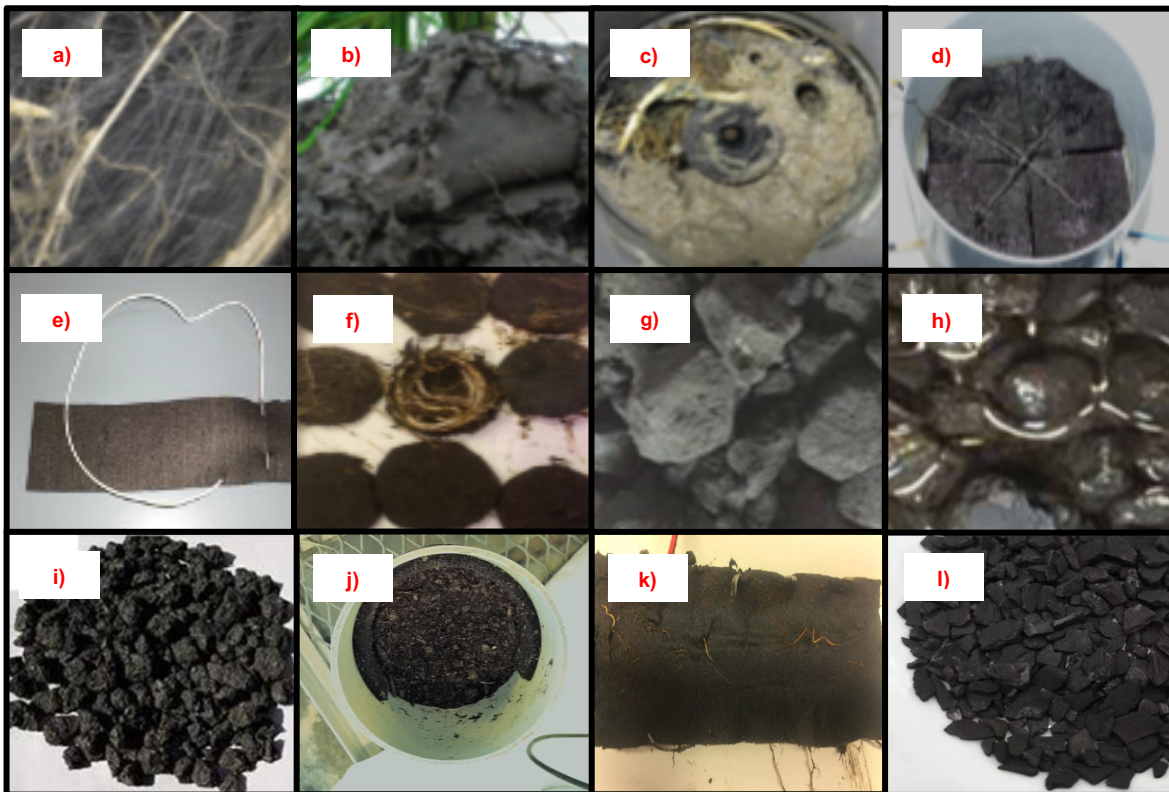


Figura 2.5. Electrodo de H-CCM. a) Ánodo de fibras de carbón (Moqsud et al., 2015), b) Ánodo de fieltro de carbón que muestra la penetración de las raíces (Kouzuma et al., 2014), c) Compartimento anódico de fieltro de grafito (Timmers et al., 2013), d) Fieltro de grafito conectado a un alambre de acero inoxidable (Corbella et al., 2017), e) Fieltro de carbón unido a una barra de carbón (Cabezas, 2010), f) Ánodo de fieltro de carbón (Wetser, 2016), g) Ánodo de CAP (Xu et al., 2016^a), h) Cátodo de grafito granular (Xu et al., 2016^a), i) Ánodo de coque granular (Vargas et al., 2018), j) Ánodo de fieltro de carbón (Khudzari, 2018), k) Ánodo de fieltro de carbón (Wetser, 2016), l) Ánodo de CAG (Fang et al., 2018).

Uno de los factores que afecta directamente el rendimiento de los H-CCM es la cantidad de oxígeno en el cátodo. Oon et al. (2017) colocaron electrodos de carbón activado y grava como soporte para la especie *Elodea nuttallii*, con el fin de estudiar el efecto de la oxigenación catódica probaron diferentes velocidades de flujo de aireación, que van desde 0 a 1900 mL/min. Observaron que la velocidad óptima de aireación fue de 600 mL/min para lograr la recuperación de bioelectricidad más alta, por ende, el oxígeno fue suficiente para usarse como aceptor final de electrones. La máxima producción de voltaje y potencia volumétrica fueron de 545.7 ± 25.1 mV y 184.7 ± 7.5 mW/m³. Por lado, la comparación entre diferentes tipos de electrodos propicia la selección de los mejores materiales para estudios futuros, por ejemplo: Epifanio et al. (2015) demostraron que la corriente producida por un ánodo de fieltro de carbón era mayor que la corriente producida por un ánodo de grafito plano, pero no había una correlación entre el área superficial real y la corriente. Esto sugiere

que no toda el área disponible fue colonizada con éxito por las bacterias que conforman la biopelícula, propusieron que se necesitan tiempos de operación más largos para una colonización completa. La distancia entre el cátodo y el ánodo es otro factor importante que debe considerarse en el diseño de los H-CCM. Song et al. (2017) estudiaron el efecto de la distancia entre los electrodos, manejaron espacios de 10, 20, 30 y 40 cm de separación. A 20 cm de distancia encontraron la mayor producción de voltaje, con 741 mV y una respectiva potencia volumétrica de 0.2 W/m^3 . Como material de soporte emplearon gravilla y encima colocaron una capa de CAG. En el reactor evaluaron el rendimiento de la especie *Phragmites australis*, la cual fue alimentada con una solución sintética. Concluyeron que la variación de oxígeno disuelto entre el ánodo y el cátodo para diferentes espacios interelectrodos, afecta sustancialmente la producción de voltaje. Dichos autores proponen que la oxigenación catódica, la variación de los tipos de materiales y las distancias entre electrodos en la configuración de H-CCM, son estudios que pueden potencializar significativamente la bioelectricidad en nuevas investigaciones.

2.1.1.1.5. Catalizadores

En las reacciones de reducción de oxígeno en el cátodo es posible hacer uso de enzimas (Santoro et al., 2012; Higgins et al., 2011), bacterias (Cristiani et al., 2013; Zhang et al., 2013) o catalizadores abióticos (Wang et al., 2014; Liew et al., 2014). Los catalizadores abióticos se basan principalmente en materiales de platino (Pt), materiales carbonosos y materiales basados en metales, estos generalmente se utilizan sobre un soporte de carbón (Gajda et al., 2014; Wang et al., 2014). Se ha demostrado que el catalizador de Pt en medios neutros, facilita el mecanismo de transferencia de electrones con una producción muy baja de productos intermedios, en este mecanismo el doble de electrones se transfiere con la utilización de la mitad de la cantidad de reactantes (Rojas-Carbonell et al., 2017). Por el contrario, los materiales carbonosos siguen un mecanismo de 2 o 4 electrones, produciendo más reacciones intermedias (50-70% más) (Merino et al., 2016; Watson et al., 2013). El carbón activado tiene una actividad catalítica mayor, posiblemente debido a que cuenta con un área superficial más grande, que a su vez mejora la cinética de la reacción de reducción de oxígeno (Young et al., 2016; Merino et al., 2016).

Las futuras investigaciones deben centralizarse en estudiar la química superficial de los catalizadores sintetizados por diferentes precursores orgánicos, para así poder conocer los mecanismos implicados en la generación de bioelectricidad y cómo puede ser mejorada la cinética de los catalizadores (Santoro et al., 2017). El Pt es un catalizador muy utilizado en los sistemas electroquímicos. En relación con H-CCM, este se usa exclusivamente para acelerar las velocidades de reducción de oxígeno. De acuerdo con la investigación de Takanezawa et al. (2010) evaluaron la

producción de bioelectricidad mediante la adición Pt en el cátodo de un H-CCM, para ello suspendieron 1 mg/cm^2 del catalizador en una solución iónica. Evaluaron resistencias externas de 10, 100 y 1000Ω , además del posicionamiento respecto a la profundidad de la superficie del suelo, donde utilizaron la macrófita *Oryza sativa*. Alcanzaron una máxima densidad de potencia de 14.4 mW/m^2 cuando el espacio interelectrodo fue de 20 cm con la resistencia de 1000Ω , el reactor que no utilizó catalizador solo produjo 2.3 mW/m^2 , por lo que presenciaron que el catalizador de Pt mejoró los rendimientos. Srivastava et al. (2017) evaluaron un H-CCM basado en cátodos asistidos por pérdidas de oxígeno y aireación intermitente. Predeterminaron un microcosmos con macrófitas de *Canna indica* para evaluar la reacción del cátodo e instalaron otro reactor con aireación intermitente para evaluar el mismo parámetro (reducción de oxígeno). Emplearon tela de carbón impregnada con Pt (0.8 cm/cm^2) como cátodo, demostraron que la reacción del cátodo podría realizarse de manera eficiente mediante la pérdida radial de oxígeno usando un electrodo que contiene Pt como catalizador. Reportaron que la máxima potencia volumétrica registrada fue de 31.3 mW/m^3 . La aireación excesiva (3.5 L/min) para realizar la reducción en el cátodo no tuvo un impacto significativo en la producción de voltaje.

Alterar las superficies de los electrodos por diferentes tratamientos también es una forma de catálisis abiótica, por ejemplo: Yasri et al. (2016) realizaron un dopaje sobre un electrodo de grafito con CaS, este aumentó la afinidad bacteriana hacia la superficie del electrodo e incrementó sustancialmente el potencial bioeléctrico en el proceso de transferencia extracelular de electrones. Lambert y Bren (2016) usaron electrodos de papel de carbón revestidos con polímeros conductores, demostraron tener un mejor rendimiento en comparación con materiales sin algún pretratamiento. Este electrodo proporcionó un mayor tamaño de poros y presenciaron un apego bacteriano mejorado. Es sabido que los electrodos de carbón vírgenes previenen la formación gruesa de biopelícula, debido a su hidrofobicidad y estructuras menos porosas. Por tal motivo, la superficie de los ánodos puede ser pretratada antes de aplicarse para mejorar el funcionamiento de la biopelícula. Los pretratamientos han mejorado los rendimientos de las CCM (Kalathil et al., 2017), Wang et al. (2009) realizaron un pretratamiento a una de lámina de carbón con HNO_3 , esta disminuyó considerablemente la resistencia química superficial, aumentó la conductividad del electrodo e incrementó la rugosidad de la superficie para la fijación bacteriana. He et al. (2012) reportaron un aumento en el rendimiento anódico, en sus experimentos emplearon electrodos de carbón modificado con papel de plasma. El pretratamiento cambió las propiedades superficiales del papel-carbón, entre ellas: la hidrofobicidad y rugosidad, lo que a su vez, aumentó la transferencia de electrones al ánodo. Por consiguiente, la modificación del área superficial del ánodo es una buena estrategia para desarrollar biopelículas electroactivas altamente densas (Cornejo et al., 2015).

2.1.1.1.6. Separadores

El uso de separadores con membranas en los SBE es esencial para tener un mejor control de las reacciones entre las enzimas electrocatalíticas y el sustrato sobre la superficie del ánodo (Ghassemi y Slaughter, 2017). Las membranas de intercambio catiónico y aniónico son utilizadas comúnmente para separar el electrolito entre la cámara anódica y catódica cuando la celda es de doble cámara, permitiendo el flujo de protones. En dispositivos de CCM se emplea una variedad de membranas PEM, poliméricas y monoméricas, materiales como los de Nafion, Hyflon y Ultrex han sido utilizados durante mucho tiempo, debido a que transfieren fácilmente los protones generados en la cámara anódica que son conducidos hasta el cátodo (Leong et al., 2013). Dado que el costo de los materiales sintéticos es muy alto, en los sistemas de H-CCM no todos los estudios utilizan separadores de este tipo. Un estudio con membrana de intercambio catiónico fue el de Helder et al. (2012), quienes utilizaron como cátodo una pieza de fieltro de carbón seguido de una membrana FUMATEC. Ambos materiales fueron adheridos y conectados a un circuito externo de cable de oro y una resistencia externa de 1000Ω , el ánodo que utilizaron fue una varilla de grafito. Estudiaron la producción de densidad de potencia con las especies *Spartina anglica* y *Amanoa anomala* donde produjeron 222 y 22 mW/m^2 respectivamente.

Diseños de H-CCM que utilizan especies como *Oryza sativa*, donde el ánodo se encuentra debajo de la macrófita y el cátodo es colocado sobre la superficie del agua, utilizan estructuras que no requieren de separadores (Cervantes et al., 2012), disminuyendo el costo de los dispositivos. Se han empleado materiales que buscan sustituir a las membranas PEM, en el estudio de Timmers et al. (2013) evaluaron un ánodo de fieltro de carbón y gránulos de grafito y otro con una membrana tubular de ultrafiltración, estudiaron la especie *Glyceria maxima*, obteniendo un rendimiento de 10 y 12 mW/m^2 respectivamente. Demostraron que es posible disminuir el uso de membranas, esto al reportar densidades de potencia que son equiparables con reactores que utilizan separadores sintéticos.

Cuando se utilizan macrófitas que no se adhieren al sustrato (macrófitas flotantes), por ejemplo: las especies: *Glyceria maxima* (Timmers et al., 2013), *Spartina anglica*, *Arundinella anomala steud* y *Arundo donax L.* (Helder et al., 2010) forzosamente requieren de algún tipo de capa separadora. Las pérdidas por transferencia de masa pueden reducirse con una configuración sin membrana que, de hecho, hace que sea rentable porque la membrana es el mayor costo en este tipo de SBE. El uso de separadores es importante cuando se operan reactores con doble cámara, estos permiten el transporte selectivo de protones y no transporta oxígeno o sustrato a través de ella. La presencia de un separador no es necesaria en la configuración con cámara única, considerando que el cátodo se coloca sobre la superficie superior del soporte para utilizar el oxígeno atmosférico en la reducción catódica.

Siempre que se use oxígeno como aceptor final de electrones, se puede obtener una gran cantidad de densidad de potencia y corriente, solo es requerido utilizar un cátodo aireado con configuración de cámara única, puede ser rentable con menos pérdidas por transferencia de masa y limitados sobrepotenciales (Gilani et al., 2016; Du et al., 2007). Una de las ventajas de utilizar una membrana es la reducción de la resistencia interna, a bajas pérdidas óhmicas más densidad de potencia se obtiene. Song et al. (2017) evaluaron la producción de bioelectricidad mediante diferentes distancias entre los electrodos, las resistencias internas fueron de 385.8, 339.8, 367.6 y 406.3 Ω para un espaciado de 10, 20, 30 y 40 cm respectivamente, en cuyo caso generaron una potencia volumétrica de 0.2 W/m³. Fang et al. (2013) reportaron una resistencia interna de 272.9 Ω y una potencia volumétrica de 0.3 W/m³. En ambos trabajos no utilizaron una membrana sintética, mientras que, Sophia y Sreeja (2017) reportaron una resistencia interna de 22 Ω haciendo uso de una membrana de arcilla, la cual funcionó como un sustituto de una membrana PEM. Los nuevos diseños de H-CCM se basan en configuraciones sin membrana, ya que el costo de los materiales es un parámetro importante a evaluar, considerando a que afectan directamente en el uso pragmático, y el uso de membranas PEM hasta el momento imposibilita su escalamiento (Regmi et al., 2018^b; Deng et al., 2012). Materiales tales como: la fibra de vidrio, nylon, cerámica, terracota, bolsas biodegradables, loza de barro, arcilla y arena fina pueden ser utilizados como materiales de separación de cámaras en H-CCM (Singh et al., 2018; Xie et al., 2018; Santoro et al., 2017; Sophia y Sreeja, 2017; Doherty et al., 2015^a; Villasenor et al., 2013; Zhao et al., 2013; Yadav et al., 2012; Kumar et al., 2018).

2.1.1.1.7. Configuración de H-CCM

Son muchas las configuraciones, tipos de flujos y formas de operación que se han reportado. De los regímenes de flujos destacan: batch (Yadav et al., 2012; Habibul et al., 2016), subsuperficial horizontal (Srivastava et al., 2020; Xie et al., 2018), ascendente (Zhao et al., 2013; Xu et al., 2016^a), descendente (Zaman y Wardhana, 2018) y flujos mezclados (Doherty et al., 2015^b). Las configuraciones generalmente se clasifican en sistemas de cámara simple o cámara doble. A partir de los estudios publicados, la mayoría de prototipos de H-CCM son operados en forma de flujo ascendente con cámara simple, en este caso, el ánodo se encuentra bajo el soporte de la macrófita (subterráneo) y el cátodo sobre la superficie y/o en la rizósfera. Con estos diseños innovadores, se minimiza el oxígeno disuelto en el ánodo mientras se garantiza una buena disponibilidad en la región catódica.

Se han realizado diversos estudios para el control del potencial redox, Yadav et al. (2012) utilizaron un separador de fibras de vidrio entre ambas cámaras con el fin de proporcionar un perfil redox nítido, reportaron una máxima densidad de potencia de 15.7 mW/m^2 . Sin embargo, el uso de un separador cuando se opera en modo de flujo ascendente con el ánodo subterráneo y con el cátodo aireado, puede no ser necesario, dando que esta configuración proporciona un perfil redox aerobio en la rizósfera y anaerobio en el ánodo (Fang et al., 2018; Liu et al., 2013; Corbella et al., 2014). La desventaja de operar por régimen de flujo ascendente, es que existen amplias distancias de separación entre ambos electrodos, este aspecto contribuye en gran medida a las resistencias óhmicas del sistema (Fan et al., 2012; Ahn y Logan, 2012; Srikanth y Mohan, 2012). Los ejemplares de H-CCM generan mayores resistencias internas en comparación con una CCM convencional. Villasenor et al. (2013) reportaron una resistencia interna de 120Ω utilizando electrodos de placa grafito con la especie *Phragmites australis*, colocaron una membrana de bentonita de calcio como separador, operaron con flujo subsuperficial horizontal y produjeron una máxima densidad de potencia de 43 mW/m^2 . En comparación, Ahn y Logan (2012) reportaron una resistencia de 33Ω operando una CCM de multielectrodos anódicos. Doherty et al. (2015^b) también utilizaron un separador de fibra de vidrio cuyo objetivo fue reducir el espacio interelectrodo. El reactor operó con flujos mixtos ascendentes-descendentes simultáneos, evaluaron electrodos (ánodos) de grafito granular y la especie *Phragmites australis*. Con este tipo de flujos y su configuración, incrementaron la densidad de potencia hasta un 70% (10.5 mW/m^2). No obstante, el uso de separadores de este material puede causar problemas de obstrucción a plazos prolongados, además de que las raíces pueden penetrar y destruir fácilmente los electrodos y membranas. En ese mismo estudio se presenció que la producción de voltaje se vio comprometida bajo altas cargas orgánicas, visto que la biopelícula no fue capaz de oxidar completamente los compuestos orgánicos.

Dentro del diseño de los electrodos, es requerido proporcionar pequeñas áreas de superficie. Puesto que, a medida que incrementa el tamaño de los H-CCM, la longitud del recorrido de flujo de los electrones es mayor, aumentando la resistencia óhmica. Además de que la resistividad eléctrica del grafito es relativamente alta ($1375 \mu\Omega/\text{cm}$) en comparación con la resistividad de otros materiales como la del titanio ($42 \mu\Omega/\text{cm}$), lo cual podría convertirse en un problema importante en los sistemas escalados (Zhao et al., 2013; Doherty et al., 2015^{a,b}). Una posible solución a esto, es limitar las distancias que los electrones deben recorrer a través de los materiales que tienen una conductividad comparativamente baja. A favor de ello, es recomendable incorporar colectores de electrones metálicos (Srikanth y Mohan, 2012; Doherty et al., 2015^b; Zhang et al., 2020).

En la **Figura 2.6** se muestra una recopilación de configuraciones y tipos de flujos relevantes en sistemas de H-CCM, el tipo de flujo predominante es el ascendente, seguido del flujo subsuperficial. En los casos de estudio de las **Figuras 2.6a, 2.6b, 2.6d, 2.6f y 2.6i** emplearon algún tipo de separador o membrana para distinguir la zona aerobia de la anaerobia, por lo tanto, son reactores de doble cámara, siendo las figuras restantes de cámara única. Dentro de los materiales de separación se encuentran: membranas de fibra de vidrio (Yadav et al., 2012; Zhao et al., 2013; Doherty et al., 2015^a; Villasenor et al., 2013; Srivastava et al., 2015), arena (Xie et al., 2018) y membranas de arcilla (Sophia y Sreeja, 2017). Un H-CCM generalmente es construido de forma tubular y rectangular, donde los materiales de soporte de las macrófitas que predominan son la grava y el suelo. El lecho de grava simula ser un material inerte, con un tamaño de partícula adecuado para permitir distintos tipos de flujos, generalmente es apto para un flujo subsuperficial. Wu et al. (2013) operaron una serie de tres H-CCM con diferentes estratos, utilizaron fieltro de carbón y CAG como cátodo y ánodo respectivamente. En los tres H-CCM utilizaron la especie *Canna indica*, el primer reactor consistió en cuatro estratos, la primera capa fue de grava particulada (estrato inferior), seguido los gránulos de CAG, posteriormente una capa de grava intermedia y en la parte superior se colocó el cátodo. El segundo H-CCM fue construido con una capa de grava inferior, el ánodo se situó alrededor de las raíces con una capa de grava por encima y el cátodo se colocó en el interfaz aire-agua. El tercer H-CCM fue una combinación entre los estratos del sistema 1 y 2, además de una capa de grava intermedia entre el ánodo y el cátodo. Alimentaron los reactores con agua sintética y reportaron que la máxima densidad de potencia obtenida fue de 10.7 mW/m² con la configuración de estratos 1.

Son pocas las configuraciones que utilizan multielectrodos, por ejemplo: Chen et al. (2012) realizaron un experimento para comprobar si el cátodo en contacto con las raíces de un arrozal (*Oryza sativa*) podría aceptar electrones de oxígeno rizosférico. Las estimaciones de oxígeno liberado en la rizósfera se cuantificaron aplicando un sensor de oxígeno, para ello diseñaron un nuevo reactor con dos cátodos, se introdujo un cátodo bajo la rizósfera y el otro en el interfaz superficial. A través del cátodo aireado se produjo un máximo voltaje de 191 mV y con el cátodo subterráneo se produjo 201 mV, concluyeron que el oxígeno emanado por el aerénquima de esta especie es fuente alternativa y viable como aceptor de electrones. Se observó que un cátodo de suelo tiene una eficiencia comparable a un tipo cátodo-aire, además, tiene la ventaja de tener una distancia más reducida entre el ánodo porque puede colocarse directamente en la rizósfera. En otro estudio, Xu et al. (2018) utilizaron un H-CCM con multielectrodos catódicos (tela de carbón), colocaron dos estratos para dar soporte (gravilla y grafito granular), el ánodo fue enterrado dentro del estrato de grafito granular. El reactor fue alimentado con agua sintética con flujo intermitente, alcanzando una producción máxima de 26.1 mW/m².

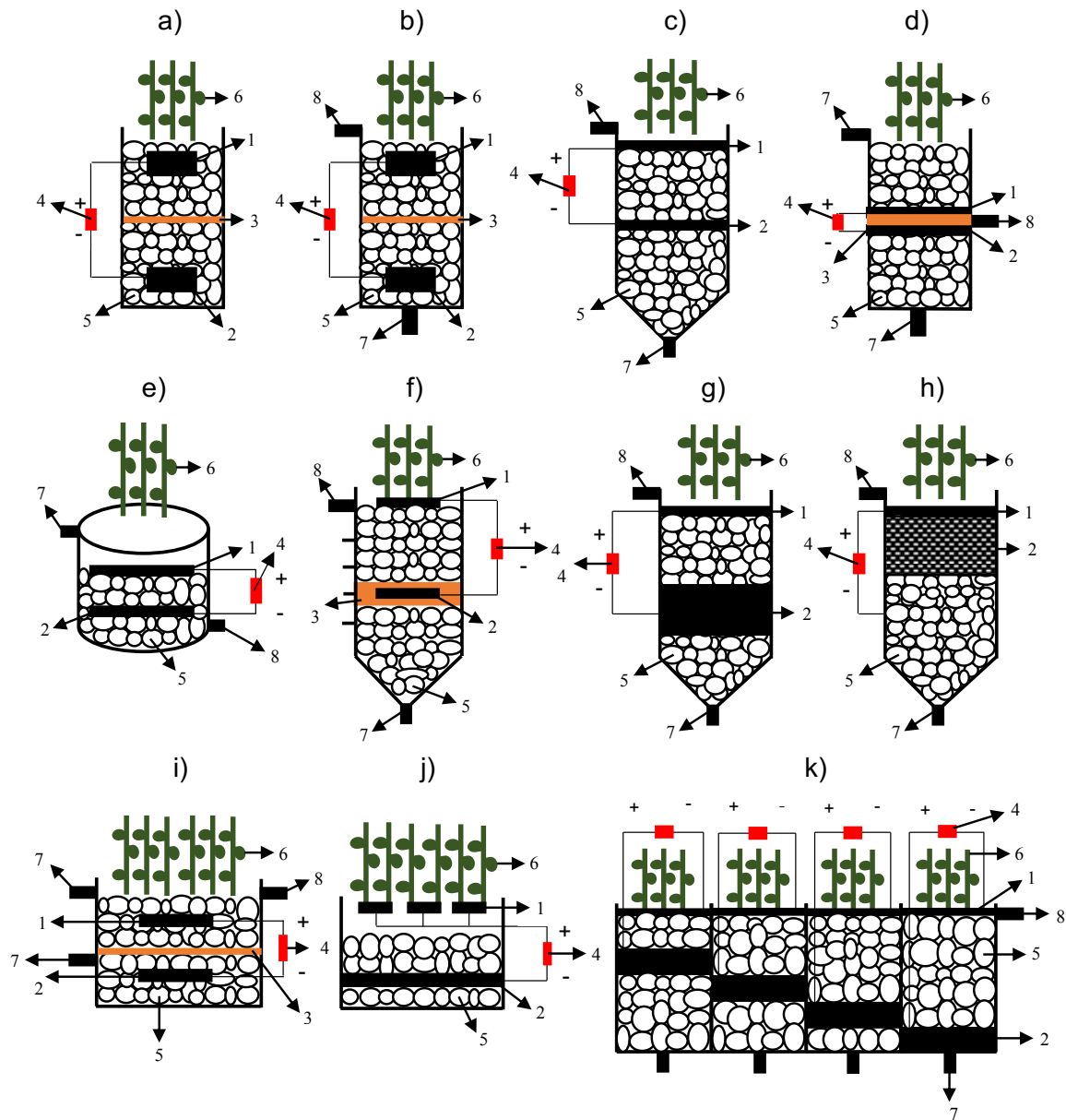


Figura 2.6. Configuraciones de H-CCM operados con distintos tipos de flujos: a) Operado en batch (Yadav et al., 2012), b) Flujo ascendente (Zhao et al., 2013), c) Flujo ascendente (Liu et al., 2013), d) Flujos ascendentes y descendentes simultáneos (Doherty et al., 2015^b), e) Flujo descendente (Zaman y Wardhana, 2018), f) Flujo subsuperficial horizontal (Xie et al., 2018), g) Flujo ascendente (Xu et al., 2016^a), h) Flujo ascendente (Xu et al., 2016^a), i) Flujo subsuperficial horizontal (Villasenor et al., 2013), j) Operado en batch (Xu et al., 2018), k) Flujo subsuperficial horizontal (Song et al., 2017).

Cátodo (1), ánodo (2), material separador (3), resistencia externa (4), soporte (5), macrófita (6), influente (7), efluente (8).

Para que los diseños de un sistema de H-CCM sean rentables, deben considerarse factores como: el funcionamiento a largo plazo, facilidad de manejo y respeto al entorno ambiental (Nitorisavut y Regmi, 2017; Logan et al., 2006). La novedad de utilizar un H-CCM, reside en la obtención de bioelectricidad a partir del proceso de la rizodeposición. Trabajar con macrófitas es una opción sustentable, en lugar de investigar con CCM que involucran catalizadores químicos y membranas PEM que son materiales sumamente costosos. Aún falta realizar diseños de configuraciones que resuelvan algunos problemas que enfrenta esta tecnología, tales como: el aumento de la resistencia interna, el exceso del sobrepotencial durante la activación microbiana, pérdidas óhmicas y por concentración, contacto eléctrico insuficiente entre las bacterias y el ánodo, entre otros (Rabaey y Verstraete, 2005; Nitorisavut y Regmi, 2017). Por tal motivo se deben considerar mejorar algunos aspectos que incrementen su eficacia, incluyendo: los inóculos, sustratos, tipos de membranas, las resistencias externas e internas, fuerzas iónicas del electrolito, materiales de los electrodos y el espacio entre ellos (Cheng et al., 2006).

La posición, la profundidad y el tamaño de los electrodos son factores que deben considerarse al diseñar un H-CCM para potencializar la bioelectricidad (Oon et al., 2015; Nattawut y Holasut, 2015). Takanezawa et al. (2010) evaluaron un H-CCM con la especie *Oryza sativa*, observaron que con un ánodo sumergido a 5 cm de profundidad, la densidad de potencia fue hasta tres veces mayor que la de un ánodo sumergido 2 cm. Huan et al. (2014) realizaron un trabajo similar, quienes reportaron 0.7 mW/m² utilizando un H-CCM con sedimentos, también observaron un mayor rendimiento cuando el ánodo se colocó a 5 cm del suelo. A partir de esto se puede concluir que la identificación de la zona anódica es esencial para proporcionar las condiciones anóxicas-anaerobias necesarias. Por esta razón, variar las distancias del ánodo desde la zona radicular puede alterar las salidas de potencia y corriente (Chiranjeevi et al., 2012; Corbella et al., 2014; Takanezawa et al., 2010).

Las configuraciones más destacadas son las de placa plana y en sistemas tubulares predominan las de cámara doble (Timmers et al., 2013). Se ha comprobado que el primer diseño presenta menores pérdidas óhmicas y mayores voltajes. Relacionado a ello, la resistencia interna y la corriente de salida en diferentes regiones anódicas afectan la salida de potencia en función de la morfología de las raíces. Por tal razón, es importante comprender y vincular los diseños para aprovechar al máximo las ventajas del sistema radicular, esto inclusive podría reemplazar las membranas. En cambio, los diseños tubulares han reportado mayores remociones de DQO de aguas residuales (Zhang et al., 2013), algunos diseños de este tipo se pueden innovar para mejorar la eficiencia bioenergética. Los diseños híbridos son un recurso disponible, principalmente para poder alterar la configuración donde se pueda obtener un mayor rendimiento en H-CCM (Xu et al., 2016^b) como se observa en la **Figura 2.7**.



Figura 2.7. Fotografías de H-CCM. a) Borker et al. (2018)^b, b) Helder (2012)^a, c) Sophia y Sreeja (2017)^b, d) Brunelli et al. (2016)^b, e) Moqsud et al. (2015)^b, f) Wetser (2016)^a, g) Aguirre (2017)^a, h) Khudzari (2018)^b, i) Rossi et al. (2017)^b, j) Rusyn (2018)^a, k) Kouzuma et al. (2014)^{NA}, l) Wetser (2016)^a, m) Fang et al. (2015)^a, n) Yadav et al. (2012)^a, o) Regmi (2017)^a.

a) Cámara doble; b) Cámara única; NA (no aplica).

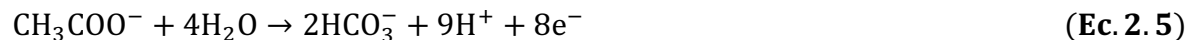
2.1.1.1.8. Tratamiento de aguas residuales con H-CCM

Los dispositivos de H-CCM fueron diseñados originalmente para la generación de bioelectricidad a partir de la rizodeposición. Pero esta tecnología se ha empleado para el tratamiento de aguas residuales, aunque la energía bioeléctrica producida es baja, muestra una capacidad prometedora para el tratamiento de contaminantes (Nattawut y Holasut, 2015). La sinergia entre la oxidación de residuos orgánicos y la generación de bioelectricidad, proporciona que los H-CCM desempeñen un papel importante en el tratamiento mejorado de aguas residuales en comparación con los HCA (Wang et al., 2017^c). La concentración de materia orgánica repercute en gran medida el rendimiento, por ello es necesario mantener un equilibrio de la cantidad de sustratos para la oxidación en el ánodo y limitar la cantidad de los mismos que llegan al cátodo. De acuerdo con Brunelli et al. (2016) las reacciones habituales que involucran la oxidación de materia orgánica en la cámara anaerobia y la reducción de oxígeno en la cámara aerobia son las siguientes:

Reducción en el cátodo (O₂)



Oxidación en el ánodo (acetato)



De los principales objetivos de esta revisión bibliográfica, se encuentra investigar los roles que ejercen las macrófitas sobre los H-CCM en el tratamiento de aguas residuales y en el rendimiento bioelectroquímico. Dentro de la investigación se han realizado estudios que involucran la producción de bioelectricidad (Helder et al., 2010), degradación de compuestos tóxicos (pireno) (Yan et al., 2015), remoción de materia orgánica (DQO y DBO₅) (Villasenor et al., 2013), análisis de la comunidad microbiana (Timmers et al., 2012; Ahn et al., 2014; Deng et al., 2014), tamaño de los electrodos (Takanezawa et al., 2010), aplicación de bioelectrodos (Wetser et al., 2015), configuraciones y formas de operación (Tamta et al., 2020) entre otros.

Esta tecnología comprende diferentes áreas multidisciplinarias de estudio, que van desde las clases de flora, componentes de los humedales (medio de soporte, ánodo, cátodo y separador), sustratos, configuraciones (tipos de flujo y volumen), ubicación y distancia entre los electrodos, remociones de contaminantes y el estudio de la bioelectroquímica (**Tabla 2.1**). Por lo que, la exploración de estos campos parece ser esencial para comprender la relación que existe entre ellos. La mejor forma de entender de manera integral las interrelaciones existentes entre cada factor, es unir la tecnología y estudiar todos los fenómenos involucrados en un solo biosistema.

Respecto a la aportación de sustratos orgánicos, Liu et al. (2014) observaron una tendencia creciente en las densidades de potencia al aumentar las cargas de DQO en los influentes, con concentraciones que van de 50 hasta 250 mg/L. Sin embargo, aumentos adicionales a concentraciones de 500 y 1000 mg/L, resultaron en valores promedio de densidades de potencia de 33.7 y 21.3 mW/m² respectivamente. En comparación con 44.6 mW/m², cuyo valor se obtuvo con una DQO de 250 mg/L. Las raíces de las macrófitas en el ánodo mejoraron ligeramente las remociones de DQO debido al crecimiento de bacterias heterotróficas en la rizósfera (Fang et al., 2013; Liu et al., 2013). La inclusión de macrófitas a un sistema de CCM, demuestra alto potencial para mejorar la eficiencia de eliminación de DQO de aguas residuales municipales y sintéticas. A pesar de ello, en la investigación de Doherty et al. (2015^a) se reporta que solo del 0.05-3.9% de la DQO eliminada se utiliza para producir una corriente eléctrica, tomando en cuenta la eficiencia coulombica, pero los H-CCM son capaces de tratar altas cargas orgánicas, con remociones superiores a 90%.

De acuerdo con Liu et al. (2013 y 2014) en sus estudios informaron que el aumento en la corriente eléctrica no fue proporcional al incremento de sustrato, debido a que la rizósfera proporciona una gran cantidad de superficies alternativas para la unión y el crecimiento bacteriano. Por lo tanto, a medida que el contenido orgánico de las aguas residuales aumenta, la proporción del sustrato que se degrada para producir bioelectricidad puede disminuir. En otro estudio, Habibul et al. (2016) evaluaron la eliminación de Cr (VI), observaron que con una operación prolongada el sistema se comporta estable y pseudoconstante para la captación de este metal. La especie utilizada fue *Lolium perenne*, utilizaron gránulos de grafito como ánodo y fieltro de carbón como cátodo, ambos conectados con alambre de titanio a una resistencia externa de 1000 Ω. En el H-CCM de control, obtuvieron una máxima remoción del 38% y con el H-CCM de operación a largo plazo removieron hasta 99%. Una mayor concentración inicial de Cr (VI) dio una producción mayor de densidad de corriente, con una concentración de 19 mg/L la bioelectricidad fue de 55 mA/m², este valor fue 2 veces mayor que a una concentración inicial de 9 mg/L.

Yadav et al. (2012) utilizaron un H-CCM para evaluar las remociones de azul de metileno y DQO, así como la producción de bioelectricidad con la especie *Canna indica*. Como matriz de estabilidad utilizaron gravilla, el ánodo (placa de carbón) se colocó cerca del fondo del microcosmos, con la idea de que esta zona sea anaerobia y adecuada para las reacciones biológicas, el cátodo fue colocado por encima de la rizósfera. Alimentaron el reactor con concentraciones de 2000, 1500, 1000 y 500 mg/L del colorante, alcanzando remociones máximas de 76.2, 80.8, 69.2 y 93.1% respectivamente. Referente a las remociones de materia orgánica, obtuvieron una degradación de DQO del 75%, punto en el que se produjo una máxima densidad de potencia de 15.7 mW/m². En otros estudios, evaluaron los efectos del tiempo de

retención hidráulico (TRH) para la remoción de contaminantes. Fang et al. (2015) estudiaron un H-CCM con la especie *Ipomea acuática*, el cual se alimentó con una solución sintética. Evaluaron diferentes TRH (1.2, 2, 2.5, 3, 3.5 y 4 días), además de las remociones del colorante rojo brillante ABRX3 y las degradaciones de DQO. Como electrodos utilizaron gránulos de carbón activado conectados con un cable de titanio a una resistencia externa de 1000 Ω . El TRH influyó significativamente en el proceso de la decoloración. La densidad de potencia, el voltaje a circuito abierto y las remociones de DQO aumentaron inicialmente y después disminuyeron cuando se prolongó el TRH. La potencia volumétrica más alta fue de 0.06 W/m³, mientras que la tasa de decoloración más alta fue del 92.8% cuando el TRH fue de 3 días, concluyeron que con un TRH óptimo, mejoraría la obtención de bioelectricidad y la eliminación de contaminantes simultáneamente.

En otro experimento utilizaron cuatro soportes de diferentes granulometrías, donde la eficiencia de decoloración del contaminante azoico (ABRX3) fue del 92.7%, punto en que produjeron una potencia volumétrica de 0.1 W/m³ (Fang et al., 2018). Oon et al. (2015) operaron un H-CCM con concentraciones de DQO, NO₃-N y NH₃-N de 624, 142 y 40 mg/L respectivamente, cuyas remociones fueron de 99, 46 y 96% con un registro de potencia volumétrica de 93 mW/m³. En otro estudio trataron aguas residuales grises utilizando la especie *Phragmites australis*. El H-CCM fue efectivo para las eliminaciones de DQO, P_T (fósforo total), NO₃-N y SST (hasta 99.5%). La densidad de potencia alcanzó un valor de 33.5 mW/m² con pruebas de asistencia potencioestática (Araneda et al., 2018). Saz et al. (2018) estudiaron el efecto del tipo de especies de macrófitas sobre la producción de bioelectricidad en H-CCM que trataban aguas residuales sintéticas. Con la especie *Typha angustifolia* obtuvieron remociones de DQO, NH₄-N y P_T de 88, 97 y 97% respectivamente, con una máxima densidad de potencia de 18.1 mW/m². Yan et al. (2018) investigaron el efecto del rendimiento bioelectroquímico con un cátodo aireado en la rizósfera de la especie *Canna indica*, reportando una densidad de potencia de 4.2 mW/m² y remociones de DQO y NH₃-N de 79.1 y 36.2% respectivamente.

La tecnología de H-CCM podría tener muchas virtudes para ser aplicables en un futuro no lejano, considerando que ha demostrado la capacidad para remover altas cantidades de materia orgánica y nutrientes. No solo eso, también se han eliminado otros tipos de contaminantes, entre ellos: tintes, metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos. La producción de bioelectricidad sigue siendo un factor limitante debido a las bajas cantidades que se producen, a pesar de eso, el potencial de los SBE tiene algunas aplicaciones. Además de la producción de bioelectricidad, esta tecnología se puede utilizar para producir biohidrógeno y biocombustibles, incluso pueden funcionar como biosensores (Gupta et al., 2020; Bose et al., 2018; Yao et al., 2018; Yadav et al., 2018; Ayala et al., 2019; Prasad y Tripathi, 2018).

Tabla 2.1. Estudios realizados con H-CCM.

Objetivo de estudio	Sustrato	Soporte	Especie de macrófita	Ánodo	Cátodo	Separador	Tipo de flujo	Volumen (L)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Potencia volumétrica (w/m ³)	Resistencia interna (Ω)	Remoción de contaminantes (%)	Referencias
Variación de la especie de macrófita	Agua sintética	Grava	<i>Canna indica</i>	Placa de grafito	Placa de grafito	Fibra de vidrio	Flujo ascendente	2.3	15.7	0.02	---	76.5 (DQO)	(Regmi et al., 2018 ^a)
Remoción de materia orgánica bajo diferentes cargas orgánicas	Agua sintética	Grava	<i>Phragmites australis</i>	Placa de grafito	Placa de grafito	Bentonita de calcio	Flujo subsuperficial horizontal	150	43	---	120	95 (DQO)	(Villasenor et al., 2013)
Remoción de colorante azo y producción de bioelectricidad	Agua sintética	Grava	<i>Ipomoea aquatica</i>	Carbón activado granular	Carbón activado granular	---	Flujo ascendente	12.4	---	0.3	272.9	85.7 (DQO) 91.2 (colorante ABRX3)	(Fang et al., 2013)
Producción de bioelectricidad y remoción de materia orgánica	Agua sintética	Grava	<i>Ipomoea aquatica</i>	Malla de acero inoxidable	Carbón activado granular	---	Flujo ascendente	1.4	55	0.3	582	95 (DQO)	(Liu et al., 2013)
Remoción de nutrientes, materia orgánica y producción de bioelectricidad	Agua sintética	Grava	<i>Phragmites australis</i>	Varilla de grafito	Varilla de grafito	Fibra de vidrio	Flujo ascendente	8.1	---	0.2	300	80 (DQO) 75 (NH ₃ -N) 85 (P _T)	(Doherty et al., 2015 ^b)
Remoción de Cromo (VI) y producción de bioelectricidad	Agua sintética	Gránulos de grafito	<i>Lolium perenne</i>	Gránulos de grafito	Fieltro de carbón	---	Sin flujo (Batch)	1	---	---	---	99 (Cromo VI)	(Habibul et al., 2016)
Remoción de nitrógeno y producción de bioelectricidad	Agua sintética	Arena de cuarzo	<i>Canna indica</i>	Fieltro de carbón	Fieltro de carbón	---	Sin flujo (Batch)	4	3	---	---	44.5 (DQO) 80.7 (NO ₃ -N)	(Wang et al., 2017 ^a)
Variación de las tasas de carga orgánica para producción de bioelectricidad	Agua sintética	Grava	<i>Canna indica</i>	Fieltro de carbón	Carbón activado granular	---	Flujo ascendente	60	10.7	---	188	---	(Xu et al., 2016 ^a)
Variación de la distancia entre los electrodos	Agua sintética	Grava	<i>Phragmites australis</i>	Carbón activado granular	Carbón activado granular	---	Flujo subsuperficial horizontal	35	4.5	0.2	360.5	94.9 (DQO)	(Song et al., 2017)
Uso de composta	---	Suelo de composta	<i>Canna stuttgartar</i>	Tela de carbón	Brocha de carbón	Arcilla	Flujo subsuperficial horizontal	0.2	222	---	22	---	(Sophia y Sreeja, 2017)
Degradación de nitrobenzeno y producción de bioelectricidad	Agua sintética	Grava	<i>Eichhornia crassipes</i>	Placa de grafito	Placa de grafito	Arena	Flujo subsuperficial horizontal	38	1.5	---	449.5	92.8 (nitrobenzeno) 78.30 (DQO)	(Xie et al., 2018)

ANTECEDENTES

Objetivo de estudio	Sustrato	Soporte	Especie de macrófita	Ánodo	Cátodo	Separador	Tipo de flujo	Volumen (L)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Potencia volumétrica (w/m ³)	Resistencia interna (Ω)	Remoción de contaminantes (%)	Referencias
Evapotranspiración y producción de bioelectricidad	Lixiviados de vertedero	Grava-suelo	<i>Alocasia macrorrhiza</i>	Placa de grafito	Placa de grafito	---	Flujo descendente	302	0.1	---	---	---	(Zaman y Wardhana, 2018)
Evaluación de biocátodos para la producción de bioelectricidad	Agua sintética	Grava	<i>Ipomoea aquatica</i>	Carbón activado granular	Tela de carbón, malla de acero inoxidable	---	Flujo ascendente	3.9	55	---	582	95 (DQO)	(Liu et al., 2014)
Evaluación de la tasa de remoción de DQO	Agua sintética	Grava	---	Grava de grafito-malla de acero inoxidable	Partículas de carbón activado, malla de acero inoxidable	---	Flujo ascendente	2	---	1.3	206.3	---	(Xu et al., 2018)
Producción de bioelectricidad con módulos de H-CCM combinados	Agua sintética	Grava-arena	<i>Typha angustifolia</i>	Placa de grafito	Placa de magnesio	Lana de vidrio	Flujo descendente	81	18.1	---	---	88 (DQO) 97 (NH ₄ -N) 97 (P _T) 63 (NO ₃ -N)	(Saz et al., 2018)
Variación de electrodos	Agua sintética	Suelo	<i>Sporobolasarabicus</i>	Placa de níquel-varilla de grafito	Barra de níquel-grafito	---	Flujo ascendente	2	23	---	---	---	(Gilani et al., 2016)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Agua sintética	Grava	<i>Ipomoea aquatica</i>	Carbón activado granular	Carbón activado granular	---	Flujo ascendente	35	12.4	---	---	92 (DQO)	(Liu et al., 2013)
Evaluación de H-CCM con aireación suplementaria	Agua sintética	Grava	<i>Elodea nuttallii</i>	Carbón activado	Carbón activado	---	Flujo ascendente	19	---	0.1	200-300	99 (DQO)	(Oon et al., 2015)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Agua sintética	Grava	<i>Canna indica</i>	Grafito granular	Tela de carbón	Lana de vidrio	Flujo ascendente	1.8	---	0.3	---	84 (DQO)	(Srivastava et al., 2015)
Producción de bioelectricidad	Agua sin nutrientes	Grava	<i>Canna indica</i>	Disco de grafito	Tela de carbón	---	---	2.6	18	---	---	---	(Lu et al., 2015)
Producción de bioelectricidad	Agua sintética	Gránulos de grafito	<i>Glyceria maxima</i>	Filtro de carbón	Filtro de carbón	Membrana de intercambio catiónico	---	---	67	---	450-600	---	(Strik et al., 2008)
Identificación microbiana	Agua sintética	Suelo	<i>Oryza sativa</i>	Filtro de carbón	Filtro de carbón	---	---	---	19	---	---	---	(Kouzuma et al., 2014)
Producción de bioelectricidad	---	Suelo	<i>Oryza sativa</i>	Filtro de carbón	Filtro de carbón	Membrana de intercambio catiónico	---	---	14.4	---	---	---	(Takanezawa et al., 2010)

ANTECEDENTES

Objetivo de estudio	Sustrato	Soporte	Especie de macrófita	Ánodo	Cátodo	Separador	Tipo de flujo	Volumen (L)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Potencia volumétrica (w/m ³)	Resistencia interna (Ω)	Remoción de contaminantes (%)	Referencias
Producción de bioelectricidad con cátodos asistidos	Agua sintética	Grava	<i>Canna indica</i>	Filtro de carbón	Tela de carbón	Lana de vidrio	---	10	31	19.6	---	72.1 (DQO)	(Srivastava et al., 2017)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Agua residual domestica	Arena de cuarzo	<i>J. effusus</i> <i>T. orientalis</i> <i>S. validus</i>	Filtro de carbón	Filtro de fibra de carbón	---	Sin flujo (Batch)	---	21.5	---	---	80 (DQO) 74 (N _T)	(Wang et al., 2017 ^b)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Agua sintética	Mezcla de suelo y arena de cuarzo	<i>Iris pseudacorus</i>	Filtro de carbón	Filtro de grafito	---	Sin flujo (Batch)	13.5	9.6	---	300	91.2 (DQO) 95-99 (N _T , NH ₄ -N y P _T)	(Wu et al., 2015)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Aguas grises	Grava	<i>Phragmites australis</i>	Gránulos de grafito	Gránulos de grafito	---	Sin flujo (Batch)	10	33.5	---	---	91.7 (DQO) 90 (P _T) 99.5 (NO ₃ -N) 78.4 (SST)	(Araneda et al., 2018)
Producción de bioelectricidad y tratamiento de agua residuales	Agua sintética	Grava	<i>Iris pseudacorus</i>	Fibra de grafito	Malla de acero	Fibra de espuma	---	4.3	63	---	62	99 (DQO)	(Regmi et al., 2018 ^b)
Identificación microbiana	Aguas porcinas	Coque calcinado	<i>Juncus effusus</i>	Coque	Coque	---	Flujo ascendente	8.4	---	---	---	80 (DQO)	(Vargas et al., 2018)
Producción de bioelectricidad	Agua de grifo	Turba de coco	<i>Setaria faveri</i>	Tela de carbón	Tela de carbón	---	Sin flujo (Batch)	---	4.6	---	1500	---	(Borker et al., 2018)
Producción de bioelectricidad	Agua residual	Arena de cuarzo	<i>Canna indica</i>	Barra de grafito	Filtro de carbón	---	Sin flujo (Batch)	4	5.1	---	---	48.7 (DQO)	(Wang et al., 2017 ^c)
Producción de bioelectricidad mediante techos verdes	Agua de grifo	Arena Limo Arcilla	<i>S. kamschaticum</i> <i>S. rupestre</i> <i>S. album</i> <i>S. hybridum</i> <i>S. spurium</i> <i>S. sexangulare</i> <i>S. reflexum</i>	Carbón activado granular	Filtro de carbón	---	Sin flujo (Batch)	0.4	114.6 (μW/m ²)	---	---	---	(Tapia et al., 2018)
Producción de bioelectricidad y remoción de contaminantes	Agua sintética	Grava Perlas de vidrio Cerámicos biológicos	<i>Ipomoea aquatica</i>	Carbón activado granular	Carbón activado granular	---	Flujo ascendente	---	---	0.1	651.9	92.7 (colorante ABRX3)	(Fang et al., 2018)

2.1.1.1.9. Microorganismos presentes en la rizósfera de H-CCM

La rizósfera es la región inmediata en la que se ubican dispersas las raíces de las macrófitas, donde en muchos estudios han sido colocados los electrodos durante la operación de H-CCM (Moore et al., 2007). Esta zona es ampliamente biocompatible, es decir, que permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos. Existe una unión entre la superficie radicular y las bacterias debido a la liberación de los rizodepósitos. En los H-CCM las comunidades microbianas son muy diferentes, puesto que los exudados difieren cualitativa y cuantitativamente. Además de que los consorcios microbianos varían de acuerdo con el tipo de matriz de soporte, el inóculo y las condiciones de operación (Cabezas, 2010; Nitorisavut y Regmi, 2017).

Una variedad de especies bacterianas han sido identificadas en las rizósferas de las macrófitas, Kaku et al. (2008) identificaron especies dominantes de *Natronocella acetinirlica*, *Beijerinckiaceae* y *Rhodobacter* que habitaban en la rizósfera de la especie *Oryza sativa*. En otro H-CCM operado con la misma especie de macrófita, encontraron altas poblaciones de *Desulfobulbus spp.* y *Geobacter spp.* sobre el ánodo (De Schamphelaire et al., 2010). En otro estudio con arrozales, encontraron bacterias de *Deltaproteobacteria*, *Anaeromyxobacter*, *Anaerolineae* y *Geobacter spp.* (Cabezas et al., 2015). Lu et al. (2015) utilizaron los exudados de *Canna indica* como sustrato, la diversidad microbiana identificada incumbe a: *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* y *Geobacter spp.* Bacterias pertenecientes a los grupos *Crenarchaeota*, *Methanosarcinales*, *Methanocellales*, *Methanomicrobiales*, *Desulfurococcales*, *Thermococcales*, *Thermoplasmatales* y *Thermoproteales spp.* también han sido aisladas de biopelículas anódicas durante la operación de H-CCM (Arends et al., 2014; Ahn et al., 2014). Entre las especies de bacterias productoras de bioelectricidad han sido identificadas *Geobacter spp.*, *Ruminococcaceae spp.*, *Desulfobulbus spp.*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Shewanella*.

Las bacterias electroactivas son clasificadas como electrogénicas, anodófilas y exoelectrógenas en función de su capacidad de transferir electrones a los electrodos (Pandit et al., 2017). En ambientes anaerobios, una mayor diversidad de bacterias exoelectrógenas se desarrollan en relación sintrófica con la rizósfera (Torres et al., 2010), por lo que, controlar esta condición es de suma importancia. La formación de la biopelícula desarrollada sobre los electrodos, no solo está influenciada por las condiciones fisicoquímicas del medio electrolítico en las que se desarrolla, otros factores como: la matriz de soporte, las especies de macrófitas, las interacciones de las bacterias con la rizósfera, la temperatura, la humedad, el pH, el oxígeno disuelto y el sustrato también pueden afectar (Deng et al., 2012). Por eso, una comprensión profunda del efecto de estos factores sobre las interacciones microbianas y la transferencia de electrones en la rizósfera, sería útil para el desarrollo de tecnologías que propicien un aumento en la producción de bioelectricidad (Jingyu et al., 2020).

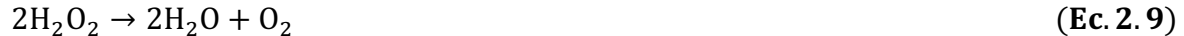
2.1.1.1.10. Reacción de reducción de oxígeno

En el estudio de las celdas de combustible, existe una gran variedad de procesos electroquímicos de interés tecnológico, que requieren el uso de materiales con alta actividad catalítica. La reacción de reducción de oxígeno (RRO) es una prioridad en la investigación. Sin embargo, debido a su complejidad, su mecanismo sigue siendo controversial. Varios modelos para la RRO se han propuesto, generalmente se ha observado que las cinéticas y los mecanismos de la reducción depende de varios factores, entre ellos: el material electrocatalítico, electrolito, tamaño de partículas, entre otros (Ma et al., 2019). No obstante, se ha establecido que para la RRO en medios ácidos ocurren las siguientes reacciones (**Ecuaciones 2.6-2.9**):

a) Vía directa



b) Vía indirecta



La vía directa involucra una transferencia de 4 electrones, en este proceso ocurren varias etapas en las que el oxígeno es reducido directamente a agua. Las etapas elementales involucran productos intermedios (peróxido de hidrógeno), pero esta especie no se observa en solución. Energéticamente es la vía más deseable para que se lleve a cabo la RRO, considerando que no produce reacciones paralelas, donde todo el potencial aplicado se emplea en una sola reacción de reducción. Por otro lado, la trayectoria indirecta de 2 electrones involucra las especies subproducto que están presentes en la solución. Hay que denotar que la vía indirecta, hace ineficiente la reacción global de reducción de oxígeno, además de la propiedad corrosiva del peróxido de hidrógeno hacia los componentes con los cuales esté en contacto en una celda electroquímica (Damjanovic et al., 1966).

Las cinéticas y los mecanismos de la RRO, están en función de las propiedades intrínsecas de los materiales y factores experimentales. Se han propuesto diferentes mecanismos de reacción, en estos se involucran productos intermedios y etapas determinantes de reacción como se observa en la **Figura 2.8**. El modelo más simple es el propuesto por Damjanovic et al. (1966) (**2.8a**), este mecanismo describe una reducción directa a agua mediante la reacción k_1 . En cambio, el mecanismo indirecto

consta en la formación de peróxido de hidrógeno en solución (k_2), seguida de otra etapa de reducción de subproducto a agua (k_3). Este modelo asume tres hechos: que no existe descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno, las reacciones adsorción-desorción son rápidas estando en equilibrio y la constante de velocidad de oxidación es despreciable. El modelo de Wroblowa et al. (1976) (2.8b), considera además de la etapa de adsorción-desorción del subproducto, las constantes k_5 y k_6 , también incluye una etapa de descomposición química (k_4). Appleby y Savy (1978) (2.8c), extienden su modelo hacia aplicaciones con electrodos porosos y agregan la posibilidad de obtención de agua a partir de una descomposición electrocatalítica del peróxido de hidrógeno una vez desorbido (k_5). El modelo de Zurilla et al. (1978) (2.8d) describe un mecanismo en serie, es operativo y fue aplicado a la reducción de oxígeno sobre electrodos de Au en medios básicos. Un aspecto importante sobre la RRO de los electronanocatalizadores en contacto con electrolitos acuosos, es la interacción del oxígeno con los sitios activados de adsorción sobre la superficie. Dichos sitios activos, poseen mayores actividades electrocatalíticas, por lo que es recomendable implementar materiales catalizadores superficiales para incrementar las velocidades de RRO en ambas vías de reducción.

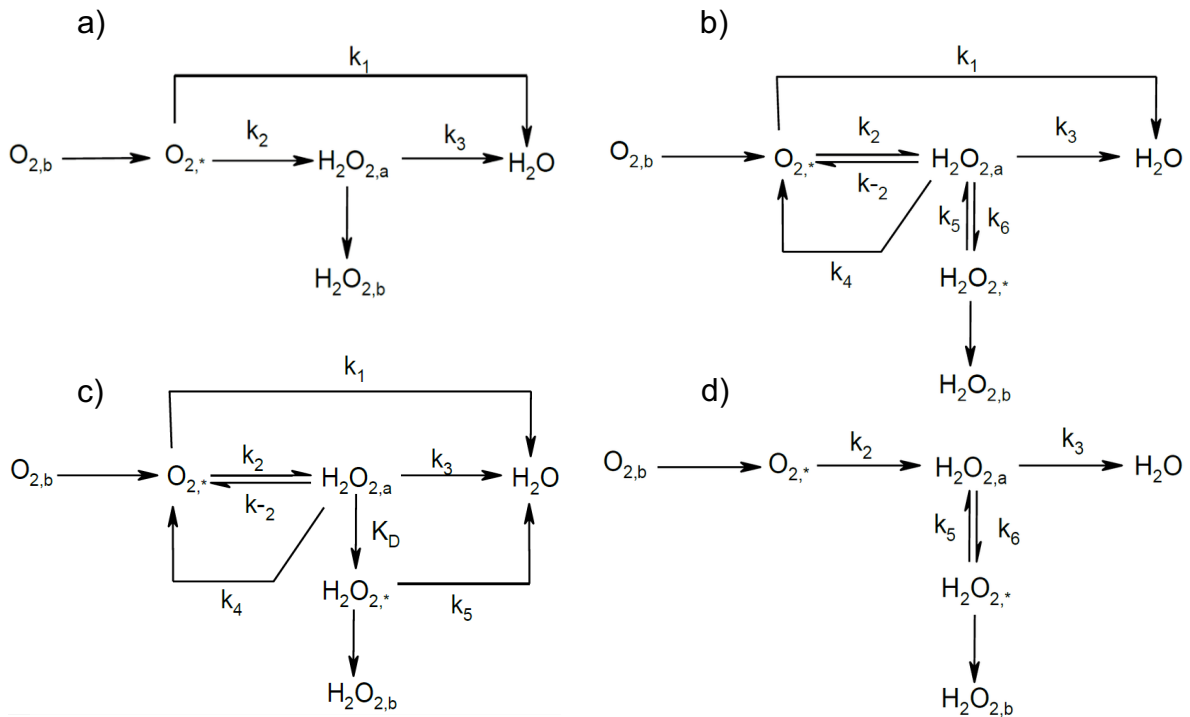


Figura 2.8. Modelos propuestos en la RRO en electrolitos acuosos. (a) Modelos de Damjanovic (Damjanovic et al., 1966), (b) Wroblowa (Wroblowa et al., 1976), (c) Appleby y Savy (Appleby y Savy, 1978), (d) Zurilla (Zurilla et al., 1978). Los símbolos “a, * y b” representan las especies adsorbidas, cerca del electrodo y en el seno de la solución respectivamente. El símbolo “k” representa las constantes de reacción ($k_1 = 4$ electrones, $k_2, k_3, k_4, k_5, k_6 = 2$ electrones).

CAPÍTULO 3

3.1. Objetivo general

Evaluar el desempeño de humedales de celda de combustible microbiana (H-CCM) bajo el aporte de compuestos orgánicos endógenos formados por la rizodeposición de macrófitas acuáticas para la producción de bioelectricidad.

3.2. Objetivos particulares

- Evaluar el rendimiento bioelectroquímico de distintas especies de macrófitas bajo intensidades de radiación solar difusa y directa.
- Identificar exudados radiculares como fuente de sustrato endógeno y posibles donadores de electrones.
- Elucidar los mecanismos de transferencia de electrones en la reacción de reducción de oxígeno rizosférico aplicando nanocatalizadores de carbón.
- Aumentar la sorción de sitios activos en la electrorreducción catódica.

3.3. Hipótesis

- La radiación solar en macrófitas, es uno de los mecanismos preponderantes en la producción de compuestos fotosintéticos endógenos que alimentan la biopelícula anódica, actuando como donadores de electrones.
- La impregnación de nanocatalizadores sobre cátodos de carbón, permitirá incrementar la catálisis de reducción de oxígeno.

3.4. Alcances

Determinar las mejores variables operacionales y estructurales en H-CCM a través de una serie de etapas experimentales y escenarios que potencialicen la producción de bioelectricidad.

CAPÍTULO 4

4.1. Metodología

4.1.1. Sistema experimental 1

4.1.1.1. Construcción y operación de los H-CCM

Se utilizó una serie de recipientes rectangulares de material de polipropileno de 1.5 L (medidas: 18 cm de largo x 10 cm de ancho x 8.5 cm de alto) como H-CCM. Los reactores fueron operados en modo continuo de flujo ascendente ($Q= 0.27$ mL/min) con un TRH de 4 días. Estos fueron alimentados con la solución modificada de Hoagland sin el aporte de un sustrato orgánico exógeno, dicha solución contiene los siguientes micro y macronutrientes en concentraciones de g/L: KNO_3 (0.5), KH_2SO_4 (0.13), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.49), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.01), EDTA-Na (0.03), KI (0.008), H_3BO_3 (0.006), MnSO_4 (0.02), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.008), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.0025) y $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.0025). Para el bombeo se utilizó un equipo MasterFLEX®.

Como ánodo y cátodo se usó fieltro de carbón (Brunssen Inc. México) aunado a una malla de latón dopada con oro, la cual funcionó como colector de electrones. Ambos electrodos recibieron un baño químico con una solución de NaOH (1 N) y HCl (1 N) durante 2 hrs. El dopaje latón/Au consistió en eliminar las impurezas presentes en la malla metálica con METEX REMOVER, ácido sulfúrico al 5% (v/v) y agua desionizada. Una solución de oro (AUTRONEX) fue calentada a 40°C, donde fueron sumergidas las piezas de latón y mediante una electrólisis ($E^\circ = +1.31$ V; Au) de 5 min con un rectificador fue depositada la capa metálica. Finalmente fueron secadas en un horno a 80°C. El ánodo se colocó a 2 cm por encima del fondo del H-CCM. El cátodo se colocó cerca de la macrófita y se expuso a la atmósfera siendo un electrodo tipo cátodo-aire, distanciando un espacio interelectrodo de 8 cm. La malla de alambre de latón/Au se utilizó en el cátodo y ánodo, los dos electrodos fueron conectados a un circuito externo mediante alambre de titanio y una resistencia externa (R_{ext}) de 1000 Ω . Los materiales que configuran cada electrodo (fieltro de carbón + malla de latón/Au) cuentan con un área superficial de 0.0025 m².

Se utilizó roca volcánica de tezontle (T_{tez}) y carbón calcinado de coque granular (C_{coq}) de entre 15 y 19 mm de diámetro como matriz (soporte) para dar estabilidad a la rizósfera de las macrófitas en reactores independientes, el material de soporte fue esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 min y 18 lb/in² de presión. Las especies de macrófitas acuáticas utilizadas fueron: *Aglaonema commutatum* (H-CCM_{1(tez)}/H-CCM_{10(coq)}), *Cyperus papyrus* (H-CCM_{2(tez)}/H-CCM_{11(coq)}), *Epipremnum aureum* (H-CCM_{3(tez)}/H-CCM_{12(coq)}), *Dranacaena braunii* (H-CCM_{4(tez)}/H-CCM_{13(coq)}), *Philodendron cordatum* (H-CCM_{5(tez)}/H-CCM_{14(coq)}), *Chrysopogon zizanioides* (H-

CCM_{6(tez)}/H-CCM_{15(coq)}), *Eichhornia crassipes* (H-CCM_{7(tez)}/HCCM_{16(coq)}) y *Juncus effusus* (H-CCM_{8(tez)}/H-CCM_{17(coq)}), también se operaron reactores de control (H-CCM_{9(tez)}/H-CCM_{18(coq)}). Las raíces de cada especie fueron esterilizadas con una solución de NaOH (1 M). Sobre el ánodo se inoculó lodo granular anaeróbico (1/5 (v/v) respecto al volumen del reactor) obtenido de un reactor UASB (por sus siglas en inglés: Upflow Anaerobic Sludge Blanket) de tratamiento de aguas residuales de la industria papelera para el desarrollo de la biopelícula. La experimentación tuvo una duración de 140 días, tiempo que comprende la operación de los H-CCM bajo intensidades de radiación difusa (IRD1) y directa (IRD2). Para evaluar la eficiencia de los colectores de electrones de latón/AU, se realizó una prueba preliminar. Se operaron dos CCM (sin macrófita, soporte de T_{ez} y 1 g/L de C₁₂H₂₂O₁₁ de sustrato) con diferentes arreglos de electrodos. El primer reactor (E1) consistió en electrodos de fieltro de carbón, en el segundo (E2) se adicionaron los colectores de latón/Au.

4.1.1.2. Estudios bioelectroquímicos

La producción de voltaje (mV, V) del sistema H-CCM fue medido en tiempo real con un multímetro digital modelo MUL-600/RS232C marca STEREN®. Los estudios de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS: del inglés Electrochemical Impedance Spectroscopy) se realizaron con un Potenciostato/galvanostato/ZRA 09097 Gamry Instruments Interface 1000™, el rango de frecuencia que se utilizó fue de 100 KHz-0.1Hz con una señal de AC de una amplitud de 5 mV para analizar la respuesta sin perturbar el funcionamiento de los reactores, dichas condiciones fueron manipuladas con el software Gamry Framework. Los H-CCM se conectaron al potenciostato y fueron evaluados en modalidad de «dos» y «tres» electrodos. Los potenciales anódicos y catódicos se determinaron con el mismo equipo, donde se utilizó un electrodo de referencia de Ag/AgCl (KCl 3M, +207 mV, pH 7 a 25°C) marca Metrohm. La corriente, I (mA), se calculó utilizando la fórmula $I=V/R_{ext}$, donde V (mV) es el voltaje y R_{ext} (Ω) es la resistencia externa. La densidad de potencia P (mW/m²), potencia volumétrica P (W/m³) y la densidad de corriente j (mA/m²), se calcularon de acuerdo a las fórmulas $P=IV/A$, $P=IV/V$ y $j=(V/R_{ext})/A$ respectivamente, donde A (m²) es el área superficial del electrodo anódico y V (m³) representa el volumen del reactor. Las curvas de polarización se realizaron a través de mediciones crecientes de voltajes con una serie de R_{ext} de entre 10 Ω-50 KΩ.

4.1.1.3. Mediciones de radiación solar

Los reactores fueron operados bajo condiciones de luz natural con radiación difusa y directa. Las mediciones de radiación solar se realizaron con un piranómetro marca LI-COR® acoplado a un sistema de adquisición de datos de Keysight 34972A (LXI Data acquisition/Switch Unit) conectado a un multiplexor. Para procesar los datos se utilizó el software Agilent Benchlink.

4.1.1.4. Mediciones analíticas

El carbón orgánico total (COT) se determinó mediante un analizador TOC-LCSH (Shimadzu) de acuerdo a la técnica analítica IMTA-CAQAO6-14.

4.1.1.5. Análisis elemental

El análisis de la composición de fases químicas, se llevó a cabo por medio de la técnica de difracción de rayos X (DRX) con un difractorómetro (Siemens, D5000). Este servicio fue brindado por el laboratorio de cristalografía y rayos X, perteneciente al Instituto de Física (IF) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

El esquema conceptual de este sistema experimental se presenta en la **Figura 4.1** y la **Figura 4.2** muestra los equipos relevantes utilizados.

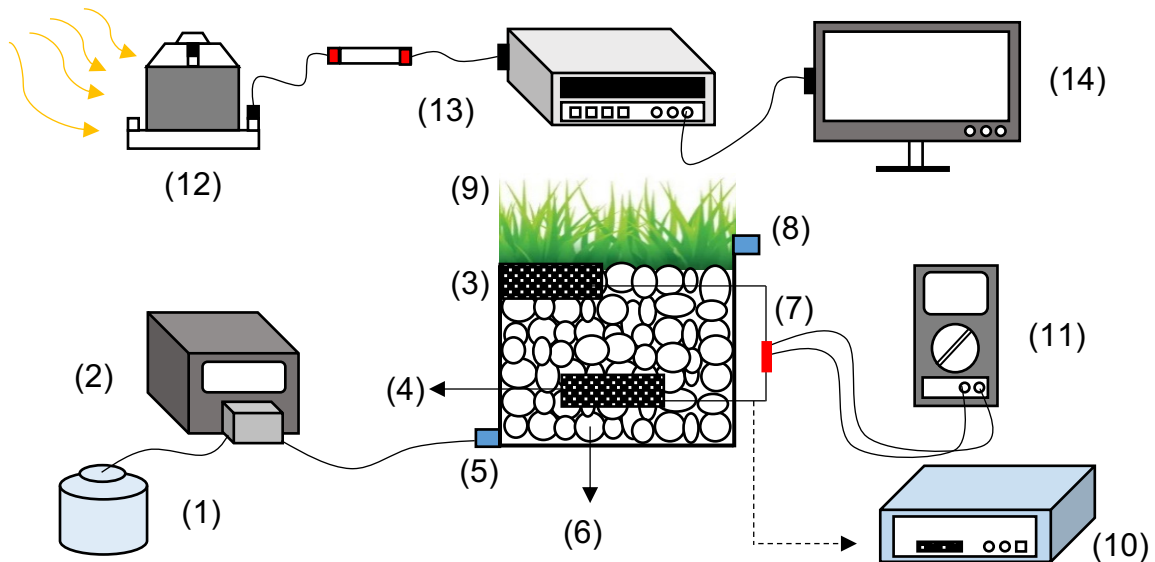


Figura 4.1. Representación esquemática del sistema experimental 1. Solución Hoagland (1), bomba peristáltica (2), cátodo (3), ánodo (4), influente (5), soporte (6), resistencia externa (7), efluente (8), macrófitas (9), potencióstato (10), multímetro (11), piranómetro (12), sistema de adquisición de datos (13), computadora para el procesamiento de datos (14).

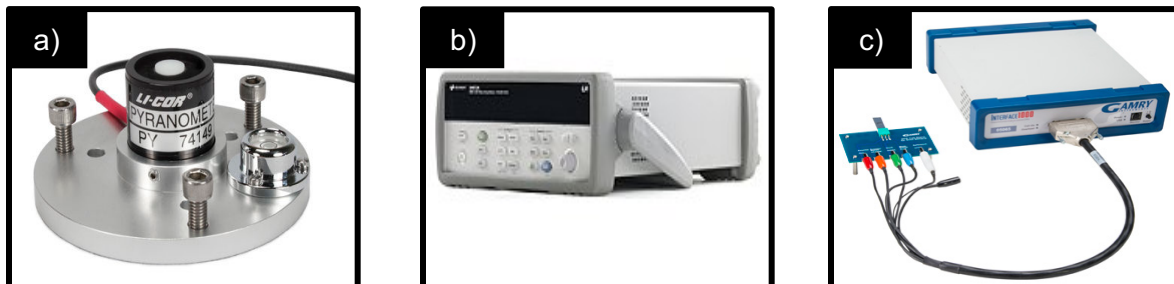


Figura 4.2. Equipos empleados en los experimentos. Piranómetro Licor® (a), sistema de adquisición de datos Keysight (b), potencióstato Gamry instruments™ (c).

4.1.2. Sistema experimental 2

4.1.2.1. Construcción y operación de los H-CCM

Se construyeron dos H-CCM (por duplicado) con las especies: *Juncus effusus* (H-CCM₁) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₂). Se utilizó matriz de T_{ez} y se operó con radiación directa de acuerdo a la metodología de construcción de la sección 4.1.1.1. Para evaluar la producción endógena de exudados radiculares que alimentan a la biopelícula, se dividió la cámara aerobia (rizósfera) de la anaerobia, adicionando una membrana de intercambio protónico (CMI-7000, Membrane International Inc.) de 0.0135 m² de área superficial interespacial. Los H-CCM fueron operados con reguladores de flujos descendentes y alimentados con la solución modificada de Hoagland, con un tiempo de operación de 120 días. La evaluación electroquímica se realizó siguiendo la metodología de la sección 4.1.1.2. Las mediciones de la temperatura y voltaje se realizaron en tiempo real, para el primero se utilizó un cable termopar tipo “K” y para el segundo un cable de cobre (#16 nominal), ambos fueron conectados al multiplexor del sistema de adquisición de datos Keysight. Para medir la temperatura al interior de las cámaras de cada H-CCM, se utilizaron termómetros bimetálicos circulares marca TEL-TRU. En la siguiente **Figura (4.3)** se muestra la configuración que comprende la segunda etapa experimental.

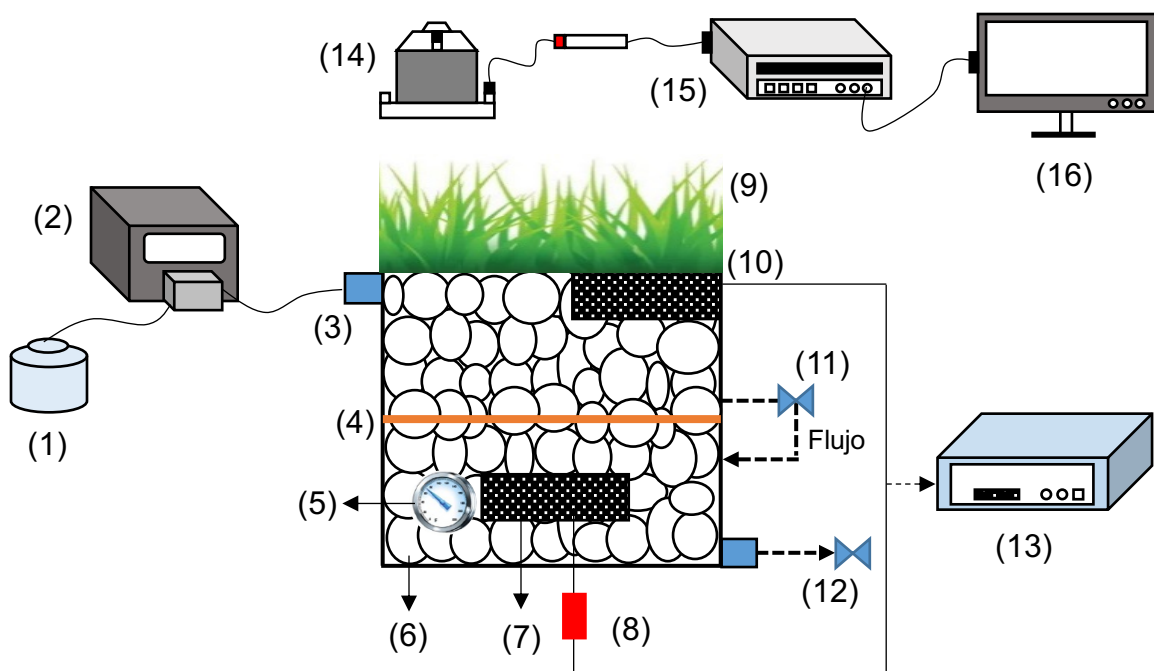


Figura 4.3. Representación esquemática del sistema experimental 2. Solución Hoagland (1), bomba peristáltica (2), influente (3), membrana divisora PEM (4), termómetro (5), matriz (6), ánodo (7), resistencia externa (8), macrófita (9), cátodo (10), regulador de flujo con punto de muestreo 1 (11), regulador de flujo con punto de muestreo 2 y efluente (12), potencióstato (13), piranómetro (14), sistema de adquisición de datos (15), procesador de datos (16).

4.1.2.2. Cuantificación de la concentración de exudados radiculares

4.1.2.2.1. Determinación de carbohidratos y otros compuestos por CCF

Existe una gran variedad de rizodepósitos segregados por las macrófitas al llevar a cabo la fotosíntesis. Aunado a las bajas concentraciones expulsadas, se sugiere aplicar un método para la purificación y preconcentración de muestras, con el fin de obtener una caracterización donde la matriz no interfiera de manera significativa en los análisis. Las concentraciones de exudados en el punto de muestreo 1 determinó la producción de rizodepósitos en la rizósfera. Estos fueron alimentados a la cámara anaerobia por flujo descendente, donde la concentración en el punto de muestreo 2 determinó las cantidades de exudados consumidos por la biopelícula.

El primer paso fue la filtración de muestras con filtros de fibra de vidrio (Whatman) de 120 mm x 1.0 μm . Después, los exudados se preconcentraron (**Figura 4.4a**) en un rotavapor (Buchi®, R-210) a presión reducida en un baño termostatizado a 80°C a 80 rpm. Una vez eliminado el sobrenadante, las muestras se liofilizaron (Heto Dpywinner, DW3) para depurar los rastros de disolvente residual. Para el análisis de exudados por cromatografía en capa fina (CCF) unidimensional ascendente, se utilizaron placas de gel de sílice de fase normal (60F₂₅₄ 10 x 10 cm) en cámara con atmósfera saturada (**Figura 4.4b**). Como fase móvil se utilizó cloroformo: metanol y agua en una proporción de 64:50:10 (v/v/v). El compuesto de 4-hidroxibenzaldehído sirvió como revelador de terpenos, el reactivo dragendorff para alcaloides y el sulfato cérico como revelador universal. El tiempo de desarrollo del cromatograma duró 6 hrs a 18-20°C. Como estándares de referencia del análisis cualitativo se utilizaron agarosa (AGA), glucosa (GLU), sacarosa (SAC), Galactosa (GAL) (Sigma, Aldrich) y fructosa (FRU) (ADM Cornsweet®). Las muestras se diluyeron en metanol al 5%, después un volumen de 10 μL se aplicó en la placa cromatográfica con un capilar de vidrio con diámetro interno de 1 mm. Al finalizar, las placas se visualizaron con luz ultravioleta a una longitud de onda de 254-366 nm y se revelaron por aspersion de los reactivos en un transiluminador.

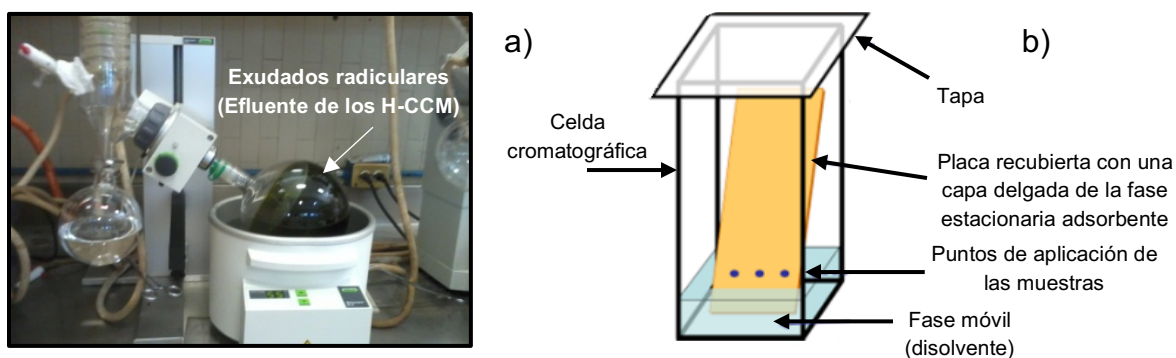


Figura 4.4. a) Preconcentración de las muestras por evapotranspiración. b) Identificación cualitativa de exudados radiculares por CCF.

4.1.2.2.1.1. Análisis de carbohidratos por UHPLC

La cuantificación de carbohidratos presentes en los exudados (GLU, SAC, GAL y FRU) se realizó por cromatografía. Los estándares de azúcares (Sigma, Aldrich) cuentan con una pureza superior a 99.5%. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de ultra alta resolución UHPLC (por sus siglas en inglés: Ultra High Performance Liquid Chromatography) marca Waters Alliance® (modelo 2695) acoplado a un detector de arreglo de fotodiodos (Waters, 2996 PDA) con el software Empower Pro®. Se utilizó una columna C18 Discovery, Sigma-Aldrich (25 cm x 4.6 mm, 5 µm). Los análisis se llevaron a cabo a un flujo de 50 µL/min a 40°C, variando el porcentaje de las fases A (% de agua) y B (% de acetonitrilo) a través del tiempo (**Tabla 4.1**). Los volúmenes inyectados por muestra preconcentrada fueron de 10 µL, previamente diluidos en metanol (50:50 p/v). Los cromatogramas se obtuvieron a una longitud de absorción de 260 λ. El tiempo total de análisis por muestra fue de 30 min. La concentración de cada compuesto se calculó considerando la longitud de onda donde la absorbancia fue prominente: 267, 261, 267 y 260 nm para GLU, SAC, GAL y FRU, con tiempos de retención (T_r) (detección) de 29, 24, 18 y 20 min respectivamente.

Tabla 4.1. Relación de fases móviles a través del tiempo de separación.

Tiempo (min)	% Fase A (vol.)	% Fase B (vol.)
0	100	0
1	100	0
10	100	0
12	70	30
15	70	30
16	50	50
20	50	50
21	30	70
24	30	70
25	0	100
27	0	100
28	100	0
30	100	0

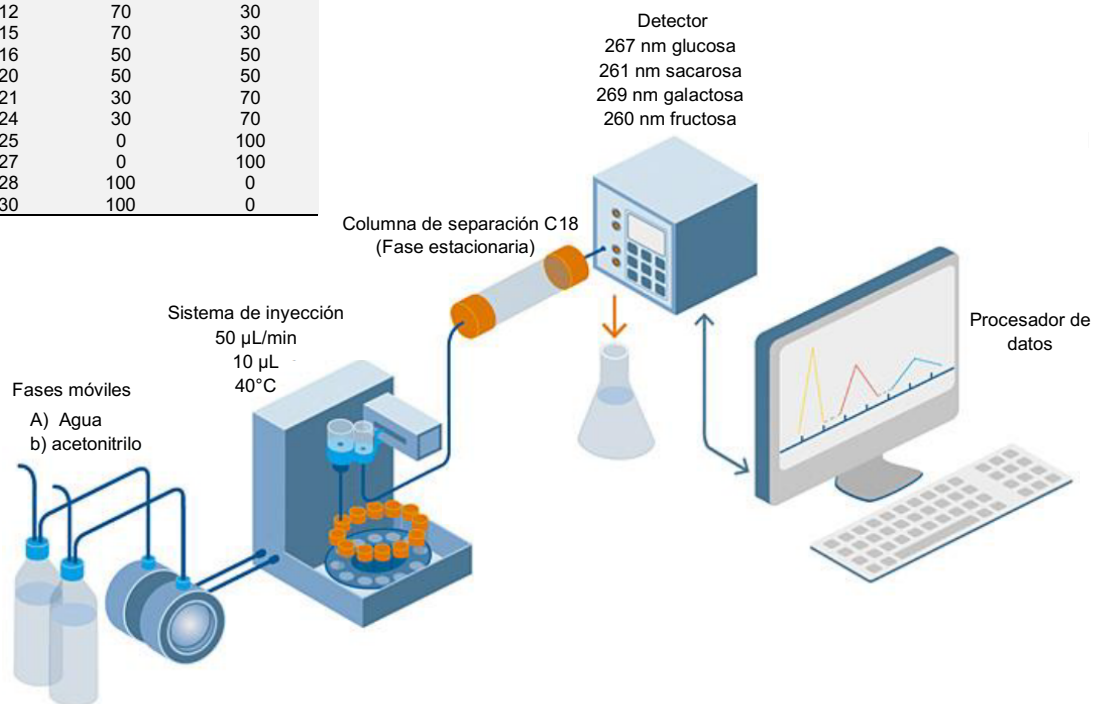


Figura 4.5. Condiciones de operación del UHPLC. Diagrama adaptado de García, (2018).

4.1.2.2.2. Determinación de ácidos orgánicos (AGV)

La medición de la cantidad de AGV se determinó por método de espectrofotometría. Las muestras de exudados fueron tomadas directamente de los puntos de muestreo 1 y 2 de los H-CCM₁ y H-CCM₂. Para la preparación de las muestras, se realizó un proceso de extracción de AGV (**Figura 4.6**). Se tomaron 2 mL con una micropipeta y fueron depositados en tubos de ensayo de 10 mL estériles. Se agregaron 2 mL de HCl (36 M) en proporción 1:1 (v/v) para realizar una lisis celular, esta solución se centrifugó durante 30 min a 3500 rpm en una microcentrífuga Eppendorf™. Se extrajo el sobrenadante y se filtró en papel filtro con un tamaño de poro de 0.4 mm. Una vez extraídos los AGV, se procedió a su cuantificación (**Figura 4.7**), para ello se colocó 0.5 mL por muestra en viales de 25 mL. Se adicionó 1.5 mL de C₂H₆O₂ (etilenglicol) al 100%. Posteriormente se añadieron 0.2 mL de H₂SO₄ (19.2 N) y se mezclaron las soluciones con un vortex (Labnet). Las muestras fueron colocadas en un baño térmico (LabTech®) por 3 min a 80°C. Cuando las muestras se equilibraron a la temperatura del ambiente (~25°C) se les añadió NH₂OH·HCl (clorhidrato de hidroxilamina) a 100 g/L. Después se adicionaron 2 mL de NaOH (4.5 N) y 10 mL de una mezcla de H₂SO₄ - FeCl₃ en proporción 1:5 (v/v). Finalmente se añadieron 10 mL de agua desionizada, las soluciones se mezclaron con agitación manual lenta, esperando un tiempo de reacción de 3 min. Las lecturas se midieron con un espectrofotómetro marca Hach® modelo DR800.

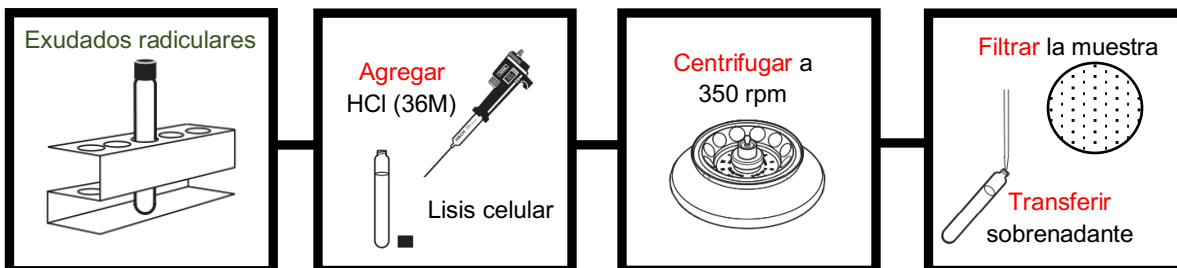


Figura 4.6. Extracción de AGV.

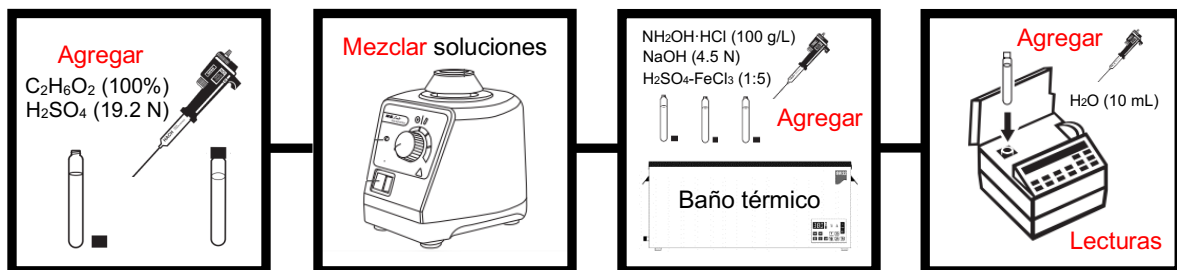


Figura 4.7. Cuantificación de AGV.

4.1.3. Sistema experimental 3

4.1.3.1. Construcción y operación de los H-CCM

Se construyeron cuatro H-CCM empleando la especie *Juncus effusus* de acuerdo a las instrucciones de la sección 4.1.2.1. Con el fin de aumentar la capacidad catalítica de las reacciones de reducción de oxígeno (RRO), se identificó el mecanismo de transferencia de electrones llevado a cabo en la rizósfera. Para ello, se impregnaron nanocatalizadores de G (grafeno)/TiO₂ en el H-CCM₁, G/N (ID-nano S.A. de C.V.) en el H-CCM₂ y C/Pt (Sigma, Aldrich) en el H-CCM₃ sobre los cátodos respectivos. También se construyó un H-CCM₄ de control sin nanocatalizadores depositados.

4.1.3.2. Impregnación de nanocatalizadores

Se aplicó una capa de carbón en polvo (ID-nano S.A. de C.V.) sobre los fieltros de carbón de 25 cm² de tamaño, previamente pretratados con una solución de NaOH (1 N) y HCl (1 N) durante 2 hrs. Se impregnó 1.56 mg de polvo de carbón por cada cm² de área superficial. Posteriormente se adicionó al carbón en polvo 12 µL de una solución de PTFE (FuelCellStore, DISP 30) al 30% por cada mg, disolviendo la mezcla en un baño ultrasónico (Auto Science) durante 1 min. Después se adicionó isopropanol (0.05%) y se agitó de igual manera por 20 segundos. Seguidamente con un aerógrafo (Hobbico Model Maker, SA200P), se roció la mezcla de carbón en polvo-PTFE-isopropanol uniformemente sobre la superficie exterior de los fieltros de carbón. Enseguida se instalaron las mallas de latón/Au. Para secar los electrodos se colocaron sobre una placa de cerámica y fueron calentados a 370°C en una estufa por 30 min. Después con el aerógrafo se aplicó una capa de la solución de PTFE sobre el fieltro previamente revestido con el polvo de carbón (capa de difusión). En este proceso también fueron secados a 370°C por 15 min y enfriados por 10 min a temperatura ambiente. La capa catalítica (nanomateriales) también fue aplicada con el aerógrafo, para ello se disolvió el nanomaterial en agua desionizada, isopropanol y una solución de Nafion (DuPont™) en proporciones de 0.8 (G/TiO₂), 6.6 (G/N) y 3.3 (C/Pt) µL/mg de polvo catalítico. Se impregnó una cantidad de 0.5 mg/cm² (5% en peso de catalizador) de área superficial catódica. Depositados los nanomateriales, los electrodos fueron secados a temperatura ambiente durante 24 hrs. Una vez seca la capa catalítica, finalmente se adicionó una capa de la solución Nafion-isopropanol sin el polvo catalizador sobre el área exterior del fieltro. Los recubrimientos de la capa base, capa de difusión y capa catalítica se realizaron por cuadruplicado, esparciendo los materiales de manera uniforme sobre las superficies del fieltro. Al finalizar cada recubrimiento de las capas catalíticas, los electrodos presentaron un cambio de color a negro brillante. En la **Figura 4.8** se muestran los componentes de los cátodos modificados.

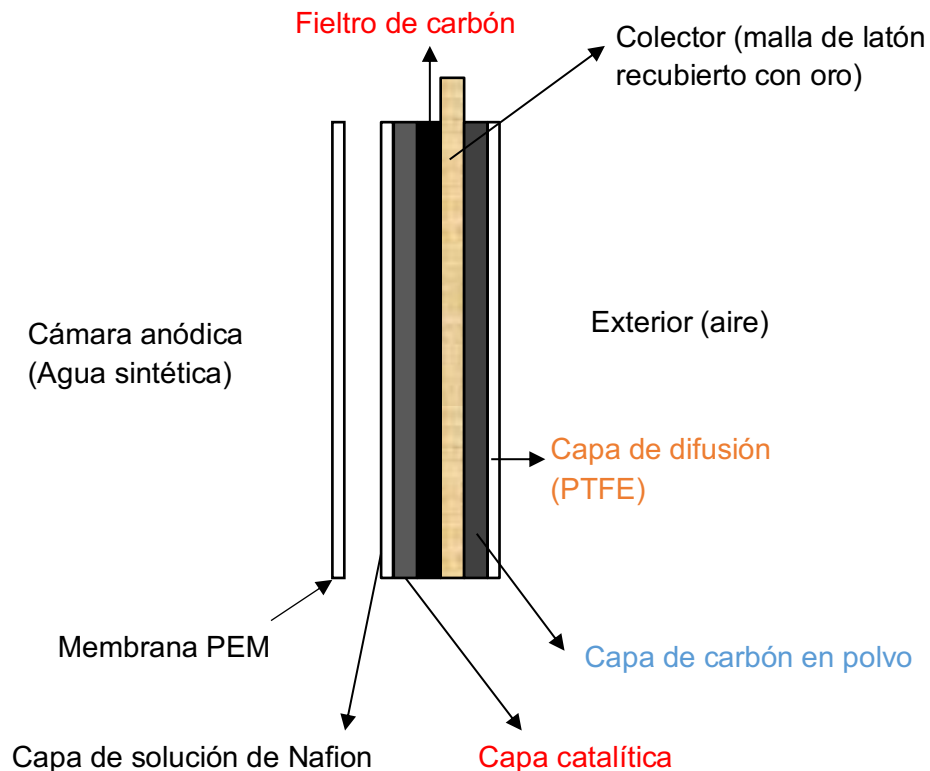


Figura 4.8. Estructura de los cátodos impregnados con nanocatalizadores.

4.1.3.3. Electrodo de disco rotatorio (EDR)

Para obtener la vía electrónica de la catálisis de la RRO, se utilizó un electrodo de disco rotatorio (BASl®, RDE-2). Existen 2 mecanismos para determinar las vías de reducción, dependiendo de los productos intermediarios formados. Los electrones implicados en esta prueba se calcularon a partir de la ecuación de Koutecky Levich (**Ecuación 4.1**).

$$i_{lim} = 0.62nFAD^{0.67}\nu^{-0.167}\omega^{0.5}C^{\circ} \quad (\text{Ec. 4.1})$$

Donde: i_{lim} es la corriente límite, n es la cantidad de electrones transferidos por molécula de oxígeno en el proceso de reducción del oxígeno, F es la constante de Faraday (96485 C/mol), A es el área superficial del electrodo, C° es la solubilidad del oxígeno (mol/cm^3), D representa el coeficiente de difusión (cm^2/s), ν es la viscosidad cinemática (cm^2/s) y ω es la velocidad de rotación del EDR (velocidad angular) en rpm. Esta ecuación determina las vías de reducción de forma experimental y teórica, para así evaluar el mecanismo electrónico de cada nanocatalizador.

En la **Figura 4.9** se muestra el procedimiento experimental. La RRO se evaluó bajo condiciones hidrodinámicas, utilizando el EDR para inducir la convección forzada de los nanodépósitos conectados a un potenciostato/galvanostato (EC Epsilon™). Esta estrategia se aplicó para determinar una i_{lim} de transferencia másica estable que, de otro modo, podría ser complicado de mantener debido a la lenta cinética de la reacción. Las mediciones se llevaron a cabo en configuración de multielectrodos, como electrodo de trabajo se utilizó un disco de carbón vítreo de 0.196 cm^2 de área geométrica con un soporte de teflón (BASi®), como contraelectrodo se utilizó un electrodo de alambre de Pt (BASi®) y como electrodo de referencia se utilizó uno de Ag/AgCl (KCl 3M, pH 7) (BASi®). Los cátodos impregnados con la capa catalítica, fueron cortados a 3 mm de diámetro y colocados junto al electrodo de trabajo. Para adherir ambos electrodos se utilizó una resina conductiva de Plata (Circuit Works®). El procedimiento experimental de barrido lineal hidrodinámico con el EDR se aplicó utilizando el software EpsilonEC-2000, versión 2.13.77. En el disco, se aplicaron diferentes barridos lineales de voltamperometría frente al electrodo de Ag/AgCl con tasas de rotación de 0, 100, 300, 600, 900, 1200 y 1500 rpm. En cada ciclo los potenciales iniciales y finales fueron de 0 y -1500 mV, con una velocidad de escaneo de 10 mV/s y una corriente alterna (AC) de 10 mA. El electrolito empleado fue una solución de H_2SO_4 (0.5 M), previamente saturada con oxígeno durante 15 min.

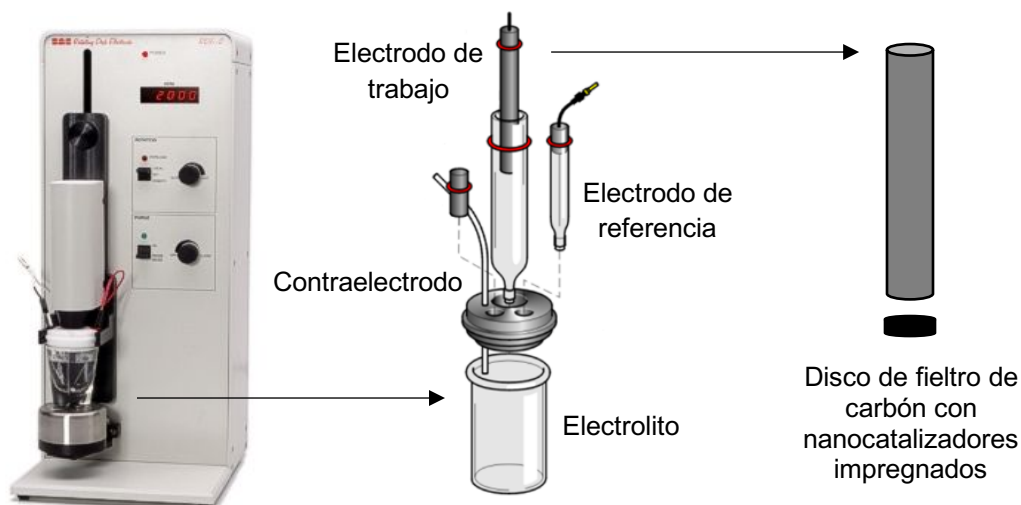


Figura 4.9. Configuración del EDR.

4.1.3.4. Microscopía electrónica de barrido

El análisis de la adhesión de la capa catalítica sobre las fibras del fieltro de carbón, se llevó a cabo con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (MEBEC) marca Hitachi, modelo SU5000. Este servicio fue brindado por el Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CIICAP) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

4.1.3.5. Otras ecuaciones utilizadas para la evaluación de la RRO

Las pruebas con el EDR permiten conocer los parámetros electrocinéticos de la RRO, las mediciones consistieron en trazar curvas de densidad de corriente vs el potencial en función de la frecuencia de rotación. La densidad de corriente total (i) se calculó con la siguiente **Ecuación (4.2)**.

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_d} \quad (\text{Ec. 4.2})$$

Donde: i_d representa la densidad de corriente límite difusional, e i_k es la corriente cinética, es decir, la corriente que corresponde si el proceso solamente estuviera limitado por transferencia de carga en la interfase electrodo-disolución. Por lo tanto, con la ecuación anterior se calcularon los parámetros electrocinéticos, eliminando la contribución por difusión con la **Ecuación 4.3**.

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{B\omega^{1/2}} \quad (\text{Ec. 4.3})$$

Donde: B es la pendiente de Levich; B está relacionada con la corriente difusional por la expresión: $i_d = B\omega^{1/2}$ y está definida como:

$$B = 0.62nFAD^{0.67}v^{-0.167}C^\circ \quad (\text{Ec. 4.4})$$

Conociendo la contribución por corriente difusional, se pueden construir las curvas corriente-potencial, considerando solamente la contribución cinética. A partir de la gráfica de Koutecky-Levich y utilizando la ecuación de Tafel (**Ecuación 4.5**), se evaluaron los parámetros electrocinéticos, tales como: las pendientes de Tafel (b), los coeficientes de transferencia de carga (α), las corrientes de intercambio (i_o) y las densidades de corriente de intercambio (DCi_o).

$$\eta = a + b \log|i| \quad (\text{Ec. 4.5})$$

$$a = \frac{2.303RT}{\alpha F} \log i_o \quad b = \frac{1 - 2.303RT}{\alpha F}$$

Donde η representa el sobrepotencial del electrodo, R es la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta.

4.1.3.6. Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica en los H-CCM, se determinó con el potenciostato Gamry Instruments operado en modo «tres» electrodos. Se llevaron a cabo barridos cíclicos en un rango de potencial de -1.5 a 1.2 V a una velocidad de escaneo de 50 mV/s.

CAPÍTULO 5

5.1. Resultados y discusión

5.1.1. Primera etapa experimental

5.1.1.1. Evaluación de colectores de electrones de Latón/Au en electrodos de fieltro de carbón

Se realizó esta prueba preliminar para determinar la capacidad de adherencia electrónica de las mallas de latón/Au vs electrodos de fieltro de carbón sin colectores de electrones. En la **Figura 5.1** se muestra la producción de voltaje de dos reactores de CCM configurados de la misma forma que un H-CCM, con excepción de que en este caso fueron alimentados con un sustrato de $C_{12}H_{22}O_{11}$ (1 g/L) como fuente de carbón biodegradable para nutrir el consorcio microbiano. El reactor E1 corresponde a un arreglo en el cual el cátodo y el ánodo de fieltro de carbón contienen adherido un colector de electrones (arreglo de Electroodos 1) y el reactor E2 cuenta con un cátodo y un ánodo solo con fieltro de carbón (arreglo de Electroodos 2). La medición de bioelectricidad se realizó a voltaje a circuito abierto (VCA), es decir que el voltaje se produjo bajo una resistencia infinita, donde no existe la presencia de corriente eléctrica por falta de R_{ext} , este parámetro mide las actividades bioelectroquímicas de los reactantes sobre las superficies del ánodo y cátodo.

Durante los primeros 21 días, los voltajes de ambos arreglos de electrodos (E1 y E2) presentaron altas fluctuaciones de bioelectricidad, fue hasta el día 26 cuando la producción se mantuvo pseudoconstante. El patrón de voltaje siempre fue mayor con el reactor que fue operado con colectores de electrones como se observa en la línea roja de la siguiente gráfica. Con el arreglo de electrodos E1, se registró un máximo de 600 mV al vigésimo día de operación, en comparación con el reactor sin colectores, que obtuvo un máximo de 400 mV. Los valores promedio para E1 y E2 fueron de 381 ± 137 y 220 ± 98 mV respectivamente. Se presenció que las mallas de latón/Au aunadas al fieltro de carbón incrementaron la capacidad de adherencia electrónica hasta en un 43%. Los voltajes de ambos reactores no presentaron un comportamiento de decaimiento durante los primeros 19 días, posteriormente se observó una fase de declive bioenergético y se procedió a culminar el experimento.

En dispositivos electroquímicos que son operados bajo resistencias infinitas se ve afectado el potencial anódico, haciéndolo más negativo y se aproxima a los límites termodinámicos teóricos a causa de la oxidación del sustrato. Esto conlleva, a que las bacterias de la cámara anódica ganen mayor energía para formación de biomasa y se registren valores altos de voltajes (Logan et al., 2006). La idea de utilizar una lámina metálica dentro de un material carbonoso es para acelerar la velocidad y

capacidad de transferencia de electrones hacia el circuito externo, formando un fenómeno considerado como catálisis abiótica. Algunos otros materiales metálicos como la plata y el cobre presentan mayores capacidades de conductividad eléctrica ($> 60 \text{ MS/m}$), el oro presente en las mallas de este estudio tiene una conductividad eléctrica de 45 MS/m . La ventaja de utilizar un material de latón/Au, no solo es que permite un mayor flujo de electrones para producir mayores densidades de potencia y corriente, sino que también, cuenta con una alta resistencia a la corrosión. Esta propiedad es requerida en electrodos para estudios bioelectroquímicos, evitando interferencias por reacciones galvánicas, considerando que los H-CCM se operan bajo condiciones ambientales redox.

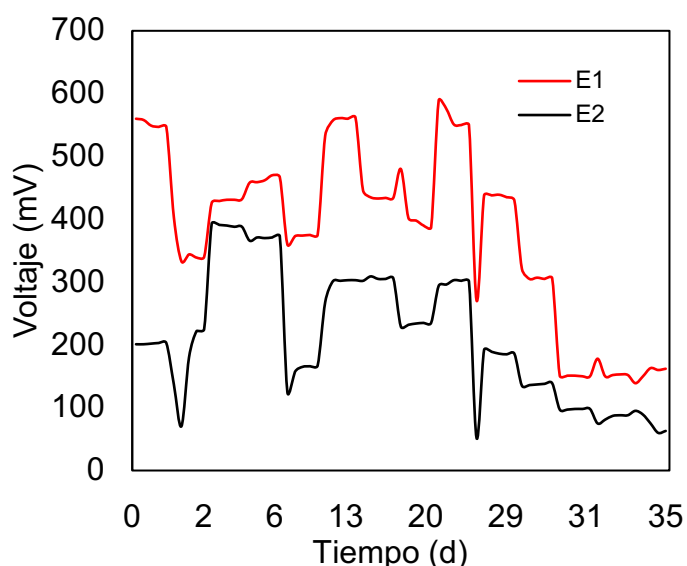


Figura 5.1. Producción de voltaje con/sin colectores de electrones de Latón/Au. Condiciones: 1 g/L de $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, matriz de T_{ez} , electrodos de fieltro de carbón, VCA.

5.1.1.2. Producción de bioelectricidad en H-CCM con distintas especies de macrófitas bajo intensidad de radiación difusa-directa y matriz de «*tezontle*»

5.1.1.2.1. Producción de voltaje

El desempeño bioeléctrico de un H-CCM, se estudia a partir de las mediciones de voltaje a circuito cerrado (VCC) que se realizan con una resistencia en un circuito externo. A través de este parámetro, se deriva una serie de cálculos que describe el rendimiento bioelectroquímico de acuerdo a la ley de Ohm. La **Figura 5.2** muestra la producción de voltaje registrado en tiempo real, lo que corresponde a dos fases experimentales. Cada fase fue monitoreada durante 70 días, en la primera, cada una de las especies de macrófitas fue operada con IRD1, en la segunda con IRD2. Los H-CCM fueron alimentados con la solución modificada de Hoagland, por lo que se considera que la única fuente de sustrato para la biopelícula surgió de las propias macrófitas a causa de la liberación de exudados radiculares.

La medición de voltaje se observó inmediatamente, pero de forma oscilatoria, este comportamiento se atribuye por la exclusión de nutrientes, la descarga de oxígeno a través del aerénquima, la ausencia de bacterias rizosféricas anódicas aclimatadas y por la adaptación a la solución Hoagland (Moqsud et al., 2015). En todos los casos, los mejores rendimientos se registraron durante los primeros 25 días, después de haber sido inoculados. En la fase con IRD1, el máximo voltaje se registró con la especie *Juncus effusus* en el H-CCM₈, reactor que presentó un valor de 270 mV al décimo día de operación. La macrófitas que anteceden sobre la producción máxima de voltaje son *Philodendron cordatum* y *Cyperus papyrus*, correspondientes a los reactores H-CCM₅ y H-CCM₂, mismos que produjeron un máximo de 199 y 123 mV en los días experimentales 15 y 6 respectivamente.

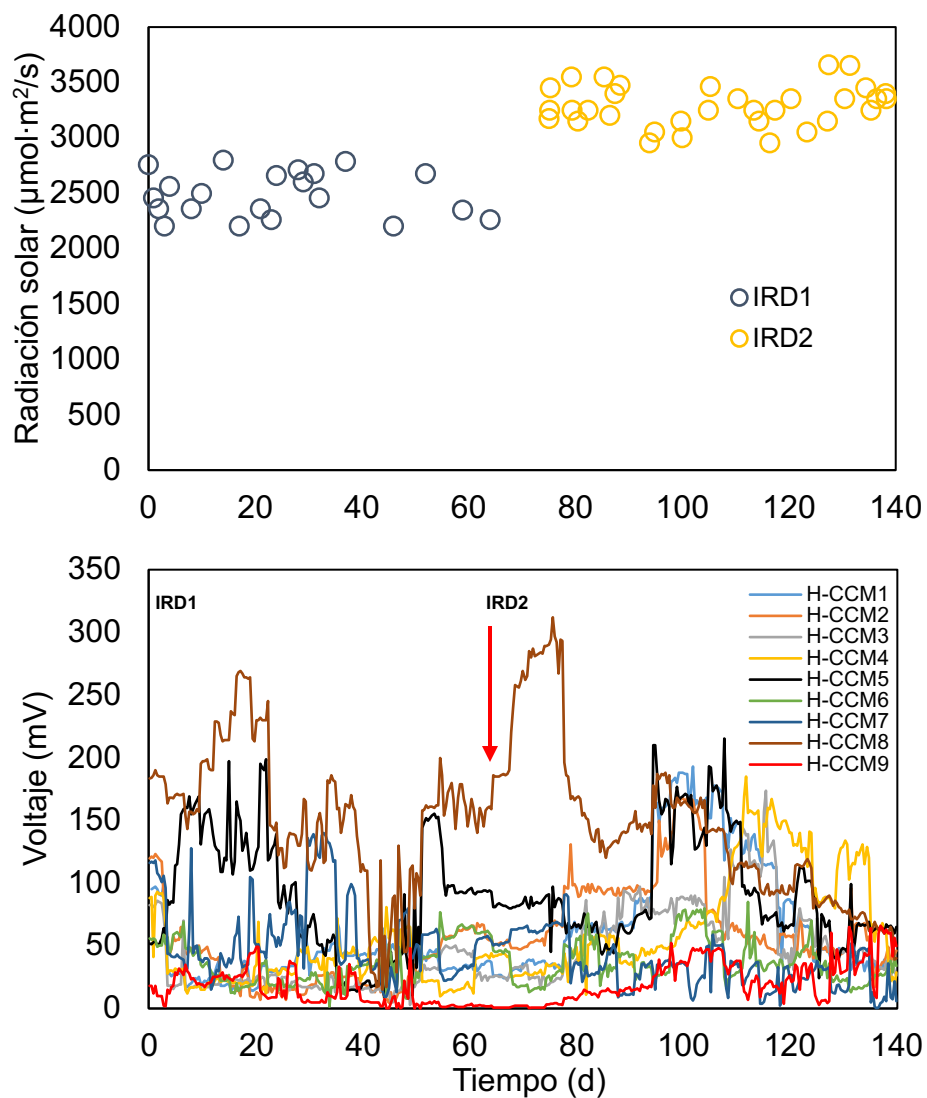


Figura 5.2. Producción de voltaje obtenido del sistema de H-CCM.
Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω y matriz de T_{ez} .

La especie con menor rendimiento fue *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆), quien produjo 69 mV. *Aglaonema commutatum*, *Philodendron cordatum*, *Chrysopogon zizanioides*, *Eichhornia crassipes* y *Juncus effusus* presentaron un voltaje creciente durante los primeros 20 días, debido principalmente por la adherencia instantánea del inóculo sobre la superficie del ánodo y al desarrollo paulatino de la biopelícula por el incremento de la actividad bacteriana, que corresponde a la fase exponencial del crecimiento microbiano (Guadarrama et al., 2019; Estrada et al., 2018). Entre los días 50 y 70 de operación se observó que la producción de voltaje se mantuvo semiconstante. Los tiempos de estabilización varían en cada H-CCM, suceso que dependerá en gran medida de la formación de la biopelícula y su adaptación en el medio en que se desarrolla (Abbas et al., 2019). Durante los últimos 20 días, no se observó una diferencia importante en la oscilación, por ende, se finalizó la operación con IRD1 y se procedió a operar con IRD2. Estabilizados los sistemas con IRD1 entre los días 30-70, los máximos voltajes registrados fueron de 68 (H-CCM₁), 35 (H-CCM₂), 58 (H-CCM₃), 81 (H-CCM₄), 137 (H-CCM₅), 52 (H-CCM₆), 103 (H-CCM₇) y 171 (H-CCM₈) mV respectivamente.

La diferencia entre la producción de bioelectricidad de cada especie de macrófita radica principalmente en la fisiología de las mismas. En la rizósfera se lleva a cabo la síntesis de los compuestos orgánicos en forma de exudados radiculares, es ahí donde el tipo, transporte y liberación de sustratos endógenos será diferente para cada especie, promoviendo diferentes condiciones ambientales en la rizósfera, lo cual conlleva a obtener diferentes rendimientos. La producción de bioelectricidad es una función de la cantidad-calidad de los exudados segregados y de la morfología del sistema radicular, además, el consorcio bacteriano soportado sobre el ánodo se verá afectado por las diferencias en las condiciones rizosféricas. Con relación a lo anterior, el rendimiento será mayor al promover condiciones ambientales favorables en el proceso de rizodeposición (Nitorisavut y Regmi, 2017; Timmers et al., 2012).

Con IRD2, los reactores H-CCM₈ y H-CCM₅ presentaron una importante diferencia de aumento en la producción de bioelectricidad cuando fueron sometidos al cambio de radiación. *Juncus effusus* incrementó su potencial a 315 mV (especie con mayor rendimiento bioeléctroquímico), *Philodendron cordatum*, *Aglaonema commutatum*, *Dranacaena braunni*, *Epipremnum aureum* y *Cyperus papyrus* incrementaron los máximos voltajes a 215, 188, 175, 174 y 188 mV respectivamente. La producción de voltaje con IRD2 fue de 1-2.5 veces mayor en comparación con la obtenida con IRD1. Los reactores H-CCM₁₋₇ mostraron un comportamiento semiconstante entre los días 70-90. Cuando se estabilizó todo el sistema (día 80), los máximos voltajes fueron de 75 (H-CCM₁), 98 (H-CCM₂), 70 (H-CCM₃), 94 (H-CCM₄), 155 (H-CCM₅), 77 (H-CCM₆), 90 (H-CCM₇) y 312 (H-CCM₈) mV respectivamente. A partir del día 90 el voltaje incrementó en todos los casos hasta el día 115, en los últimos 20 días, el

sistema presentó un decaimiento cercano a un 40%, hasta llegar a otra posterior pseudoestabilización. Existen diversas razones por las que la bioelectricidad puede decaer, dentro de las pérdidas óhmicas se incluye a: las resistencias a los flujos de electrones entre electrodos, pérdidas por interferencias entre las interconexiones, resistencias en el electrolito, falta de sustrato o por inhibición de la biopelícula. Con la configuración de este diseño, el área anódica está firmemente unida a la región de la rizósfera para aprovechar el biocombustible derivado de la rizodeposición, evitando pérdidas por sustratos (Oon et al., 2017). Durante la experimentación se registraron valores de radiación de densidad de flujo fotónico fotosintético en un rango de 500-3900 y 500-6300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$ para IRD1 e IRD2, con una iluminación de 12 hrs por día en promedio. La disminución de radiación provocó un decremento en la actividad fotosintética relacionada con la actividad bioelectroquímica de cada H-CCM. Teóricamente la producción de sustrato de la rizodeposición será mayor con IRD2, maximizando la conversión bioquímica de energía solar en bioeléctrica e incrementando la producción de exudados (Yan et al., 2015).

El H-CCM₉ (reactor sin macrófita) solo produjo un máximo de 49 (IRD1) y 63 (IRD2) mV. Estos voltajes representan la conductividad eléctrica contenida en la solución electrolítica, también se debe al diferencial de potencial entre electrodos que actúan como una celda galvánica, otra razón es por el autoconsumo del inóculo bacteriano a causa de la falta de aporte orgánico (Castresana et al., 2019).

5.1.1.2.2. Producción de densidad de potencia

La densidad de potencia (DP) es el resultado de dividir la potencia entre el área del ánodo (Logan et al., 2006) expresado en mW/m^2 , se considera la superficie de este electrodo puesto que ahí ocurren las reacciones biológicas. Este parámetro se ve afectado por varios aspectos del sistema, tales como: la radiación solar, eficiencia fotosintética, asignación de materia orgánica de la macrófita al suelo y la eficiencia de diseño del H-CCM (Pant et al., 2011).

Las **Figuras 5.3 y 5.4** muestran las DP producidas por cada reactor. Se observó que a medida que cambió la intensidad de radiación solar emitida, el voltaje y la DP aumentaron, considerando que incrementó la cantidad de fotones irradiados sobre la superficie de las macrófitas, como consecuencia benefició la rizodeposición. La intensidad de luz afecta la translocación de nutrientes en la rizósfera y la secreción de exudados, una alta exposición aumenta la producción de los mismos. También puede afectar las condiciones de operación, incluida la temperatura; por la cual las actividades de catálisis microbiana se aceleran en la degradación de sustratos. De acuerdo a lo anterior, la intensidad de la luz solar afecta directamente las señales de bioelectricidad en los H-CCM (Regmi et al., 2018^a; Deng et al., 2012; Nitisoravut y Regmi, 2017; De Schamphelaire et al., 2010).

Por otro lado, los microorganismos exoelectrógenos se desarrollaron a medida que se aclimataron, produciendo más bioelectricidad hasta llegar a una producción pseudoconstante. Con ambas intensidades de radiación, *Aglaonema commutatum*, *Philodendron cordatum* y *Juncus effusus* presentaron mejores resultados de DP durante los primeros 30 días. Después ocurrió un decaimiento en el día 45, en ese momento se observó un sistema con poca oscilación. El reactor H-CCM₈ (*Juncus effusus*) presentó un incremento significativo 6 días después de haber sido sometido a IRD2. Las especies *Aglaonema commutatum*, *Cyperus papyrus*, *Philodendron cordatum* y *Eichhornia crassipes* presentaron incrementos entre los días 95-100, solo *Dranacaena braunni* demostró aumento en tiempo posterior (día 110). El resto de los reactores se mantuvieron semiconstantes hasta el día 120, después del día 125, la DP tendió a disminuir en todos los casos.

Con IRD1, al igual que el voltaje la máxima DP se registró en el décimo día, cuyo valor medido fue de 29 mW/m² con la especie *Juncus effusus* (H-CCM₈). Con IRD2 la máxima producción fue de 38.9 mW/m² con la misma macrófita, lo que representa un incremento del 25%. Con *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) se produjo 15.8 y 18.5 mW/m² con IRD1 e IRD2, la cual presentó un aumento del 15%. La mayor diferencia de este parámetro se observó con las especies *Aglaonema commutatum* (1.9 vs 2.8 mW/m²), *Cyperus papyrus* (6 vs 11.2 mW/m²), *Epipremnum aureum* (2.9 vs 12 mW/m²), *Dranacaena braunni* (3.4 vs 12.2 mW/m²), *Chrysopogon zizanioides* (3.9 vs 14.1 mW/m²) y *Eichhornia crassipes* (3.3 vs 7.8 mW/m²), donde los valores aumentaron en un 32 (H-CCM₁), 46 (H-CCM₂), 75 (H-CCM₃), 72 (H-CCM₄), 74 (H-CCM₆) y 57 (H-CCM₇) % respectivamente. El H-CCM₉ solo produjo 0.9 y 1.6 mW/m² en ambos escenarios de radiación.

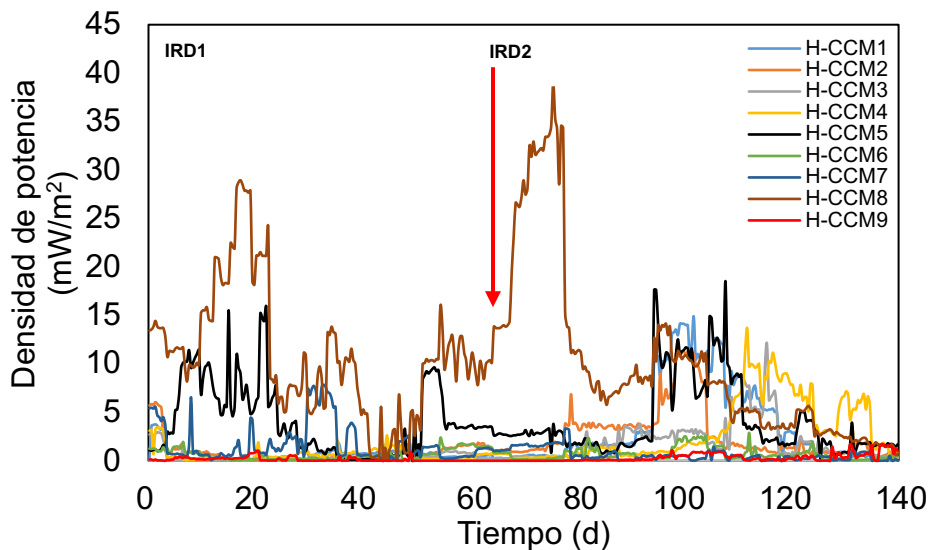


Figura 5.3. Densidad de potencia obtenida del sistema de H-CCM. Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω y matriz de T_{ez}.

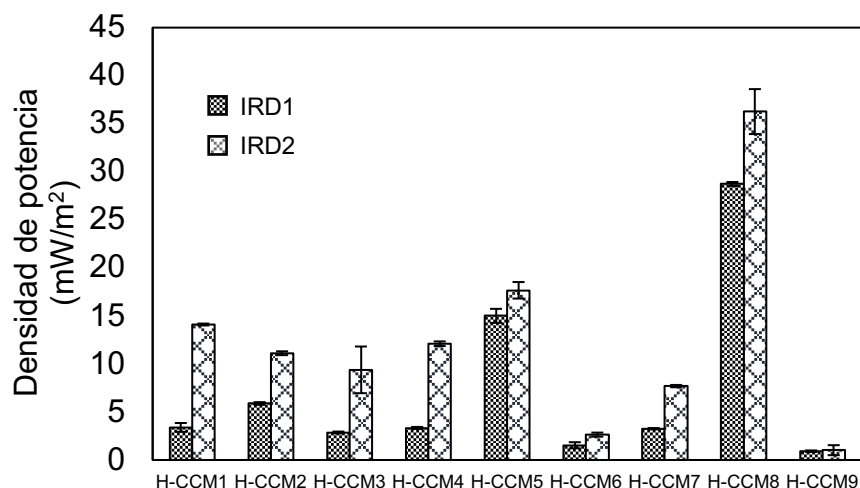


Figura 5.4. Máximas densidades de potencia obtenidas del sistema de H-CCM. Las barras de error representan las desviaciones estándar.

La caída de tensión de DP puede atribuirse a una serie de procesos químicos y biológicos, entre ellos: una fase de decaimiento de bacterias electroactivas o por una sobreproducción de bacterias no conductoras que afectan la transferencia de electrones, el aporte de sustrato (considerando que cada especie aporta diferentes tipos y cantidades de exudados), además de la capacidad de las bacterias de oxidar los rizodepósitos. Otro factor que puede afectar el rendimiento, es la colocación de los electrodos, en especial del ánodo. Algunas macrófitas oxigenan la rizósfera para la desintoxicación de fitotoxinas, inhibiendo parte de la biopelícula exoelectrogénica que se refleja en el decaimiento de DP (Khudzari, 2018).

En los estudios de Nitisoravut y Regmi (2017) y Kumar et al. (2018) describieron previamente una tendencia similar en el comportamiento del voltaje y DP, explicaron que las macrófitas proporcionan continuamente un aporte de materia orgánica al suelo a lo largo de su vida vegetal. Se infiere que la bioelectricidad de salida está relacionada con las etapas de crecimiento, donde se liberan diferentes cantidades de exudados radiculares. En la madurez vegetal la deposición de exudados tiende a disminuir, razón por la cual también disminuye el voltaje. En el estudio de Moqsud et al. (2015) presentaron una tendencia igual al inicio de la operación de una serie de 6 H-CCM con la especie *Oryza sativa*, el voltaje aumentó gradualmente durante los primeros 16 días, después de haber producido el máximo voltaje, los dispositivos comenzaron a disminuir hasta estabilizarse. Tapia et al. (2018) y Borker et al. (2018) obtuvieron producciones de 0.1 y 4.6 mW/m² respectivamente, dichos autores utilizaron agua telúrica, lo que significa que solo utilizaron sustratos fotosintéticos. Es importante notar que en el presente trabajo se obtuvieron altos valores de DP en comparación con los autores mencionados, incluso cuando se operó con IRD1.

La validez de los resultados experimentales se confirmó por medio de un análisis estadístico de varianzas múltiples (prueba ANOVA-Kruskal-Wallis), comparando los resultados promedio de DP de cada especie de macrófita evaluada (**Figura 5.5**). Se consideraron las distintas especies como el tratamiento de estudio estadístico, los resultados demostraron que existen diferencias significativas entre los diferentes grupos. El mejor rendimiento bioelectroquímico se obtuvo con la especie *Juncus effusus* (10.94 ± 2.32 mW/m² con IRD1 y 12.01 ± 3.33 mW/m² con IRD2) en ambas intensidades de radiación. Cuando se usa un nivel de significancia del 5%, la prueba es considerada significativa si el valor-P es menor a 0.05 (Cho y Zoh, 2007). De los valores-P que se presentan en la **Tabla 5.1**, se puede confirmar la significancia (valor-P <0.0001 para todos ellos). Los resultados fueron analizados con el software estadístico GraphPAAd Prism®.

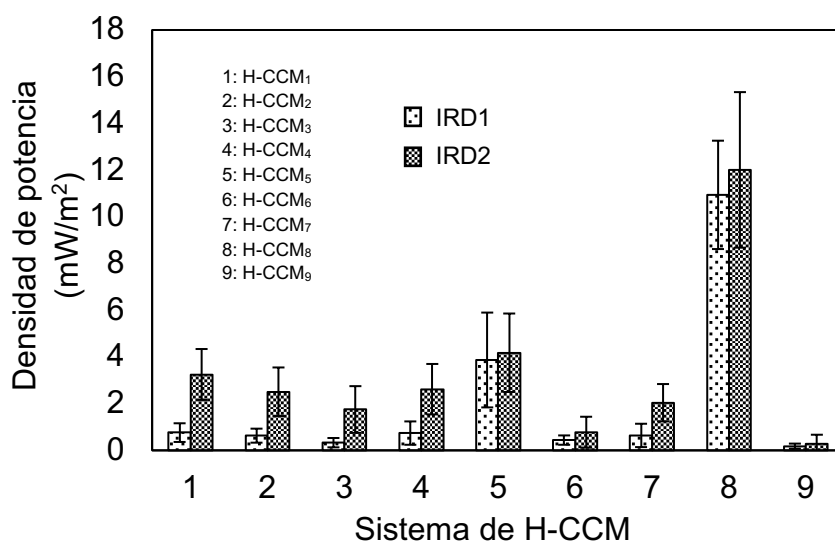


Figura 5.5. Análisis estadístico de varianzas múltiples de DP.

Tabla 5.1. ANOVA de rendimiento bioelectroquímico en términos de DP.

Reactor	Especie de macrófita	Densidad de potencia promedio (mW/m ²)		Valor-P	Significancia
		IRD1	IRD2		
H-CCM ₁	a) <i>Aglaonema commutatum</i>	0.76 ± 0.41	3.25 ± 1.09	<0.0001	a≠e,h
H-CCM ₂	b) <i>Cyperus papyrus</i>	0.63 ± 0.34	2.51 ± 1.04	<0.0001	b≠e,h
H-CCM ₃	c) <i>Epipremnum aureum</i>	0.33 ± 0.28	1.75 ± 0.99	<0.0001	c≠e,h
H-CCM ₄	d) <i>Dranacaena braunni</i>	0.74 ± 0.55	2.62 ± 1.08	<0.0001	d≠e,h
H-CCM ₅	e) <i>Philodendron cordatum</i>	3.87 ± 2.03	4.18 ± 1.68	<0.0001	e≠a,b,c,d,f,g,h,i
H-CCM ₆	f) <i>Chrysopogon zizanioides</i>	0.44 ± 0.20	0.78 ± 0.66	<0.0001	f≠e,h
H-CCM ₇	g) <i>Eichhornia crassipes</i>	0.64 ± 0.52	2.04 ± 0.68	<0.0001	g≠e,h
H-CCM ₈	h) <i>Juncus effusus</i>	10.94 ± 2.32	12.01 ± 3.33	<0.0001	h≠a,b,c,d,e,f,g,i
H-CCM ₉	i) Reactor control	0.18 ± 0.11	0.28 ± 0.39	<0.0001	i≠a,b,c,d,e,f,g,h

Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω y matriz de T_{ez}.

5.1.1.2.3. Producción de bioelectricidad durante fase diurna y nocturna

Los H-CCM producen bioelectricidad in situ durante el día, sin embargo, el rendimiento de voltaje y DP disminuyen al anochecer por la ausencia de luz solar necesaria para la fotosíntesis. Para validar esta afirmación, se evaluó el rendimiento determinando su dependencia hacia la luminosidad. En la **Figura 5.6** se muestra el comportamiento de la producción de voltaje con presencia y ausencia de radiación para IRD1 e IRD2, estas pruebas se realizaron en los días 30 y 80 de operación, cuando los voltajes se habían estabilizado. Las corridas iniciaron a las 9 hrs, tiempo en que empezó los registros de emisión, al comienzo del día se obtuvieron valores de $\sim 2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$, posteriormente se presentó un incremento significativo durante las primeras 3 hrs (9:00-12:00 hrs). En las siguientes 2 hrs, la intensidad se mantuvo constante (12:00-14:00 hrs), en las posteriores 5 hrs (14:00-19:00 hrs) se observó un declive hasta llegar a luz nula ($0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$). En las próximas 12 hrs no hubo presencia de radiación (19:00-7:00 hrs). Las pruebas con IRD1 e IRD2 presentaron un comportamiento similar, en ambos casos la máxima fase luminosa se presentó alrededor de las 12:30 hrs. Se registraron valores de radiación solar dentro de un rango de $500\text{-}6300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$, iluminando durante 12 hrs por día. Generalmente la radiación se expresa con unidades de W/m^2 , para evaluar la eficiencia fotosintética en forma de foto-radiación activa (FRA) se utilizó el siguiente factor de conversión: $1 \text{ W}/\text{m}^2 = 4.57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$.

Con ambas intensidades de radiación en la fase luminosa (9:00-21:00 hrs), el voltaje se mantuvo pseudoconstante en todos los H-CCM. Al llegar la fase nocturna (21:00-9:00 hrs) se presencié una disminución con las especies: *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), *Philodendron cordatum* (H-CCM₅), *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆), *Eichhornia crassipes* (H-CCM₇) y *Juncus effusus* (H-CCM₈) entre las 20:00-22:00 hrs, atribuido a la fotosíntesis nocturna, donde la fijación del carbono se realiza de forma incompleta, quiere decir que la exudación se lleva a cabo en ambas fases fotosintéticas. Al volver a estar en contacto con luz solar directa, el voltaje aumentó y retornó a su comportamiento natural. El voltaje en el reactor de control (H-CCM₉) se mantuvo pseudoconstante, no se observó un efecto con el cambio de recepción de luz. La oscilación de voltajes demostró una correlación con la fluctuación de intensidad de radiación, esto sugiere que la entrega de exudados hacia la rizósfera es inmediata, con una digestión orgánica simultánea, además de las diferencias entre las comunidades microbianas. Esto significa que la intensidad luminosa, no es el único factor limitante, la fisiología de cada especie y las bacterias también afectan el rendimiento. Este proceso asemeja a los sistemas electroquímicos que utilizan microorganismos fotosintéticos para generar bioelectricidad, en los cuales la potencia se produce a altos niveles de luz (Moqsud et al., 2015; Bombelli et al., 2016; Regmi et al., 2018^a; Wang et al., 2013^a).

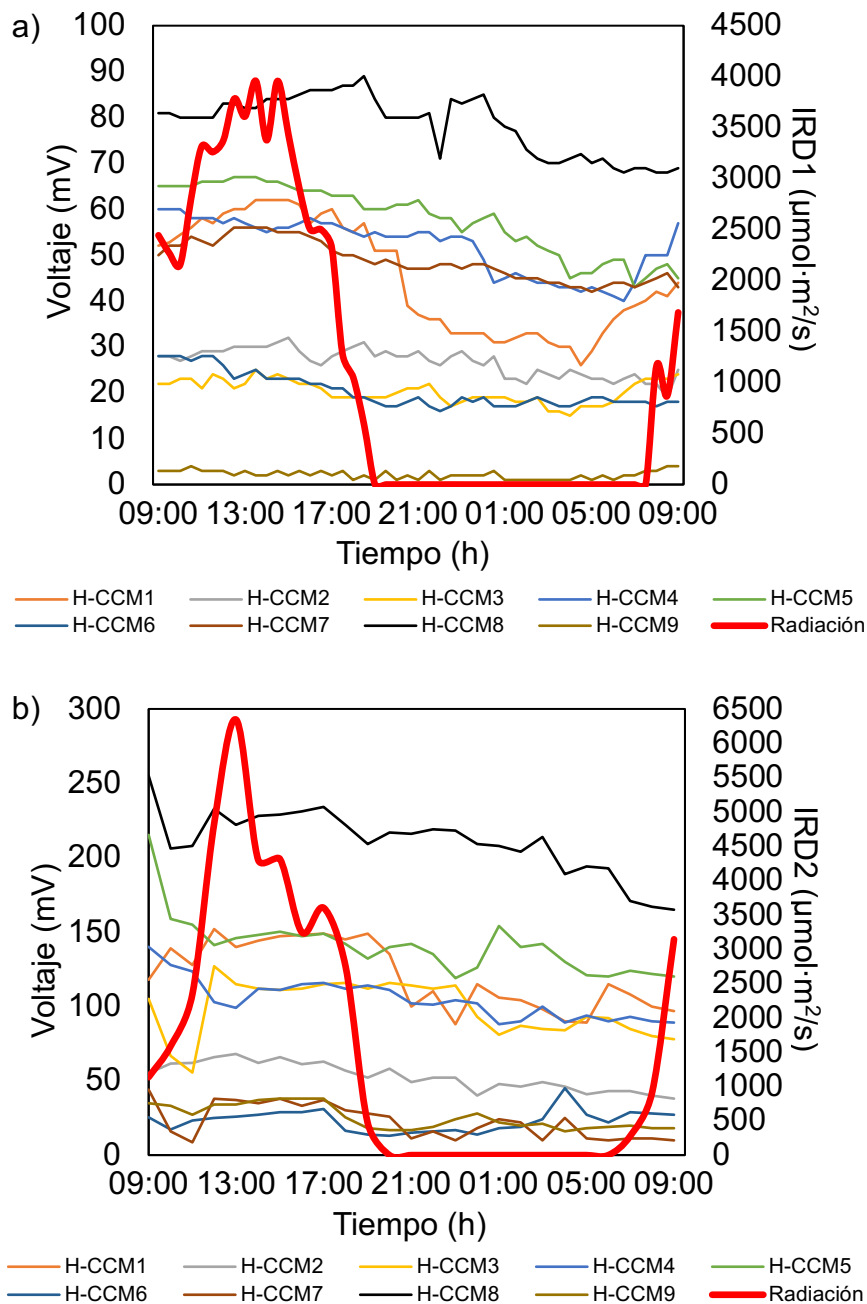


Figura 5.6. Monitoreo de voltaje en fase diurna y nocturna con IRD1 (a) e IRD2 (b). Condiciones: Solución Hoagland, VCC con R_{ex} de 1000Ω y matriz de T_{ez} .

Con *Cyperus papyrus* (H-CCM₂), *Epipremnum aureum* (H-CCM₃) y *Dranacaena braunii* (H-CCM₄) el voltaje no se vio afectado por el cambio de fase, lo que indica que la cantidad de exudados producidos se mantuvo constante a lo largo del día. Castresana et al. (2019) explicaron que la degradación de materia orgánica por bacterias exoelectrógenas en el ánodo es el proceso principal involucrado en las

oscilaciones de voltaje con presencia y ausencia de luz. Como consecuencia, las fluctuaciones del voltaje de salida dependen también de la variación y disponibilidad del biocombustible generado por la actividad fotosintética (Moqsud et al., 2015). Estas diferencias pueden estar vinculadas a una serie de eventos, comenzando con: la síntesis de compuestos orgánicos, el transporte de estos compuestos a través del sistema vascular de las macrófitas, la rapidez de exudación en la rizósfera (Bais et al., 2006), la difusión de exudados a través del suelo, la absorción y consumo de sustratos orgánicos por bacterias exoelectrogénicas (Strik et al., 2011; Regmi et al., 2018^{a,b}), la entrega de electrones al ánodo (Logan et al. 2006), la temperatura (Deng et al., 2012) y la madurez vegetativa. En cada especie de macrófita estos procesos son dinámicos y se desarrollan a velocidades diferentes, la actividad fotosintética aumenta durante el día y como tal, la deposición de materia orgánica en la rizósfera. Las macrófitas aumentan la disponibilidad de superficie para el aporte de sustrato hacia la biopelícula (Rusyn y Hamkalo, 2018), por tal razón se observó que la luz solar es causante de fluctuaciones en el voltaje al afectar la síntesis de sustratos (Villasenor et al., 2013). De modo que, el rendimiento puede estar vinculado a una variedad de procesos que dependen de las diferencias fisiológicas y metabólicas de las macrófitas (Regmi et al., 2018^b).

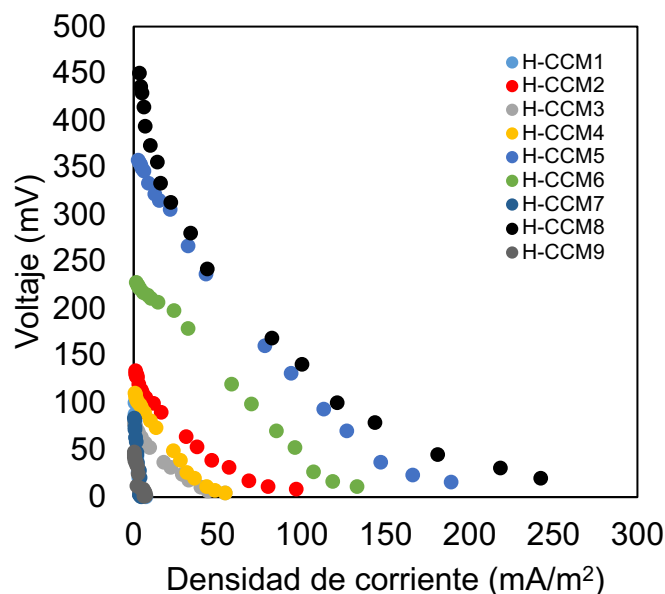
Jawre et al. (2019) evaluaron la producción de bioelectricidad diurna y nocturna de la especie *Cynodon dactylon*, reportaron una producción máxima de 0.62 V con alta intensidad de radiación y 0.33 V bajo condiciones de sombra, ambos valores fueron registrados en el día 15 de operación. Liu et al. (2019^a) evaluaron la producción de bioelectricidad con las especies *Canna sp* y *Aorus calamus* durante 24 hrs. Después de que el sistema tuviera poca oscilación, el voltaje de salida fue constante entre las 08:00-12:00 hrs. Se estabilizó en 628 mV de 12:00-14:00 hrs, posteriormente cayó a 285 mV entre las 14:00-20:00 hrs, atribuyeron que la caída de voltaje fue por la disminución en la actividad fotosintética nocturna.

5.1.1.2.4. Curvas de polarización

En las **Figuras 5.7** y **5.8** se muestran las curvas de polarización obtenidas en el experimento. Se utiliza una curva de polarización para caracterizar la corriente como una función de la tensión eléctrica, esta prueba muestra el comportamiento de voltaje y DP en función de la producción de corriente variando la R_{ext} con diferentes ohmeajes. Las pruebas se realizaron al término de operación de cada fase experimental, es decir, en los días 71 y 141 para IRD1 e IRD2 respectivamente. Las técnicas electroquímicas son herramientas para el análisis y la caracterización de sistemas de celdas de combustible, aquí se puede observar la descripción de los puntos máximos y mínimos de DP. Los resultados mostraron tendencias similares para todos los H-CCM evaluados, dentro de las curvas, las DP presentaron una

tendencia ascendente con la disminución de los valores de la R_{ext} hasta alcanzar el valor máximo. Después de eso, las DP comenzaron a disminuir al incrementar las densidades de corriente (DC). En las pruebas se obtuvieron resultados altos de DP con valores altos de R_{ext} , lo que indica el comportamiento típico de las celdas de combustible. Los valores de las resistencias utilizadas fueron de 0.03, 0.05, 0.10, 0.22, 0.33, 0.56, 0.82, 2.2, 3.3, 5.6, 8.2, 10, 15, 22, 27, 33, 39 y 50 $K\Omega$. Respecto a los resultados obtenidos con IRD1, como era de esperarse la máxima DP se registró con la especie *Juncus effusus* (H-CCM₈), donde se obtuvo un máximo de 14.12 mW/m^2 con una DC de 100.42 mA/m^2 con la R_{ext} de 560 Ω . *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) produjo una máxima DP de 12.55 mW/m^2 y una DC de 78.24 mA/m^2 con una R_{ext} de 820 Ω . Las especies que anteceden en la producción de bioelectricidad son: *Cyperus papyrus*, *Epipremnum aureum*, *Dranacaena braunni*, *Chrysopogon zizanioides* y *Eichhornia crassipes* quienes produjeron 1.99, 0.70, 1.17, 7.02 y 0.09 mW/m^2 de DP y 31.21, 29.21, 23,90, 58.23, 3.40 mA/m^2 de DC respectivamente. En la mayoría de los casos las máximas DP se registraron con resistencias de 220-820 Ω , este resultado está de acuerdo con el hecho de que la DP máxima se alcanza cuando la resistencia interna (R_{int}) es igual a la R_{ext} en términos termodinámicos.

El reactor con menor rendimiento fue con la especie *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), el cual produjo 0.10 mW/m^2 y 2.76 mA/m^2 , el H-CCM₉ de control solo produjo 0.02 mW/m^2 y 2.14 mA/m^2 . Al finalizar la cinética se registraron valores de VCA de 126 (H-CCM₁), 136 (H-CCM₂), 101 (H-CCM₃), 124 (H-CCM₄), 395 (H-CCM₅), 260 (H-CCM₆), 100 (H-CCM₇), 584 (H-CCM₈) y 52 (H-CCM₉) mV respectivamente. Los voltajes se mantuvieron constantes durante todo el transcurso de las pruebas, con desviaciones estándar (σ) de ± 5 mV por registro de R_{ext} en todos los casos.



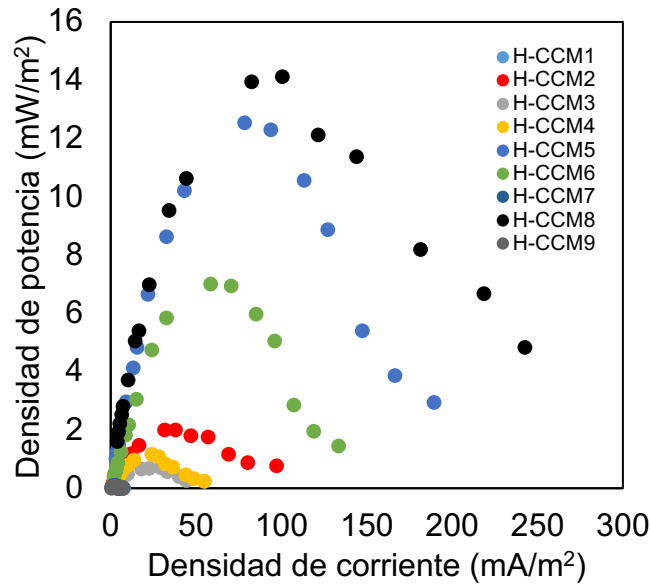


Figura 5.7. Curvas de polarización obtenidas del sistema de H-CCM con IRD1. Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, VCC con R_{ext} de 30-50000 Ω y matriz de T_{ez} .

En la **Figura 5.8** se muestran las curvas de polarización obtenidas con los reactores operados con IRD2. Al igual que en el caso anterior, las curvas con mayores DP y DC fueron producidas por las macrófitas *Juncus effusus* (H-CCM₈) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₅), quienes presentaron valores de 21.60 y 14.40 mW/m² de DP con DC de 198.18 y 161.81 mA/m² con la R_{ext} de 220 Ω respectivamente. La especie *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆) presentó mayores voltajes en comparación con las fases de operación con la R_{ext} de 1000 Ω , la máxima DP y DC fueron de 9.68 mW/m² y 132.72 mA/m² (220 Ω). *Epipremnum aureum* (H-CCM₃) fue la especie con menor rendimiento bioelectroquímico, quien tan solo produjo 1.32 mW/m² y 49.09 mA/m² (220 Ω) de DP y DC. El reactor control (H-CCM₉) produjo 0.88 mW/m² y 32.72 mA/m² (330 Ω). Los resultados de VCA fueron de 186 (H-CCM₁), 154 (H-CCM₂), 141 (H-CCM₃), 178 (H-CCM₄), 488 (H-CCM₅), 291 (H-CCM₆), 147 (H-CCM₇), 630 (H-CCM₈) y 62 (H-CCM₉) mV respectivamente.

En el estudio de Castresana et al. (2019) obtuvieron una máxima DP de 2.5 mW/m² mediante el trazo de las curvas de polarización, siendo que utilizaron los exudados radiculares de *Pleurocapous* como sustrato. Tapia et al. (2018) reportaron una DP de 114 μ W/m² con la R_{ext} de 2 K Ω , donde evaluaron la generación de bioelectricidad de un H-CCM que contenía las macrófitas *S. kamschaticum*, *S. rupestre*, *S. album*, *S. hybridum*, *S. spurium*, *S. sexangulare* y *S. reflexum*, también utilizaron exudados como sustrato. Borker et al. (2018) obtuvieron 4.6 mW/m² (R_{ext} de 1.5 K Ω) con la especie *Setaria faveri*. Son pocos los estudios que utilizan los exudados radiculares directamente para la obtención de bioelectricidad, por lo que se recomienda utilizar solo los sustratos endógenos para determinar la capacidad bioelectroquímica de muchas otras especies de macrófitas (Nitisoravut y Regmi, 2017; Deng et al., 2012).

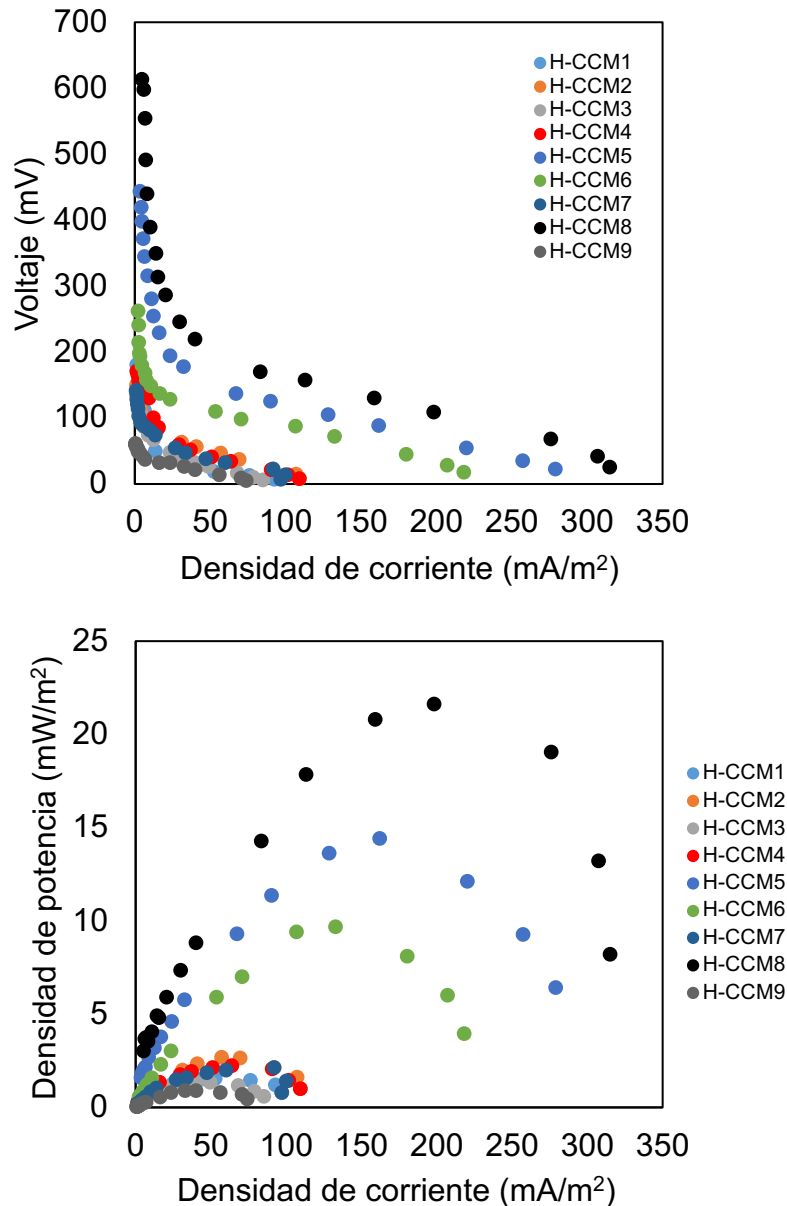


Figura 5.8. Curvas de polarización obtenidas del sistema de H-CCM con IRD2.
Condiciones: Solución Hoagland, IRD2, VCC con R_{ex} de 30-50000 Ω y matriz de T_{ez} .

La evaluación de una curva de polarización determina pérdidas óhmicas, incluyendo la resistencia al flujo de electrones en el circuito externo, resistencia al flujo iónico a través de una membrana de intercambio protónico y la resistencia en los electrolitos anódicos y catódicos. Estas pérdidas se pueden reducir minimizando los espacios interelectrodos, usando una membrana PEM con diminuta resistividad, verificando a profundidad todos los contactos de interconexión en los circuitos y aumentando la conductividad de la solución al máximo nivel tolerado por bacterias y macrofitas. Otro tipo de pérdidas óhmicas son por activación, se refiere a la energía necesaria para llevar a cabo una reacción de redox. La polarización por activación se produce

durante la transferencia de electrones hacia un compuesto que reacciona en la superficie del electrodo anódico o catódico, este compuesto puede estar presente en la superficie bacteriana, como un mediador en la solución o como el aceptor final de electrones que reacciona en el cátodo. Las pérdidas de activación a menudo muestran un fuerte aumento a bajas corrientes y aumentan constantemente cuando aumenta la DC. Se pueden lograr bajas pérdidas de activación aumentando el área superficial de los electrodos, mejorando la catálisis biótica y abiótica, aumentando la temperatura de operación y mediante la adición de una biopelícula enriquecida en el ánodo. Otro tipo de pérdidas óhmicas se deben por el metabolismo microbiano, se refiere a las bacterias que transportan electrones desde un sustrato hacia un potencial a través de la cadena transportadora de electrones hasta el receptor final. El ánodo es el aceptor final de electrones y su potencial determina la ganancia de energía para las bacterias, cuanto mayor sea la diferencia entre potencial redox del sustrato y el potencial del ánodo, mayor será la ganancia de energía metabólica posible para las bacterias, pero menor será el voltaje. Por lo tanto, para maximizar el voltaje, el potencial anódico debe mantenerse lo más negativo posible y lo más positivo en el caso del cátodo (Khudzari, 2018). Otro tipo de pérdidas óhmicas son por concentración, producidas cuando la velocidad de transporte másico de una especie hacia un electrodo se ve limitada. Estas se atribuyen principalmente a altas DC debido a la transferencia de masa limitada de especies químicas por difusión a la superficie del electrodo. En el ánodo, las pérdidas son causadas por una descarga limitada de especies oxidadas desde la superficie del electrodo o un suministro limitado de especies reducidas hacia el electrodo. Esto aumenta la relación entre las especies oxidadas y reducidas sobre las superficies de los electrodos, lo que puede producir un aumento en el potencial. En el lado del cátodo puede ocurrir lo contrario, causando una caída de potencial (Watson y Logan, 2011).

Las curvas de polarización generalmente se pueden dividir en tres regiones. En la región 1: a altos voltajes existe una caída del potencial con la DC, en esta zona el mecanismo dominante son las pérdidas por activación, debido a la velocidad limitada de las reacciones electroquímicas. En la región 2: a valores intermedios donde la caída de voltaje con la intensidad de corriente es menor, las pérdidas son debidas a las resistencias óhmicas. Por último, en la región 3: a altas DC se produce una caída brusca del potencial con la DP, en este caso las pérdidas son atribuidas a la falta de reactivos que alcancen los centros activos del electrocatalizador en los electrodos. Una caída repentina de voltaje en esta región de la curva también puede atribuirse a las limitaciones en las transferencias másicas. La polarización por concentración ocurre cuando un reactivo es consumido sobre la superficie de un electrodo en las reacciones electroquímicas concurrentes, consecuentemente ocurre un gradiente de concentración (García-Villarrubia, 2015; Logan et al., 2006).

5.1.1.2.4.1. Pérdidas óhmicas

Las mediciones de impedancia electroquímica (EIS) se realizaron para determinar las R_{int} del sistema de H-CCM. Las mediciones de EIS se obtuvieron en modo VCA de los electrodos respectivos, los electrodos de trabajo (ánodo) y contraelectrodo (cátodo) se conectaron en método potenciostático. La medición de la impedancia es importante para un H-CCM heterogéneo, dado que la interfaz electroquímica es altamente compleja (Sophia y Sreeja, 2017), las actividades microbianas se esperan muy cercanas del electrodo, lo que hace que la reacción electroquímica sea aún más compleja. Este método investiga la dinámica de las cargas móviles en la región global del electrodo o interfacial de dicho sistema, una superficie de un electrodo con un revestimiento liso o poroso sin daños, generalmente tiene alta impedancia.

El circuito equivalente para una superficie metálica no dañada consiste en una resistencia en serie con una capacitancia simple, la cual se denomina como un recubrimiento puramente capacitivo. El diagrama de Nyquist correspondiente para un electrodo polarizado, idealmente tiene una intersección vertical recta con el eje Z' y la intersección X representa las R_{int} , mismas que fueron obtenidas a partir de las gráficas de Nyquist (**Figura 5.9**), donde la intersección de la curva con el eje $-Z''$ se define como la resistencia o pérdida óhmica (Ω). La **Tabla 5.2** presenta las R_{int} individuales que los sistemas obtuvieron en cada fase experimental. Estos valores representan las lecturas obtenidas del potenciostato/galvanostato mediante el trazo de los espectrogramas en el diagrama de Nyquist, comparando los reactores que fueron operados con condiciones similares excepto por la especie de macrofita.

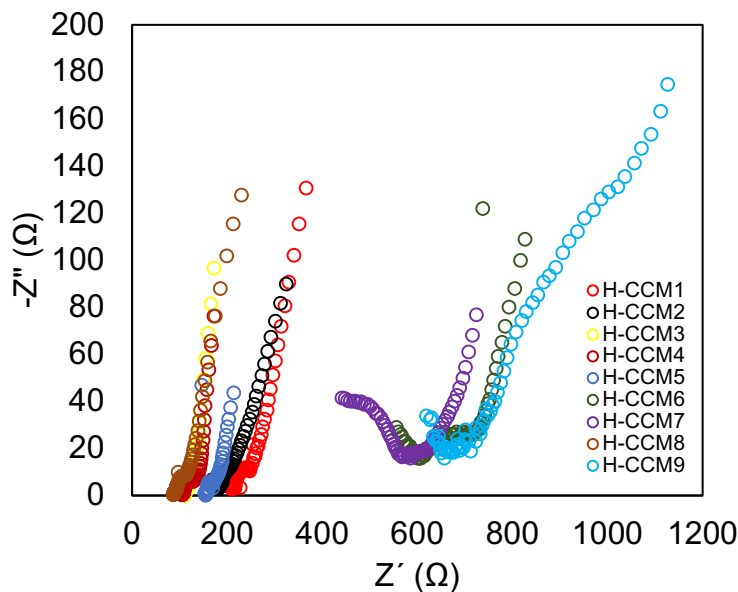


Figura 5.9. Diagrama de Nyquist.

Tanto con IRD1 e IRD2, las especies: *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), *Cyperus papyrus* (H-CCM₂), *Dranacaena braunni* (H-CCM₄) y *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆) presentaron mayores pérdidas óhmicas. Estas resistencias reflejan muchas semirreacciones secundarias no deseadas, que ocurren en los materiales, en el flujo iónico, en distancias prolongadas entre electrodos, en gradientes de concentración y en las tasas de biodegradación de sustratos. Simplemente son electrones que no se disponen sobre el circuito externo, considerándose una R_{int} (Logan et al., 2006).

En el caso contrario: *Epipremnum aureum* (H-CCM₃), *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) y *Eichhornia crassipes* (H-CCM₇) presentaron menores pérdidas, pero fue *Juncus effusus* (H-CCM₈) quien registró pérdidas inferiores a todas las macrófitas ($44.8 \pm 2.8 \Omega$), considerando que esta especie obtuvo mayor DP. Esta prueba reveló que existe una dependencia del rendimiento bioelectroquímico en las actividades de los electrodos presentes en la rizósfera (Castresana et al., 2019). Cuando los reactores operaron con IRD2, las R_{int} incrementaron, consecuencia del aumento de bioelectricidad en DP y DC. Kaku et al. (2008) explica que la elevación o disminución en la R_{int} está asociada directamente con la actividad de bacterias electrogénicas. Esto se relaciona con los resultados obtenidos con *Juncus effusus*, debido a que se observó que la cantidad de bioelectricidad producida está directamente influenciada por la cantidad de pérdidas óhmicas. En el caso del H-CCM₉, las R_{int} registradas se deben a reacciones galvánicas involucradas en la matriz de soporte, el electrolito y los electrodos. Esto sugiere que las salidas de DP generadas por los H-CCM están limitadas, no solo por la resistencia óhmica relacionada con el transporte iónico a través de la rizósfera, sino también, por la resistencia a la transferencia de carga en el interfaz electrodo/electrolito.

Respecto a la relación entre las resistencias (R_{ext}/R_{int}), los resultados mostraron valores dentro de un rango de 50-500 Ω de R_{int} y 500-820 Ω de R_{ext} , donde las curvas de polarización muestran que la R_{int} del sistema no es lineal. Por lo tanto, no es sorprendente que los valores de DP y DC medidos no coincidan con los valores teóricos termodinámicos. No obstante, los resultados experimentales entre ambas resistencias son sumamente cercanos.

Tabla 5.2. Resistencias internas obtenidas del sistema de H-CCM.

Reactor	Especie de macrófita	Resistencia interna (Ω)	
		IRD1	IRD2
H-CCM ₁	a) <i>Aglaonema commutatum</i>	178.0 \pm 49.5	247.0 \pm 33.6
H-CCM ₂	b) <i>Cyperus papyrus</i>	163.1 \pm 17.5	354.7 \pm 160.2
H-CCM ₃	c) <i>Epipremnum aureum</i>	111.8 \pm 4.3	186.3 \pm 119.9
H-CCM ₄	d) <i>Dranacaena braunni</i>	107.6 \pm 7.8	252.6 \pm 113.0
H-CCM ₅	e) <i>Philodendron cordatum</i>	129.3 \pm 24.6	251.4 \pm 105.7

Reactor	Especie de macrófita	Resistencia interna (Ω)	
		IRD1	IRD2
H-CCM ₆	f) <i>Chrysopogon zizanioides</i>	103.9 \pm 28.8	377.0 \pm 187.6
H-CCM ₇	g) <i>Eichhornia crassipes</i>	115.0 \pm 30.6	263.0 \pm 223.4
H-CCM ₈	h) <i>Juncus effusus</i>	44.8 \pm 2.8	193.6 \pm 41.2
H-CCM ₉	i) Reactor control	474.0 \pm 118.2	161.3 \pm 49.0

Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCA sin R_{ex} ($\Omega=\infty$) y matriz de T_{ez} .

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por algunos trabajos de la literatura. Sin embargo, hacer una comparación directa es difícil a causa de las diferencias en las configuraciones, materiales utilizados, condiciones de trabajo y los tipos de diseños. En los artículos publicados se han reportado pérdidas óhmicas en un rango de 100-1500 Ω , en cambio con reactores de CCM convencionales se presentan valores de hasta 300 Ω . Los resultados de este estudio son comparables con los obtenidos por Castresana et al. (2019), quienes evaluaron fotocatalizadores de CuO-CU₂O en el cátodo, obteniendo pérdidas superiores a 100 Ω . Por otro lado, se han reportado pérdidas óhmicas sumamente bajas, en el caso de Sophia y Sreeja (2017) produjeron una resistencia de 22 Ω . Explicaron que para aumentar el número de electrones conducidos en el circuito externo, es necesario colocar algún tipo de membrana que separe las cámaras aerobia de la anaerobia, para ello, utilizaron una membrana de arcilla que permitió un adecuado intercambio de protones. Regmi et al. (2018^a) utilizaron una membrana de fibra-espuma como separador y obtuvieron pérdidas de 62 Ω . Butti et al. (2016) denota pérdidas tanto en la cámara del ánodo como en la del cátodo, para minimizar dichas pérdidas recomiendan reducir el espacio interelectrodo. De acuerdo con Song et al. (2017), sugieren que la distancia entre electrodos sea de 10-62 cm. En este experimento se operó con reactores de una sola cámara, el ánodo se colocó estratégicamente cerca del cátodo (a 8 cm de distancia) para disminuir el espaciado propiciando valores bajos de R_{int} . Cuando se utilizan sustratos endógenos, la producción de bioelectricidad se encuentra limitada a la producción de exudados, por consiguiente, la variación de pérdidas óhmicas se debe principalmente a las diferencias en los rizodepósitos producidos, la velocidad de exudación, conductividad iónica, entre otros factores complejos que interactúan en la rizósfera (Sophia y Sreega, 2017).

5.1.1.2.5. Potencial de los electrodos

El potencial de un electrodo se determina midiendo el voltaje contra un electrodo de referencia con un potencial conocido, en el cual la tención permanece constante. En este estudio se utilizó un electrodo de Ag/AgCl en virtud de sus propiedades de simplicidad, estabilidad y no toxicidad. El potencial representa la energía producida para llevar a cabo semirreacciones de tipo redox entre el ánodo y el cátodo. En la

semirreacción de oxidación se produce una pérdida de electrones que tiene lugar en el ánodo, lugar donde se realiza la transferencia final de electrones. Se puede obtener un incremento en el potencial del ánodo al conectar la celda a una carga externa, por causa del incremento de la respiración enzimática. Por el lado del cátodo se lleva a cabo una ganancia de electrones. Analizando los resultados de ambas semirreacciones, se observó que el cambio de intensidad de radiación produjo efectos sobre las mediciones de los potenciales como se aprecia en la **Figura 5.10**.

Con IRD1, el máximo potencial anódico (PA) y catódico (PC) fue de -180 y 149 mV, valores obtenidos con la especie *Juncus effusus* (H-CCM₈). Seguido, *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) quien también presentó altos potenciales (-160 y 93 mV). Los máximos PA y PC de las especies *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), *Epipremnum aureum* (H-CCM₃), *Dranacaena braunii* (H-CCM₄), *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆) y *Eichhornia crassipes* (H-CCM₇) fueron de -97, -46, -68, -103, -121 y 107, 58, 94, 113 y 57 mV respectivamente. *Cyperus papyrus* (H-CCM₂) produjo menores potenciales, registrando únicamente -23 (PA) y 47 (PC) mV, el H-CCM₉ únicamente produjo -17 (PA) y 27 (PC) mV. De acuerdo a los análisis de datos, se observó que la bioelectricidad aumenta a mayores PC y menores PA. En todos los casos, los PA registraron valores negativos, esto indica que las cámaras anódicas se mantuvieron bajo condiciones anaerobias, promoviendo el desarrollo de bacterias eletrogénicas (Santoro et al., 2018). Los PC presentaron valores positivos, indicando la reducción en el cátodo, considerando que para la reacción se utilizó oxígeno atmosférico, este gas es ampliamente recomendable por su disponibilidad y alto potencial estándar de reducción ($E^\circ = +0.82 \text{ V}$) (Lin et al., 2018; Logan et al., 2006). Los potenciales de los electrodos dependen de los procesos redox que ocurren en cada electrodo y de la caída óhmica con el electrodo de referencia, a causa de que este último se colocó a 1 cm del electrodo de trabajo, las lecturas son consideradas representativas. Las pruebas se realizaron alrededor de una vez por semana y desde el inicio hasta el final del monitoreo los valores se mantuvieron semiconstantes.

Siendo que el sustrato en los H-CCM se origina a partir de las macrófitas, se produce una mezcla muy compleja de muchos compuestos orgánicos, cuyos potenciales estándar de reducción (ΔE°) son diferentes. Por ejemplo en el ánodo, el potencial teórico es de -0.5 V (vs Ag/AgCl), que es el potencial estándar de la oxidación del acetato (Pausch et al., 2011), de ser así, se debe considerar que el sustrato de cada de macrófita tiene diferentes ΔE° teóricos (Strik et al., 2011). Igualmente en algunas especies, las raíces de las macrófitas transportan oxígeno hacia el ánodo, lo que limita el número de electrones disponibles para bioelectricidad, por lo tanto, a bajas y diferentes concentraciones de sustrato se conduce a un potencial anódico mixto (Helder, 2012), además las curvas de polarización determinaron que las resistencias óhmicas del sistema no tienen un comportamiento completamente lineal.

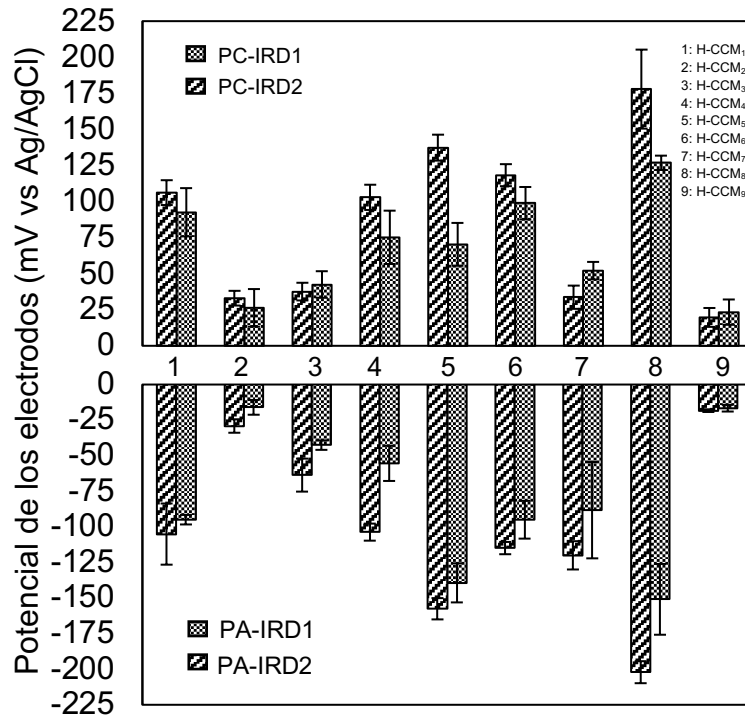


Figura 5.10. Potenciales de los electrodos.
Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCA sin R_{ex} ($\Omega=\infty$) y matriz de T_{ez} .

Con IRD2, los máximos PA y PC fueron de -129, 115, (H-CCM₁), -29, 38 (H-CCM₂), -79, 45 (H-CCM₃), -112, 115 (H-CCM₄), -168, 150 (H-CCM₅), -121, 129 (H-CCM₆), -134, 45 (H-CCM₇), -209, 190 (H-CCM₈) y -17, 3 (H-CCM₉) mV respectivamente. Los valores de PC incrementaron en la mayoría de los casos con el cambio a IRD2 (excepto los H-CCM_{3,7}). Por el lado del cátodo, esto se atribuye al incremento en la oxigenación rizosférica, Liu et al. (2014) mencionan que el oxígeno transferido hacia la rizósfera y el aporte de compuestos orgánicos afectan directamente de forma positiva ambos potenciales, acelerando las velocidades de reducción de oxígeno en el cátodo y produciendo mayores cantidades de electrones con el aumento de los exudados fotosintéticos en el ánodo. El PA está influenciado por factores como la temperatura, lo que conlleva a una disminución en la obtención de bioelectricidad cuando la misma disminuye. Este factor contribuye al incremento de los potenciales cuando es operado adecuadamente, una ventaja de los H-CCM, es que se pueden operar con temperaturas estacionales de invierno y primavera.

Cambiando de contexto, la presencia de compuestos intolerantes y tóxicos hubiera presentado altas e incontrolables fluctuaciones en los potenciales, conduciendo al estrés de las macrófitas y alterando los niveles de oxígeno de cada cámara. Este fenómeno conduciría a un potencial mixto, es decir, a la perturbación simultánea de los potenciales de ambos electrodos, caso que no sucedió en este experimento.

En el estudio de Arends et al. (2014) utilizaron la especie *Oryza sativa*, obtuvieron un PC máximo de 400 mV vs EEH (Electrodo estándar de hidrógeno), este resultado representa más del doble al obtenido con este estudio (190 mV vs Ag/AgCl). Helder et al. (2010) evaluaron la especie *Arundinella anómala*, reportaron que inicialmente el PA se estabilizó en -100 mV (vs Ag/AgCl), después de la onceava semana de operación se estabilizó el potencial en -400 mV. En el cátodo obtuvieron un potencial de 200 mV, potencializaron los electrodos agregando una solución buffer de cianuro férrico en el electrolito. Ambos estudios reportan sus mediciones a VCA. Castresana et al. (2019) emplearon fotocatalizadores en el cátodo de un H-CCM, operaron con la especie de briófitas *Pleurocarpous moss* y reportaron un máximo PA de -600 mV (vs Ag/AgCl). Fang et al. (2013) obtuvieron resultados de -400 (PA) y 300 (PC) mV, donde evaluaron las remociones de materia orgánica con *Ipomoea aquatica*. Estos estudios son dispositivos heterogéneos y complejos, por ende, es muy complicado elucidar donde radican las diferencias entre los potenciales de cada uno.

5.1.1.2.6. Eficiencia fotosintética

La eficiencia fotosintética dependerá de la capacidad de cada especie de macrófita para convertir la energía solar en bioelectricidad mediante una serie de procesos bioquímicos. La superioridad de eficiencia de una especie entre otra puede radicar en el flujo de sustrato liberado por los sistemas radiculares, considerando que los exudados representan cerca del 20% de los carbohidratos fotosintetizados (Violante et al., 2010; Deng et al., 2012).

La eficiencia de conversión se estimó con las **Ecuaciones 5.1 y 5.2.**

$$CE = Pe * Rp * Ra * Er \quad (\text{Ec. 5. 1})$$

$$Er = \frac{\text{Densidad de potencia} * \text{Área del ánodo}}{\text{As} * \text{Área de la hoja} * Pe * Rp * Ra} \quad (\text{Ec. 5. 2})$$

El límite máximo teórico de eficiencia fotosintética (Pe) se estima de 4.6 y 6.0% para especies de flora con vías fotosintéticas C3 y C4 respectivamente (Zhu et al., 2010). Sin embargo, esta eficiencia no es alcanzada al 100%, la eficiencia de conversión en la fase de crecimiento se encuentra alrededor del 70%, por lo se asignó un valor de 3.2 y 4.2% para las categorías C3 y C4 (Blankenship et al., 2011). Rp representa una proporción del 20% de rizodepósitos a carbohidratos fotozintetizados (Violante et al., 2010), Ra determina la disponibilidad de rizodepósitos para ser oxidados por las bacterias electroactivas, con una estimación del 30% (Nitorisavut y Regmi, 2017), Er atribuye la recuperación de energía en los H-CCM, As es el valor de la

radiación solar, donde los promedios por día fueron: 207 y 403 W/m² para IRD1 e IRD2, el área de la hoja representa el tamaño (m²) de 1 hoja en particular por cada especie y CE simboliza la eficiencia de conversión de energía solar en bioeléctrica (por sus siglas en inglés: Conversion Efficiency). En la **Tabla 5.3** se muestran los resultados obtenidos con las diferentes macrófitas estudiadas, así como las vías de actividades fotosintéticas que utilizan. En todos los casos se presentaron mayores eficiencias cuando los H-CCM fueron operados con IRD2, la especie *Juncus effusus* obtuvo mayor CE y mejor capacidad de recuperación de bioenergía, se estimaron valores de 0.030% y 0.034% para IRD1 e IRD2 respectivamente.

En el artículo de Deng et al. (2012) describieron el concepto de la eficiencia de conversión fotosintética, pero fueron Nitorisavut y Regmi (2017) quienes publicaron las ecuaciones para estimar la CE, mediante cálculos determinaron valores teóricos para flora C3 y C4 de 0.017 y 0.022%, respectivamente. De modo que los estudios que presentan evaluaciones fotosintéticas son nulos hasta el momento.

Tabla 5.3. Eficiencias fotosintéticas obtenidas de los H-CCM con IRD1 e IRD2.

Reactor	Especie de macrófita	Área de la hoja (m ²)		Vía fotosintética ^a	Er (adimensional)		CE (%)	
		IRD1	IRD2		IRD1	IRD2	IRD1	IRD2
H-CCM ₁	<i>Aglaonema commutatum</i>	0.0050	0.0054	C3	0.0037	0.0083	0.0007	0.0016
H-CCM ₂	<i>Cyperus papyrus</i>	0.0005	0.0005	C4	0.0440	0.0541	0.0100	0.0136
H-CCM ₃	<i>Epipremnum aureum</i>	0.0036	0.0040	C3	0.0038	0.0096	0.0007	0.0018
H-CCM ₄	<i>Dranacaena braunni</i>	0.0039	0.0042	C4	0.0032	0.0071	0.0008	0.0020
H-CCM ₅	<i>Philodendron cordatum</i>	0.0099	0.0010	C3	0.0076	0.0058	0.0014	0.0016
H-CCM ₆	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	0.0003	0.0004	C4	0.0186	0.0176	0.0046	0.0048
H-CCM ₇	<i>Eichhornia crassipes</i>	0.0022	0.0037	C4	0.0053	0.0051	0.0013	0.0014
H-CCM ₈	<i>Juncus effusus</i>	0.0008	0.0009	C3	0.1607	0.1292	0.0300	0.0348

Poulter et al. (2015)^a
 Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω y matriz de T_{ez}.

En la **Tabla 5.4** se presenta el rendimiento bioelectroquímico general de todas las macrófitas de estudio, el cual está relacionado con la CE obtenida. Con el análisis fotosintético y bioelectroquímico, se observó un aumento de CE de hasta un 120% cuando se incrementó la intensidad de radiación. Las especies *Cyperus papyrus* y *Chrysopogon zizanioides* obtuvieron altos valores (CE y Er), aún cuando produjeron menor cantidad de bioelectricidad que *Philodendron cordatum* (quien tiene menor CE), suceso que se debe principalmente por el tipo de vía fotosintética C4, este mecanismo permite una mayor tasa de conversión de energía. Las especies con vía tipo C3 (*Aglaonema commutatum*, *Epipremnum aureum* y *Philodendron cordatum*) produjeron eficiencias más bajas, *Dranacaena braunni* a pesar de pertenecer a la clasificación C4, registró menor CE, lo cual se atribuye a su baja producción de DP.

A consecuencia, aumentar el valor de E_r es una forma prometedora de mejorar los resultados de CE, para ello es necesario: perfeccionar las configuraciones de los H-CCM, implementar electrodos de alto rendimiento, evaluar catalizadores y realizar pruebas con cepas de bacterias exoelectrogénicas, ya que son parámetros que pueden ser controlados. Por otro lado, los valores de P_e , R_p , R_a y el tamaño de las hojas están limitados a la funcionalidad fisiológica de cada especie de macrófita. La evaluación de las vías fotosintéticas y su eficiencia son esenciales para elegir la mejor especie en un estudio de rendimiento con H-CCM, el aumento de la intensidad de radiación solar afectó el funcionamiento total, por ende se observó un incremento en la eficiencia fotosintética y en la producción de bioelectricidad. Este efecto se ha estudiado con celdas de combustible fotosintéticas, puesto que está directamente relacionada con la actividad metabólica de los microorganismos, en especial de las microalgas. Así que la intensidad solar juega un papel importante en la fotosíntesis, maximizando el proceso de exudación de la rizósfera en la actividad fotosintética (Wu et al., 2013; Xiao et al., 2014; Ayala et al., 2019).

Resumiendo la evaluación bioelectroquímica de las macrófitas estudiadas, *Juncus effusus* (H-CCM₈) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) fueron las especies con mejor rendimiento bioelectroquímico tanto en VCA, VCC, DP, potencia volumétrica (PV), DC, PA, PC y CE con ambas fases experimentales (IRD1 e IRD2).

Tabla 5.4. Rendimiento bioelectroquímico general del sistema de H-CCM con matriz de T_{ez} .

Reactor	Especie de macrófita	Máximo voltaje (mV) ^a		Máxima densidad de potencia (mW/m ²) ^a		Máxima potencia volumétrica (W/m ³) ^a		Máximo potencial anódico (mV) ^b		Máximo potencial catódico (mV) ^b	
		IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2
H-CCM ₁	<i>Aglaonema commutatum</i>	99	188	3.9	14.1	0.9	3.5	-96	-109	107	115
H-CCM ₂	<i>Cyperus papyrus</i>	123	168	6.0	11.2	1.5	2.8	-23	-35	47	38
H-CCM ₃	<i>Epipremnum aureum</i>	86	174	2.9	12.0	0.7	3.0	-46	-79	58	45
H-CCM ₄	<i>Dranacaena braunni</i>	93	175	3.4	12.2	0.8	3.1	-68	-112	94	115
H-CCM ₅	<i>Philodendron cordatum</i>	199	215	15.8	18.5	3.9	4.6	-160	-168	93	150
H-CCM ₆	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	69	85	1.9	2.8	0.4	0.7	-85	-111	113	129
H-CCM ₇	<i>Eichhornia crassipes</i>	91	140	3.3	7.8	1.9	8.0	-119	-134	57	45
H-CCM ₈	<i>Juncus effusus</i>	270	315	29.0	38.9	7.2	9.7	-180	-209	133	203
H-CCM ₉	Reactor control	49	63	0.9	1.6	0.2	0.4	-17	-19	27	28

Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω^a , VCA sin R_{ext} ($\Omega=\infty$)^b y matriz de T_{ez} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mejor eficiencia fotosintética en términos de CE (%) se determinó por un análisis estadístico (prueba ANOVA-Kruskal-Wallis, **Figura 5.11**). El análisis de varianzas múltiples (**Tabla 5.5**) demostró que el mejor resultado se obtuvo con *Juncus effusus* (0.03 ±0.0008% con IRD1 y 0.034 ±0.0009% con IRD2). Se utilizó un nivel de significancia de 5% y el valor-P fue <0.0001, por lo tanto las diferencias significativas entre las especies estudiadas son prominentes.

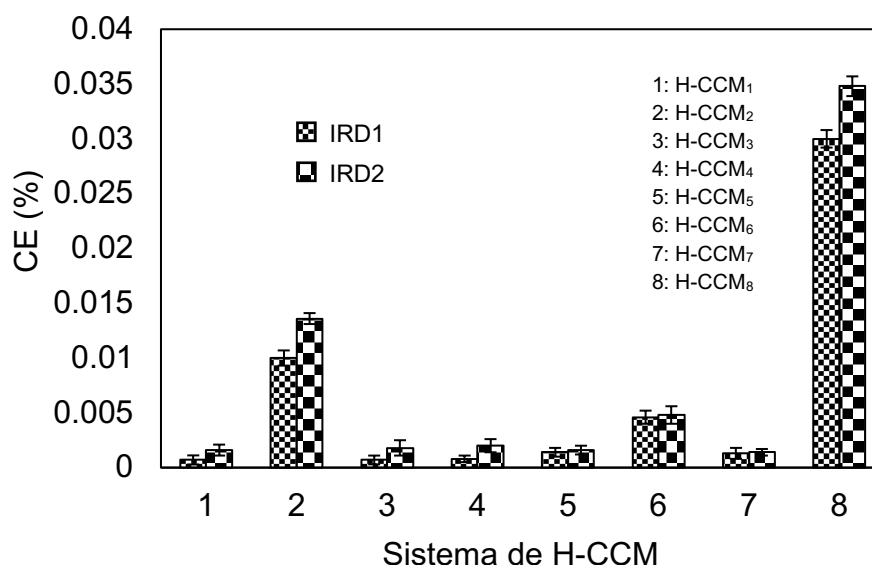


Figura 5.11. Análisis estadístico de varianzas múltiples en términos de CE.

Tabla 5.5. ANOVA de CE de las diferentes macrófitas estudiadas.

Reactor	Especie de macrófita	Eficiencia de conversión (%)		Valor-P	Significancia
		IRD1	IRD2		
H-CCM ₁	a) <i>Aglaonema commutatum</i>	0.0007 ±0.0004	0.0016 ±0.0005	<0.0001	a≠b,e,f,g,h
H-CCM ₂	b) <i>Cyperus papyrus</i>	0.0100 ±0.0006	0.0136 ±0.0005	<0.0001	b≠a,c,d,e,f,g,h
H-CCM ₃	c) <i>Epipremnum aureum</i>	0.0007 ±0.0004	0.0018 ±0.0007	<0.0001	c≠b,e,f,g,h
H-CCM ₄	d) <i>Dranacaena braunii</i>	0.0008 ±0.0003	0.0020 ±0.0006	<0.0001	d≠b,e,f,h
H-CCM ₅	e) <i>Philodendron cordatum</i>	0.0014 ±0.0004	0.0016 ±0.0004	<0.0001	e≠b,f,h
H-CCM ₆	f) <i>Chrysopogon zizanioides</i>	0.0046 ±0.0006	0.0048 ±0.0008	<0.0001	f≠g,h
H-CCM ₇	g) <i>Eichhornia crassipes</i>	0.0013 ±0.0005	0.0014 ±0.0003	<0.0001	g≠b,h
H-CCM ₈	h) <i>Juncus effusus</i>	0.0300 ±0.0008	0.0348 ±0.0009	<0.0001	h≠a,b,c,d,e,f,g

Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω y matriz de T_{ez}.

5.1.1.2.7. Producción de exudados radiculares

Una forma que determina la producción de compuestos orgánicos liberados por el sistema radicular es a través del parámetro de COT, de este modo se cuantificó la cantidad de materia orgánica producida como rizodepósitos en cada macrófita. En la **Figura 5.12** se muestran las concentraciones de COT obtenidas con IRD1 e IRD2. La mayor producción de compuestos por exudación se obtuvo con *Eichhornia crassipes* (H-CCM₇), quien produjo 24.6 mg/L, en seguida las especies: *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), *Epipremnum aureum* (H-CCM₃) y *Juncus effusus* (H-CCM₈) con producciones de 20.6, 15.3 y 14.6 mg/L respectivamente (IRD1). *Dranacaena braunni* (H-CCM₄), *Philodendron cordatum* (H-CCM₅) y *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₆) produjeron menores cantidades (12.1, 11.7, y 5.0 mg/L respectivamente).

Los H-CCM presentaron concentraciones de COT más altas con la fase de IRD2, a excepción de la especie *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁), en la cual las máximas concentraciones fueron de: 15.4 (H-CCM₁), 13.9 (H-CCM₂), 20.0 (H-CCM₃), 18.4 (H-CCM₄), 22.1 (H-CCM₅), 10.8 (H-CCM₆), 39.1 (H-CCM₇) y 23.0 (H-CCM₈) mg/L. En el incremento de la intensidad de luminosidad, los exudados se intensificaron en un 25, 55, 23, 34, 47, 53, 38 y 36% respectivamente. En el H-CCM₉ se cuantificó solo 3 mg/L para ambos estudios. El incremento de las concentraciones de COT con IRD2, se debe a que la radiación es el principal factor que determina el microclima del cultivo, su energía condiciona: la temperatura del aire y del suelo, el movimiento del viento, la evapotranspiración y la fotosíntesis. De tal manera que la radiación, el grado de interceptación de luz y la eficiencia en el uso de la energía solar son determinantes en la tasa de crecimiento vegetal y en la liberación de exudados (Saz et al., 2018). Este proceso depende de la especie de macrófita, de la presencia de bacterias en la rizósfera, nutrientes, tipo de agua, disponibilidad de oxígeno, medio para su desarrollo, entre otras condiciones que determinan su vitalidad. Además de esto, las concentraciones de los compuestos varían como una respuesta a ciertos estímulos externos, tales como: las condiciones ambientales y la temperatura. Esto ha conferido a que la rizósfera tiene un sistema de defensa muy dinámico, aparte de la peculiar función como soporte y absorción de nutrientes (Kabutey et al., 2019).

La diferencia entre los resultados de cada especie puede deberse a distintos factores como: el tipo de flora, edad, fisiología, defoliación y los microorganismos rizosféricos, los cuales pueden interferir sobre la tendencia de los exudados. Los resultados muestran que el sombreado disminuyó el rendimiento bioelectroquímico, atribuido por la inhibición fotosintética en IRD1. La intensidad de iluminación solar determina la fijación de compuestos carbonados, debido a eso es que existe una mayor producción de COT con IRD2. De tal modo, que la radiación que incide sobre la superficie vegetal también es un factor en función de la fijación de CO₂ que influye en la producción de exudados radiculares.

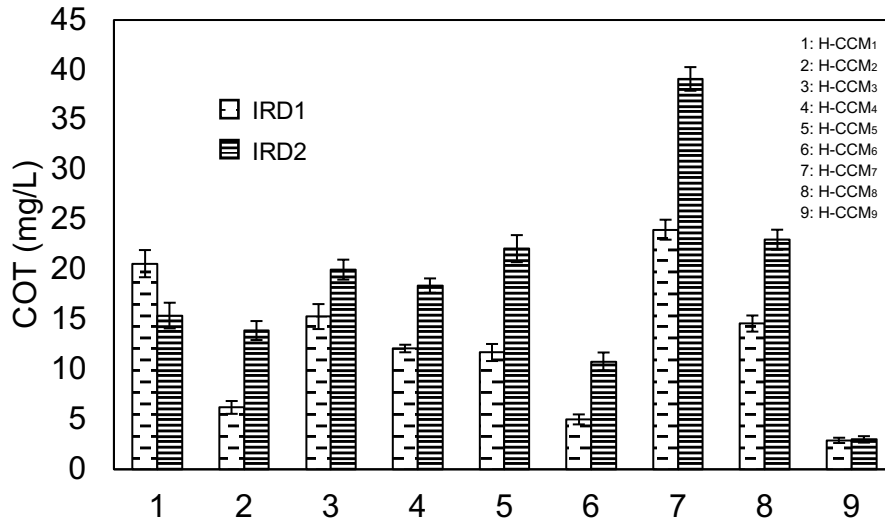


Figura 5.12. Producción de exudados radiculares medidos como COT.

En estudios que utilizan solo los sustratos fotosintéticos endógenos, es necesario un sistema que potencialice la rizodeposición, para ello se requieren condiciones óptimas de operación que beneficien las comunidades microbianas en la rizósfera (incluyendo la biopelícula anódica), promoviendo alta actividad fotosintética y de ese modo poder maximizar la producción de exudación en las raíces. Un aumento en la intensidad de radiación sobre las macrófitas puede mejorar la tasa de crecimiento fisiológico, está claro que la luz solar es clave para la generación de bioelectricidad, principio que se presentó en este experimento. Un factor que puede disminuir el rendimiento son los tipos de flora que producen fitotoxinas como defensa radicular, dichas especies afectan en: la producción de metabolitos, fotosíntesis, respiración, transporte de membrana, germinación, crecimiento radicular y brotes. Esto último dependerá de las condiciones particulares de desarrollo (Nitisoravut y Regmi, 2017; Yin et al., 2015; Bais et al., 2006; Khudzari, 2018; Saz et al., 2018).

5.1.1.3. Producción de bioelectricidad en H-CCM con distintas especies de macrófitas bajo intensidad de radiación difusa-directa y matriz de «*coque*»

5.1.1.3.1. Producción de voltaje y densidad de potencia

En la **Figura 5.13** se muestran los resultados de voltaje y DP obtenidos del sistema de H-CCM con matriz de C_{oq} . La idea de utilizar este estrato como soporte es para unificar el electrodo y la matriz en un solo componente, donde ambos materiales sirvan como conductores de electrones. Con IRD1, el voltaje máximo se produjo con *Juncus effusus* (H-CCM₁₇) con un resultado de 53 mV (1.12 mW/m², 21.2 mA/m²), la especie que antecede es *Cyperus papyrus* (H-CCM₁₁) quien produjo un máximo de 48 mV (0.92 mW/m², 19.2 mA/m²). El resto de los H-CCM presentó valores muy inferiores, las especies *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁₀), *Epipremnum aureum* (H-CCM₁₂), *Drannacaena braunni* (H-CCM₁₃), *Philodendron cordatum* (H-CCM₁₄), *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₁₅) y *Eichhornia crassipes* (H-CCM₁₆) produjeron 4.9, 7.4, 3.7, 18.2, 30.0 y 4.6 mV, lo que corresponde a 0.010, 0.009, 0.021, 0.005, 0.132 y 0.360 mW/m² de DP y 2.0, 1.9, 2.9, 1.4, 7.2 y 12 mA/m² de DC. El H-CCM₁₈ solo produjo un máximo de 4.6 mV (0.0008 mW/m², 1.8 mA/m²). Entre los días 0-29 los reactores mantuvieron voltajes constantes (con excepción de los H-CCM_{11,15,16}), posteriormente los H-CCM_{12,17} mostraron altas fluctuaciones (día 30 en adelante). Los reactores H-CCM_{11,16} presentaron mayor rendimiento dentro de los primeros 20 días de operación, el resto presentó la mejor eficiencia a los 16 días. Respecto a las mediciones de radiación solar, esta se mantuvo entre 2000-3000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$.

En la segunda fase el incremento de bioelectricidad se observó de inmediato, con IRD2 el máximo voltaje se presentó con la especie *Cyperus papyrus* (H-CCM₁₁), quien produjo un máximo de 70 mV (1.96 mW/m², 28 mA/m²), *Juncus effusus* (H-CCM₁₇) alcanzó un máximo de 55 mV (1.21 mW/m², 22 mA/m²) y *Dranacae braunni* (H-CCM₁₃) fue la especie que produjo menor voltaje, con 16 mV (0.102 mW/m², 6.4 mA/m²). El resto de las especies: *Aglaonema commutatum* (H-CCM₁₀), *Epipremnum aureum* (H-CCM₁₂), *Philodendron cordatum* (H-CCM₁₄), *Chrysopogon zizanioides* (H-CCM₁₅) y *Eichhornia crassipes* (H-CCM₁₆) produjeron 47, 25, 19, 49 y 42 mV, con DP de 0.88, 0.25, 0.14, 0.96 y 0.68 mW/m² y DC de 18.8, 10.0, 7.6, 19.6, 16.52 mA/m². El H-CCM₁₈ solo produjo 0.17 mV (0.11 mW/m², 6.8 mA/m²). Después del día 80, los H-CCM_{10,11,14,16} presentaron un incremento hasta el día 100, donde decayeron los voltajes, sin embargo no se estabilizaron, a lo largo de la operación sostuvieron altas oscilaciones (días 80-140), el resto de los reactores continuó con una producción pseudoconstante hasta el día 140. En este caso la radiación fue de 3000-3800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2/\text{s}$. Con el cambio a IRD2, el voltaje aumentó un 92 (H-CCM₁₀), 62 (H-CCM₁₁), 97 (H-CCM₁₂), 58 (H-CCM₁₃), 95 (H-CCM₁₄), 60 (H-CCM₁₅), 49 (H-CCM₁₆), 89 (H-CCM₁₇) y 42 (H-CCM₁₈) % respectivamente. Inconvenientemente, ninguna macrófita superó los 70 mV a VCC en ambas intensidades de radiación.

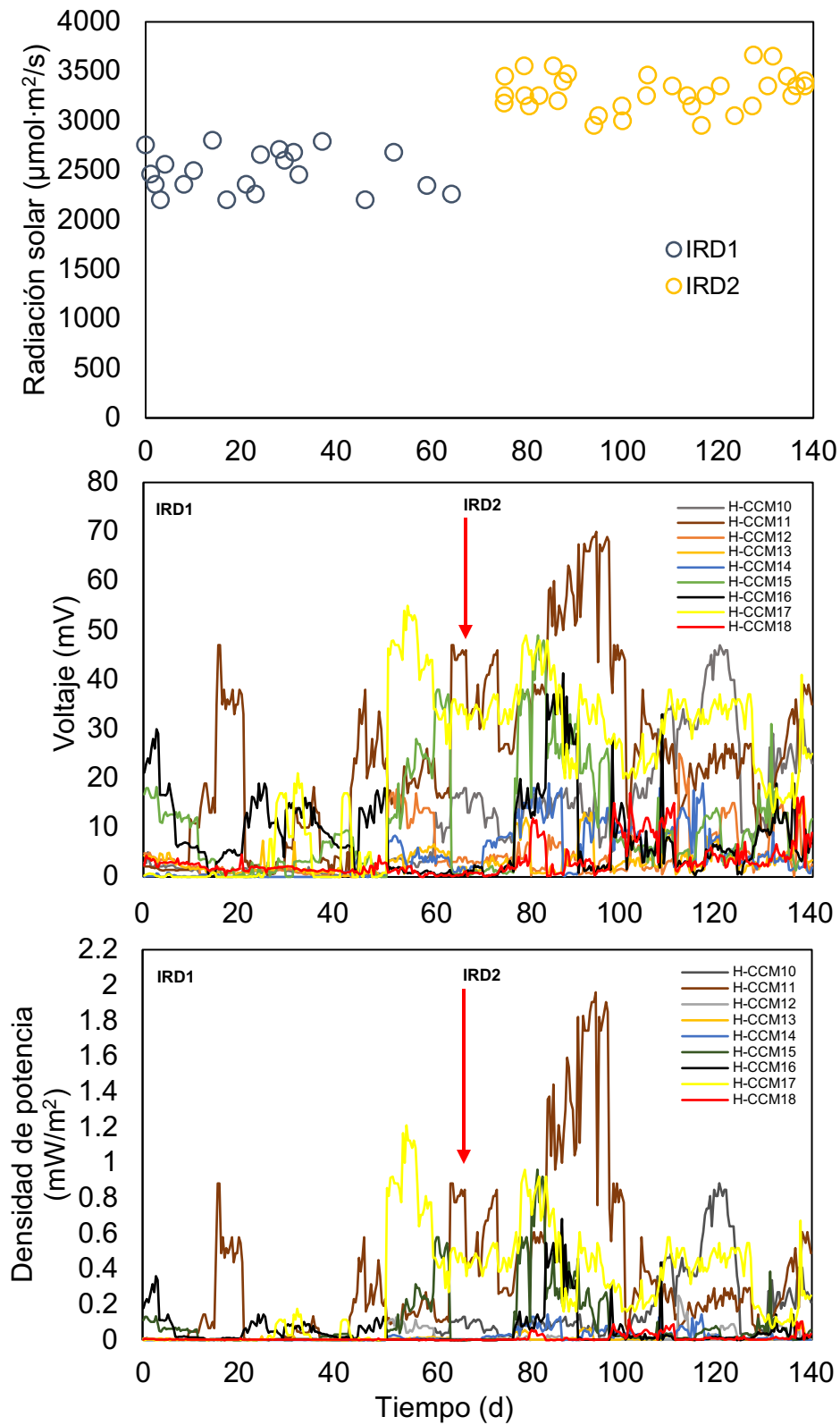


Figura 5.13. Producción de voltaje y densidad de potencia obtenida del sistema de H-CCM. Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000Ω y matriz de C_{oq} .

Los máximos voltajes de VCC obtenidos se pueden observar en la **Tabla 5.6**, así como el rendimiento bioelectroquímico de cada especie de macrófita. Los valores de VCA con IRD1 e IRD2 fueron de 59, 30, 33, 38, 55, 28, 32, 78, 19 y 74, 47, 38, 48, 59, 42, 39, 88, 26 mV (en orden de: H-CCM₁₀-HCCM₁₈) respectivamente. Debido al bajo potencial global, no fue posible observar el efecto en la producción de DC vs DP en el trazo de las curvas de polarización. El papel que desempeñó el C_{oq} como material conductor, presentó problemas en la condensación de electrones, esto se puede apreciar en las bajas cantidades de DP, PV, PA y PC producidas. Además, todo el sistema presentó grandes pérdidas internas, donde las resistencias óhmicas llegaron a ser superiores a 700 Ω, lo cual demuestra que existe una alta dispersión de electrones entre el electrolito de las celdas y los electrodos. Como consecuencia, los electrones no fueron captados y dirigidos al circuito externo, es decir que la capacidad conductiva de la matriz disipó la energía.

Tabla 5.6. Rendimiento bioelectroquímico general del sistema de H-CCM con matriz de C_{oq}.

Reactor	Especie de macrófita	Máximo voltaje (mV) ^a		Máxima densidad de potencia (mW/m ²) ^a		Máxima potencia volumétrica (W/m ³) ^a		Máximo potencial anódico (mV) ^b		Máximo potencial catódico (mV) ^b		Resistencia interna (Ω) ^b	
		IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2	IRD1	IRD2
H-CCM ₁₀	<i>Aglaonema commutatum</i>	5	47	0.010	0.880	0.002	0.220	-8.3	3.8	-9.3	3.7	753.2	793
H-CCM ₁₁	<i>Cyperus papyrus</i>	48	70	0.920	1.960	0.230	0.490	-44.3	16.92	-44.9	16.6	236.2	286
H-CCM ₁₂	<i>Epipremnum aureum</i>	4.9	25	0.009	0.250	0.002	0.060	-3.86	10.01	-38	10	511.2	620.3
H-CCM ₁₃	<i>Dranacaena braunii</i>	7.4	16	0.021	0.005	0.102	0.025	-2.2	4.65	-2.2	2.7	128	132.3
H-CCM ₁₄	<i>Philodendron cordatum</i>	3.7	19	0.005	0.001	0.144	0.036	-4.96	7.1	-4.9	7.6	254.5	270.6
H-CCM ₁₅	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	18.2	49	0.132	0.033	0.960	0.240	-7.5	10.3	-7.9	10	214.4	235.1
H-CCM ₁₆	<i>Eichhornia crassipes</i>	30	41.3	0.360	0.090	0.698	0.170	-20.1	16.7	-28.1	20	260.5	308
H-CCM ₁₇	<i>Juncus effusus</i>	53	55	1.120	1.210	1.210	0.302	-60.4	46.8	-41.1	46	237.5	297.6
H-CCM ₁₈	Reactor Blanco	4.6	17	0.008	0.002	0.115	0.028	-4.1	6.1	-4	2.9	200.8	233.3

Condiciones: Solución Hoagland, IRD1, IRD2, VCC con R_{ex} de 1000 Ω^a, VCA sin R_{ext} (Ω=∞)^b y matriz de Coq.

Ya se han reportado estudios que utilizan matrices de diferentes estratos de carbón, por ejemplo: Strik et al. (2008) evaluaron la generación de bioelectricidad en un H-CCM de doble cámara, separada con una membrana de intercambio catiónico, como soporte de ambas cámaras utilizaron CAG para la especie *Glyceria maxima* y reportaron un rendimiento de 67 mW/m² de DP. Este fue el primer reporte científico que propuso obtener los carbohidratos fotosintéticos para ser biodegradados por bacterias electroactivas. Liu et al. (2014) utilizaron gravilla en la cámara anaerobia y CAG en la zona aerobia para dar soporte a las macrófitas *Ipomoea aquatica*, reportaron un rendimiento de 55 mW/m² de DP y explicaron que esta matriz exhibió

un mejor desempeño debido a su alta área específica y su acción capilar. Xu et al. (2016^a), Song et al. (2017) y Vargas et al. (2018) utilizaron lodo granular anaerobio como matrices para las especies *Canna indica*, *Phragmites australis* y *Sedum kamschaticum*, donde produjeron 10.7, 4.5 mW/m² y 114 μW/m² respectivamente. Los autores estudiaron el efecto de la ubicación de los electrodos, la optimización de la bioelectricidad y la función de las comunidades microbianas en biopelículas electroactivas. Aguirre (2017) utilizó una cama de C_{oq} como soporte de *Phragmites australis* en un H-CCM, enfocó su estudio hacia el tratamiento de aguas residuales, obtuvo 90-97% de remociones de DQO y DBO₅. En otro estudio, Aguirre et al. (2016) utilizaron un biofiltro de C_{oq}, reportaron tasas de eliminación del 91% de DQO, 96% de DBO₅, 97% de NH₄-N y de 69% de N_T. Explicaron que el C_{oq} mejora las tasas de biodegradación (no realizaron la evaluación bioelectroquímica). Wang et al. (2017^a) utilizaron C_{oq} como matriz para *Juncus effusus*, presentaron una máxima DP de 5.1 mW/m² y una remoción de DQO de hasta 48.7%. Actualmente no se han publicado estudios que utilicen matriz de C_{oq} solo para la producción de bioelectricidad, en la siguiente **Tabla (5.7)** se muestran resultados de algunos estudios que utilizan los rizodepósitos como biocombustible para su evaluación bioelectroquímica.

Tabla 5.7. Estudios con H-CCM utilizando exudados radiculares como sustrato.

Especie de macrófita	Matriz	Cuantificación de exudados	Intensidad de radiación	Máxima densidad de potencia (mW/m ²)	Referencia
<i>Arundinella anomala</i>	Gránulos de grafito	2.3 g/g de materia fresca	Directa	222	(Helder et al., 2010)
<i>Oryza sativa</i>	Suelo	---	Directa	14	(Takanezawa et al., 2010)
<i>Canna indica</i>	Grava	---	Directa	15.73	(Yadav et al., 2012)
<i>Aconitum negarum</i>	Suelo	---	Directa	14	(Wu et al., 2013)
<i>Oryza sativa</i>	Suelo	---	Directa	15 mA/m ²	(Cabezas et al., 2015)
<i>Spartina anglica</i>	---	1.42 mg/L de DQO	Directa	---	(Pabon, 2009)
<i>Oryza sativa</i>	Suelo	---	Directa	6	(Kaku et al., 2008)
<i>Canna sp.</i>	Grava	---	Directa	8.05	(Liu et al., 2019 ^a)
<i>Acorus calamus</i>	Arena	---	Directa	8.05	(Liu et al., 2019 ^a)
<i>Pleurocapous</i>	Suelo	---	Directa	2.5	(Castresana et al., 2019)
<i>S. kamschaticum</i>					
<i>S. rupestre</i>					
<i>S. spurium</i>					
<i>S. reflexum</i>	Arena	---	Directa	114 μW/m ²	(Tapia et al., 2018)
<i>S. hybridum</i>	Arcilla	---	Directa	114 μW/m ²	(Tapia et al., 2018)
<i>S. sexangulare</i>					
<i>S. album</i>					
<i>Setaria faveri</i>	Fibra de coco	---	Directa	4.6	(Borker et al., 2018)
<i>Juncus effusus</i>	Tezontle	14.6 mg/L de COT	Difusa	29	En este estudio
<i>Juncus effusus</i>	Tezontle	23 mg/L de COT	Directa	38.9	En este estudio
<i>Juncus effusus</i>	Coque	12.9 mg/L de COT	Difusa	1.12	En este estudio
<i>Cyperus papyrus</i>	Coque	25.9 mg/L de COT	Directa	1.96	En este estudio

5.1.1.4. Efecto de la matriz de soporte en H-CCM

En la **Figura 5.14** se resume el rendimiento general del experimento obtenido con las condiciones descritas en la sección 4.1.1. Con ambos escenarios de radiación (IRD1 vs IRD2) y tipos de matrices (T_{ez} vs C_{oq}), la especie *Juncus effusus* presentó el mayor potencial bioelectroquímico (**Figuras 5.14a, 5.14b y 5.14c**). El rendimiento (\bar{x}) con matriz de T_{ez} fue de 2-8 veces mayor, atribuido a una adecuada captación de electrones sobre el ánodo, acción promovida por su capacidad no conductiva. Los datos demostraron que a medida que los potenciales decaen, se presenta un incremento en las R_{int} , lo que demuestra la severidad de los resultados obtenidos con los experimentos. En los sustratos como COT (**Figura 5.14d**) no se observaron grandes diferencias con la variación del tipo de matriz.

No hay duda de que el T_{ez} sea un material apropiado para la implementación en este tipo de configuraciones, cuenta con las ventajas de ser biocompatible, poroso (~67%), tiene conductividad eléctrica baja (150 S/m), no es permeable, ni aislante, es sumamente económico, presenta un pH cercano a la neutralidad (propiedad que permite que se adhiera la biopelícula), no es tóxico y tiene alta estabilidad física. El C_{oq} presenta las mismas ventajas, además de tener una propiedad conductiva muy alta (61000 S/m) y una menor porosidad (~32%).

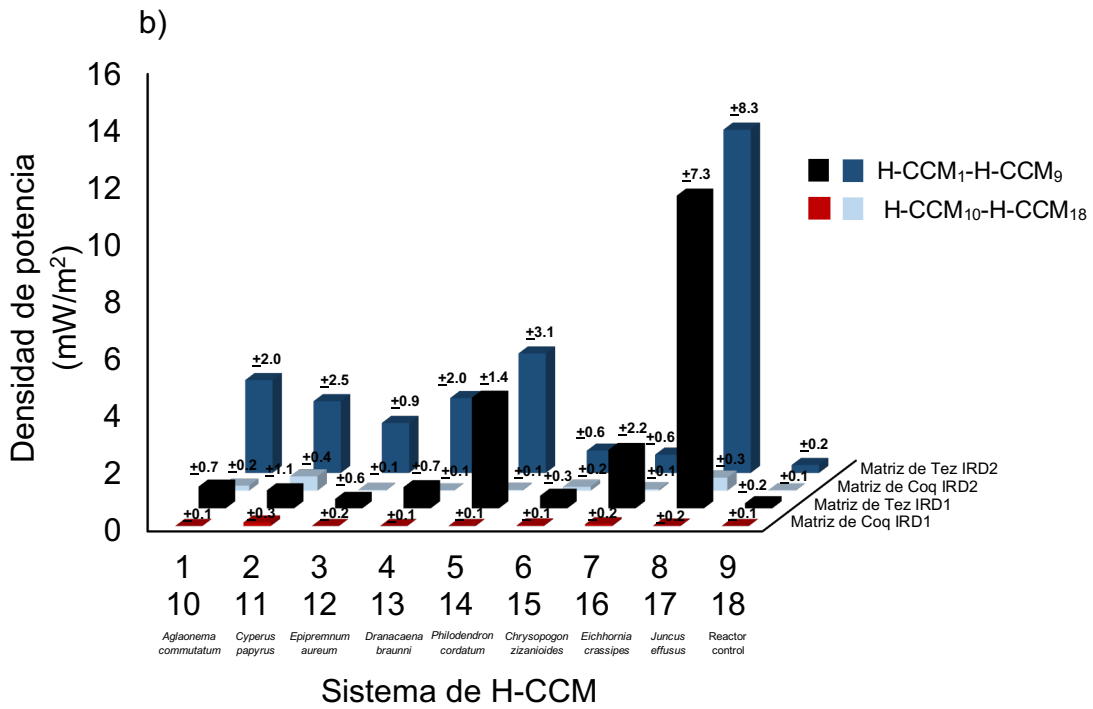
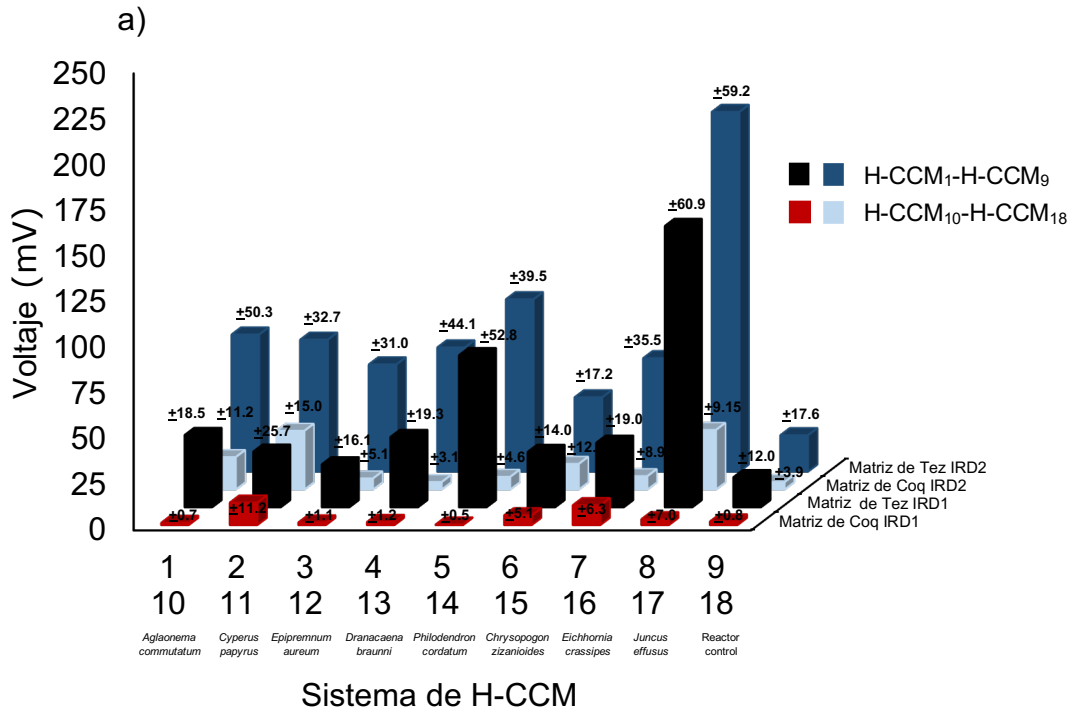
Trejo et al. (2013) evaluaron las propiedades químicas donde realizaron un análisis elemental del T_{ez} , apreciaron un contenido no detectable (Nd) de carbón (C). Bonilla (2012) y Novoa (2011) evaluaron C_{oq} , el cual contiene entre un 90-95% de C, lo que lo hace conductivo eléctricamente. El resto de los elementos se encuentran a muy bajas concentraciones para ambos materiales, tales que afectan diminutamente el desempeño bioeléctrico en general. Ambos estudios se realizaron mediante un sistema de Rayos-X por energía dispersa (R_xED). El análisis de la composición de las fases químicas de la presente investigación (**Tabla 5.8**) se realizó por DRX, los resultados mostraron (**Figura 5.15**) un contenido total del 90% de C en la matriz de C_{oq} y una concentración Nd en el T_{ez} , el elemento de «C» identificado es compatible con el patrón internacional de cristalografía 26-1076.

Tabla 5.8. Análisis elemental de las matrices.

Elemento químico	T_{ez}	C_{oq}	Referencia
N (%)	0.61	Nd	(Trejo et al., 2013)
P (mg/Kg)	0.31	Nd	(Trejo et al., 2013)
K (mg/Kg)	2.74	Nd	(Trejo et al., 2013)
Ca (mol/m ³)	22.0	Nd	(Trejo et al., 2013)
Mg (mol/m ³)	10.09	Nd	(Trejo et al., 2013)
Na (mg/L)	Nd	31	(Bonilla et al., 2012)
C (%)	Nd	89-95	(Novoa, 2011)
O (%)	Nd	1-6	(Novoa, 2011)
S (%)	Nd	0.5-1.5	(Novoa, 2011)
C (%)	Nd	90	En este estudio

Nd: no detectable

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



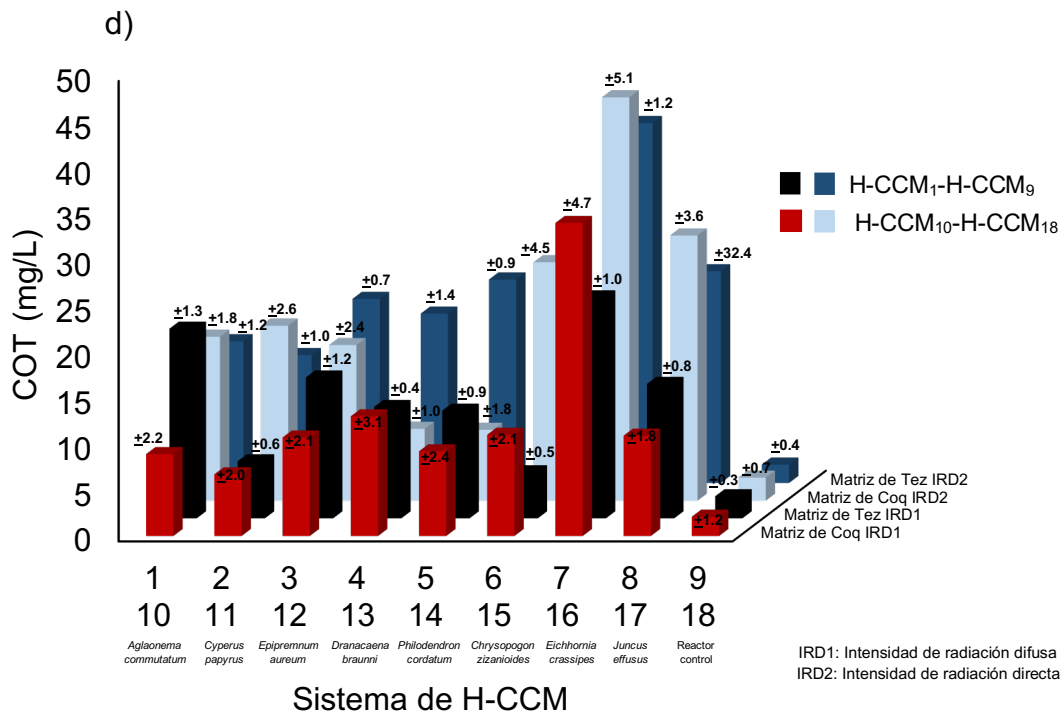
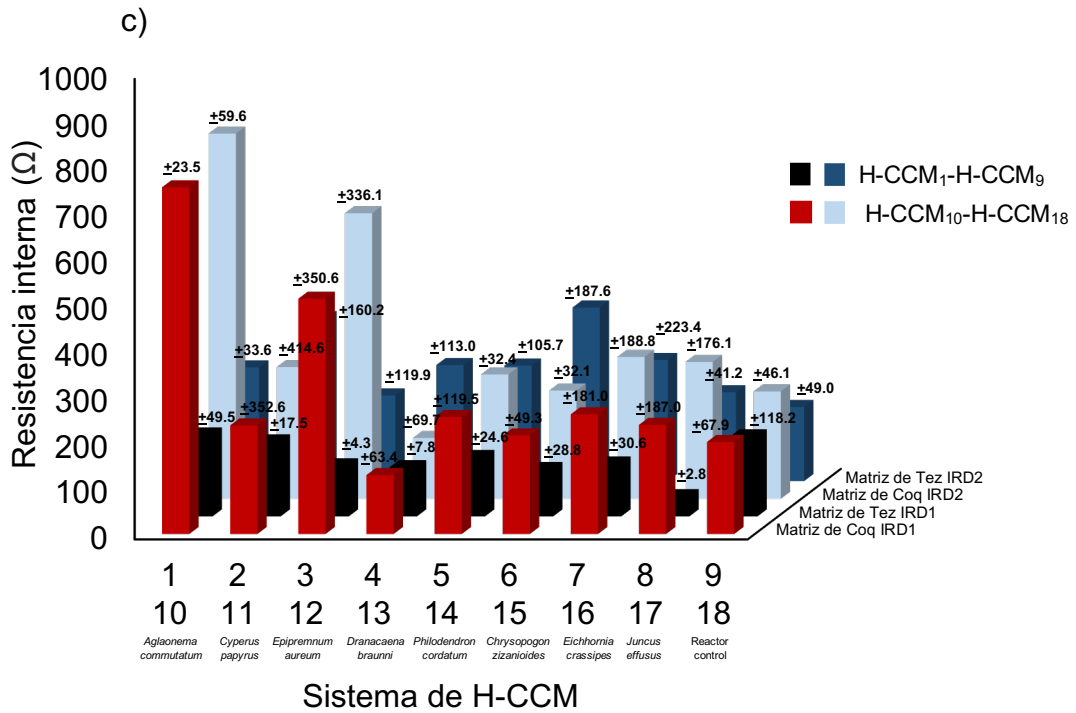


Figura 5.14. Recapitulación de los resultados promedio obtenidos de (a) voltaje, (b) densidad de potencia, (c) resistencia interna y (d) COT del sistema de H-CCH operados con matrices de Tez y Coq. El símbolo \pm representa las desviaciones estándar.

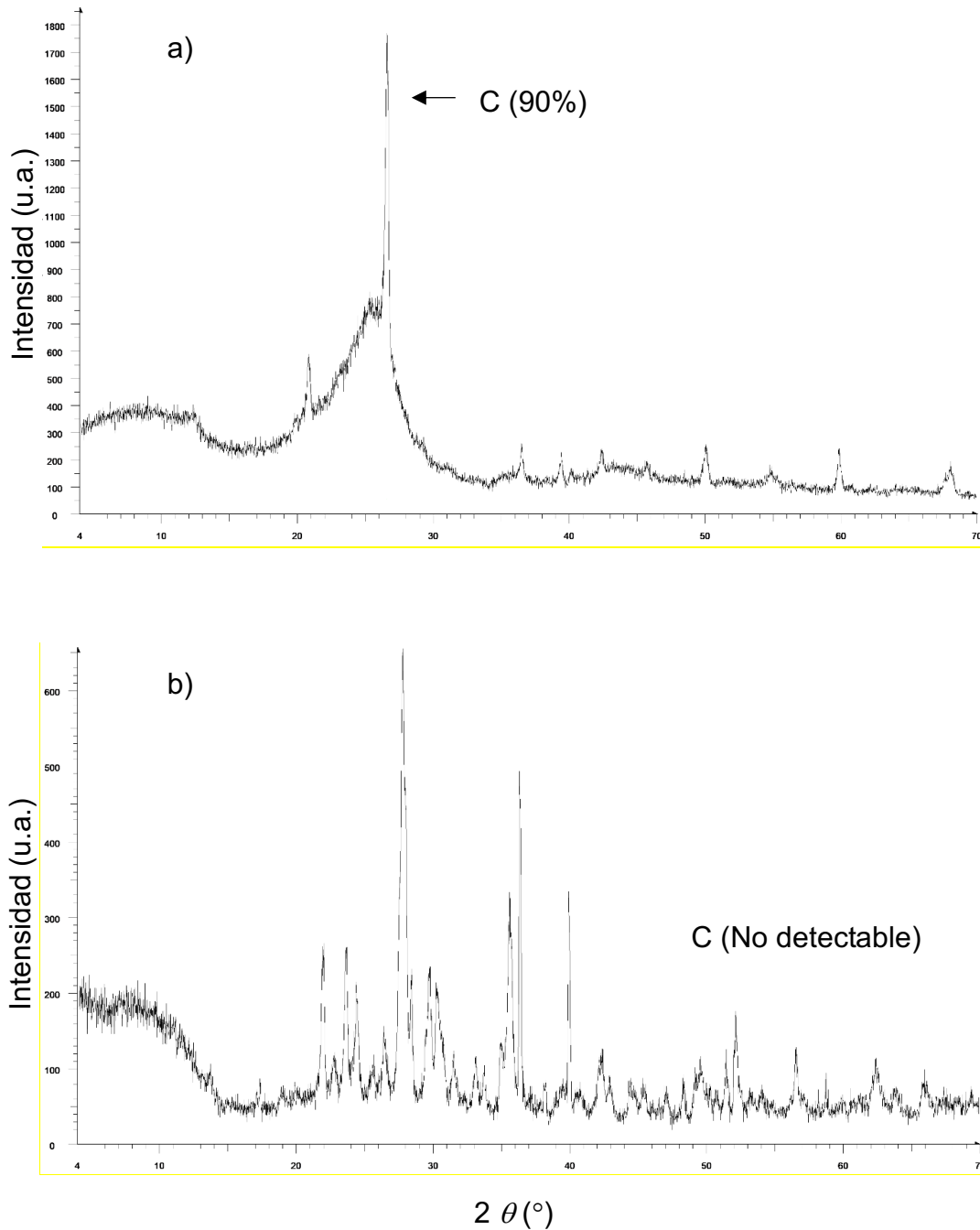


Figura 5.15. Difractogramas que describen el contenido de C de las matrices de C_{0q} (a) y T_{ez} (b). Condiciones: Para las mediciones se empleó una radiación de Cu-K α de 1.54 Å, operado a 30 kV y 20 mA. El intervalo de medición analizado fue con un paso de 0.05° de 2θ sobre un rango angular de 20 a 100°. Los picos de cada difractograma representan los patrones lineales de las fases químicas, es decir que son reveladas las caras cristalógraficas de los compuestos. Esta prueba se enfocó solo en el contenido de C, considerando que este elemento determina la conductividad electrónica de las matrices.

5.1.2. Segunda etapa experimental

5.1.2.1. Identificación cualitativa de carbohidratos y otros compuestos

Los aluatos obtenidos de la extracción con placas en fase normal con eluciones de cloroformo-metanol-agua demostró la presencia de compuestos orgánicos. Cada placa de CCF se dividió en una serie de carriles, en donde fueron adicionados los agentes de revelación para llevar a cabo la separación por acción de capilaridad. Al analizar los resultados obtenidos se comprobó la presencia de una variedad de carbohidratos, entre ellos distintos tipos de azúcares reductores (**Figura 5.16**). El sistema radicular en conjunto posee de manera diferencial, una resaltante habilidad para secretar una gran diversidad de exudados. Muchas especies de macrófitas con vía C4 transfieren cerca del 70-80% de carbón fotosintetizado hacia las raíces, los azúcares comprenden gran parte de estos rizodepósitos, además de que fungen como preponderantes en la donación de electrones debido a su alta degradabilidad.

De los estándares utilizados se reveló el contenido de GLU, SAC, FRU y GAL para ambas muestras de exudados, las manchas a la mitad de cada carril de las placas muestran la revelación de cada compuesto en particular. En el carril 1 se utilizó un revelador universal (R_u), este exhibió la presencia de compuestos indeterminados, ninguna especie presentó una mancha en los carriles de AGA (carril 2), lo que determinó la inexistencia de exudación radicular de este tipo azúcar. Las manchas obtenidas con la placa de CCF de *Juncus effusus* (H-CCM₁) se observan con mayor definición en comparación con la placa de *Philodendron cordatum* (H-CCM₂). Con esto se puede intuir que existe una concentración mayor de estos compuestos, dicha hipótesis es comprobable mediante su cuantificación, aclarando que todas las pruebas de CCF fueron observadas con luz UV_{254nm} y cuantificadas por UHPLC.

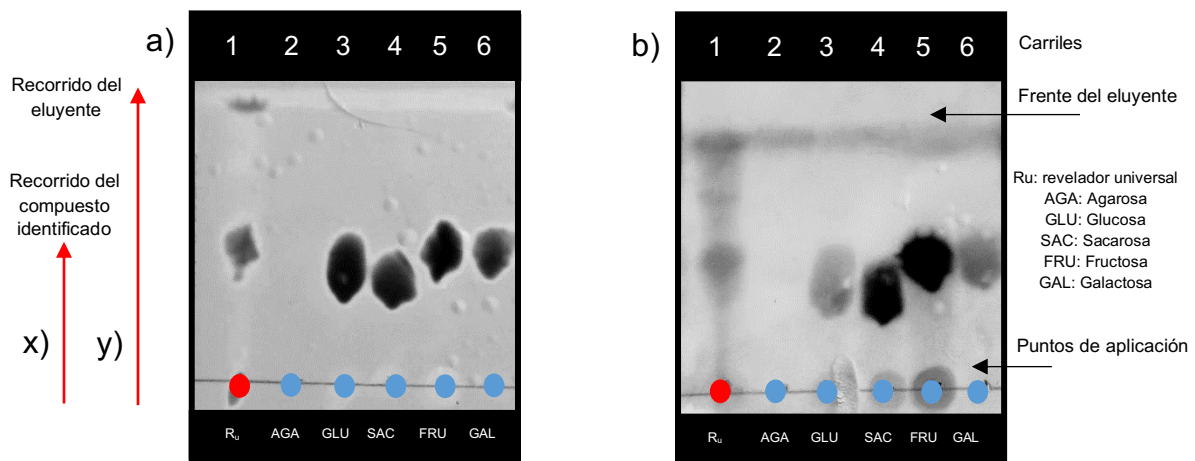


Figura 5.16. Revelación de azúcares por CCF a partir de exudados radiculares de *Juncus effusus* (a) y *Philodendron cordatum* (b).

La **Figura 5.17** muestra la revelación de terpenos, alcaloides y flavonoides de ambos extractos radiculares. Los primeros constituyen el grupo más abundante de los aceites vegetales, también son los responsables de muchos aromas y sabores específicos de las macrófitas. Estos exudados tienen funciones estructurales, tales como: la pigmentación fotosintética, acarreadores de electrones intracelulares, son reguladores de crecimiento y tienen importantes funciones en la membrana celular (Shrader y Bohlman, 2015). La mayoría de los terpenos son biológicamente activos con diligencias antibacterianas y antifúngicas (Perveen y Al, 2018). Los alcaloides son metabolitos secundarios que son sintetizados de los aminoácidos, permiten un desarrollo rizosférico ambientalmente favorable al mejorar las defensas contra el estrés biótico y abiótico (Matsuura y Fett-Neto, 2015). Esta versatilidad metabólica conduce a una mejora significativa en las tasas de supervivencia de las especies vegetativas que exudan este tipo de sustancias (Yang y Stockigt, 2010).

A diferencia de, los flavonoides son pigmentos que protegen las raíces de los daños producidos por agentes oxidantes, rayos UV, toxicidad, exposición patológica, etc. Muchos de estos compuestos liberados “intoxican” gran parte del área rizosférica a determinada magnitud, promoviendo un ambiente selectivo que beneficie su propio desarrollo (Peñarrieta et al., 2014). El rol primordial de los metabolitos mencionados (terpenos, alcaloides y flavonoides) es el de “protección y defensa” ante estímulos externos. El éxito de la vitalidad de cualquier grupo de flora se basa en su capacidad para reconocer ataques bióticos y promover vías de transducción que conducen a la biosíntesis de compuestos defensivos (Okada et al., 2015). Consecuentemente, en los H-CCM es la macrófita propia quien controla las condiciones fisicoquímicas y biológicas en la rizósfera, afectando directamente la composición de la comunidad microbiana, lo que a su vez repercute en el rendimiento bioelectroquímico.

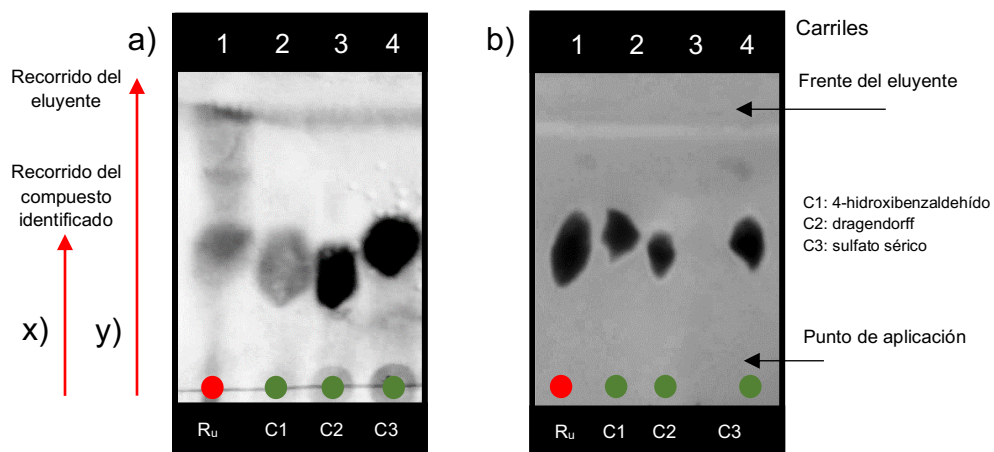


Figura 5.17. Revelación de terpenos (C1), alcaloides (C2) y flavonoides (C3) por CCF a partir de exudados radiculares. *Juncus effusus* (a) y *Philodendron cordatum* (b).

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y el eluyente desde el origen de la placa de CCF (fase móvil) se conoce como el Factor de Retención (F_R), este valor permanece constante para cada compuesto específico bajo condiciones cromatográficas de adsorción determinadas. El concepto de F_R expresa la posición de un compuesto sobre una placa (fase estacionaria) como una fracción decimal que mide la distancia de retención de un componente. Puesto que, es sumamente difícil reproducir exactamente las condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra debe realizarse eluyendo ambas placas simultáneamente, los resultados de este parámetro se utilizan como referencias para pruebas posteriores. Para calcular el valor de F_R se aplicó la siguiente expresión: $F_R = \text{distancia recorrida por el compuesto identificado (X)}/\text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}$ y los valores obtenidos se muestran en la siguiente **Tabla (5.9)**.

Tabla 5.9. Valores de F_R calculados en la identificación cualitativa de CCF de exudados.

Compuesto	Carril	Compuesto específico identificado	F_R
Azúcares obtenidos de <i>Juncus effusus</i>	1	Estándar	0.44
	2	AGA	NA
	3	GLU	0.32
	4	SAC	0.28
	5	FRU	0.44
	6	GAL	0.52
Azúcares obtenidos de <i>Philodendron cordatum</i>	1	Estándar	0.42
	2	AGA	NA
	3	GLU	0.32
	4	SAC	0.28
	5	FRU	0.40
	6	GAL	0.44
Otros compuestos obtenidos de <i>Juncus effusus</i>	1	Estándar	0.44
	2	C1	0.40
	3	C2	0.40
	4	C3	0.44
Otros compuestos obtenidos de <i>Philodendron cordatum</i>	1	Estándar	0.42
	2	C1	0.44
	3	C2	0.44
	4	C3	0.60

AGA: Agarosa
 GLU: Glucosa
 SAC: Sacarosa
 FRU: Fructosa
 GAL: Galactosa
 C1: Compuesto 1 (4-hidroxibenzaldehído)
 C2: Compuesto 2 (dragendorff)
 C3: Compuesto 3 (sulfato sérico)
 NA: No aplica

5.1.2.2. Cuantificación de carbohidratos

5.1.2.2.1. Implementación del método cromatográfico (UHPLC)

En la **Figura 5.18** se muestra el cromatograma obtenido bajo las condiciones descritas en la sección **4.1.2.2.1.1** a una concentración de 0.5 mg/L (muestras estándar). Se observa que los picos cromatográficos de los compuestos son geométricos e intensos, además de que los T_r permiten que no haya solapamiento entre las señales, ni que el frente del solvente interfiera en el análisis. Por tal motivo, las condiciones de operación obtenidas se consideran adecuadas para el análisis de los compuestos. El valor numérico que se observa en el gráfico, representa los T_r de cada tipo de azúcar cuantificada de los compuestos estándar.

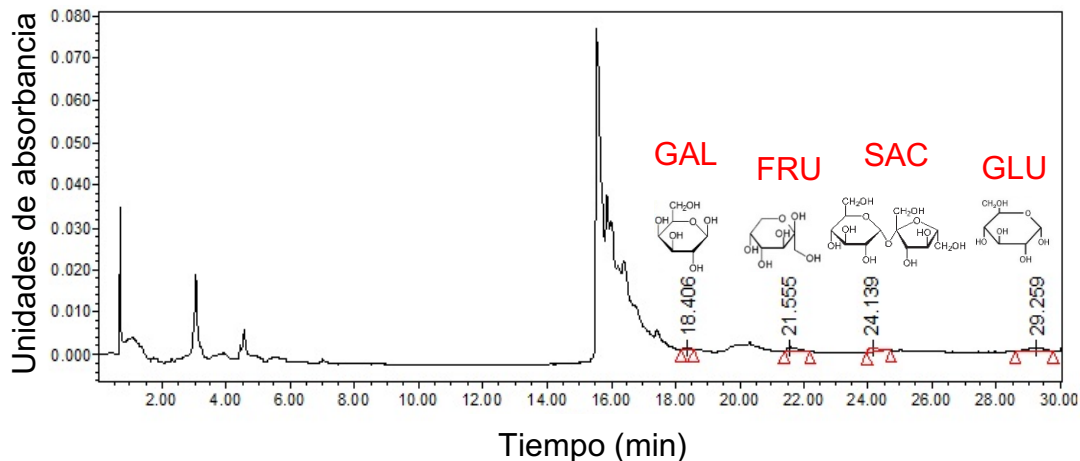


Figura 5.18. Cromatograma de los azúcares estándar a 0.5 mg/L.

La relación absorbancia/concentración debe tener un comportamiento lineal en el intervalo de estudio. La ley de Beer-Lambert describe que la relación entre la cantidad de energía a una longitud de onda que llega al fotodiodo y la concentración de la muestra en la celda cromatográfica debe ser lineal, donde el incremento en la concentración de los compuestos puede implicar la desviación de la linealidad entre esta relación. La linealidad se obtuvo trazando las curvas de calibración de los compuestos a concentraciones de 0.0-0.5 mg/L (**Figura 5.19**). Posteriormente se efectuó un análisis de regresión lineal, graficando el área bajo la curva de cada compuesto (y) contra su concentración (x = mg/L). En todos los casos se obtuvo una ecuación lineal $y = mx + b$ y los coeficientes de regresión (R^2) fueron de 0.99. No se realizó una curva de calibración para AGA porque en la prueba de CCF no fue detectado en los exudados de ninguna especie.

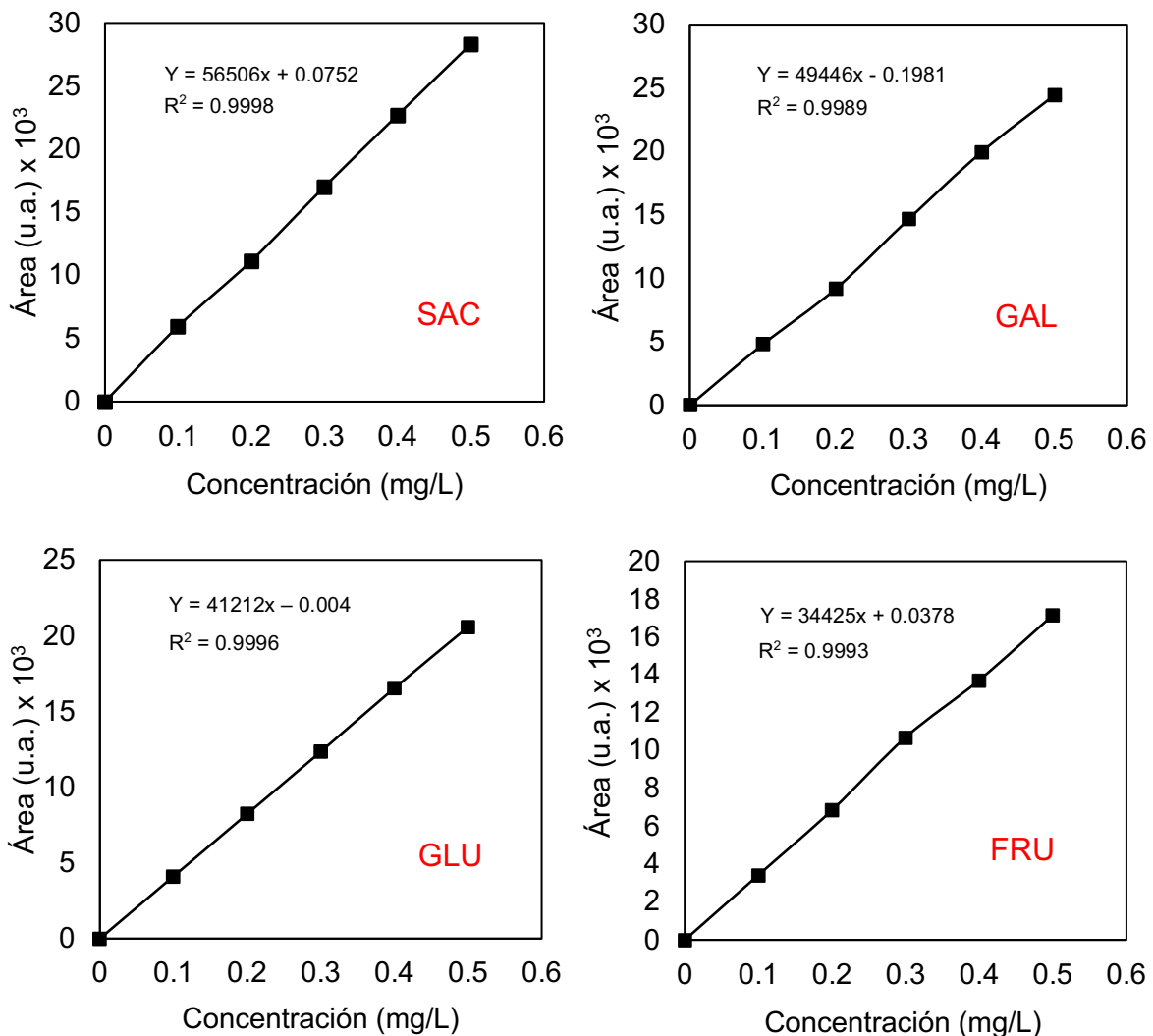


Figura 5.19. Curvas de calibración de los azúcares.

Una vez trazadas las curvas de calibración, se realizaron pruebas preliminares para evaluar la precisión del método. Se realizaron pruebas con concentraciones estándar bajas y altas del intervalo de estudio de 0.1 y 0.5 mg/L como se muestra en la **Figura 5.20**. Posteriormente se realizó un análisis estadístico, donde la desviación estándar fue menor a 1% ($\sigma = 0.05, 0.05, 0.01$ y 0.01 para GLU, SAC, GAL y FRU respectivamente), considerando como el 20% el valor máximo de criterio de aceptación. La exactitud del método se evaluó mediante el porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de anolito (0.5 mg/L) ($\% \text{ recuperación} = (\text{concentración cuantificada promedio} / \text{concentración teórica}) * 100$) de los azúcares. Los porcentajes de recuperación son superiores a 90%, por lo cual la metodología de cuantificación es considerada adecuada.

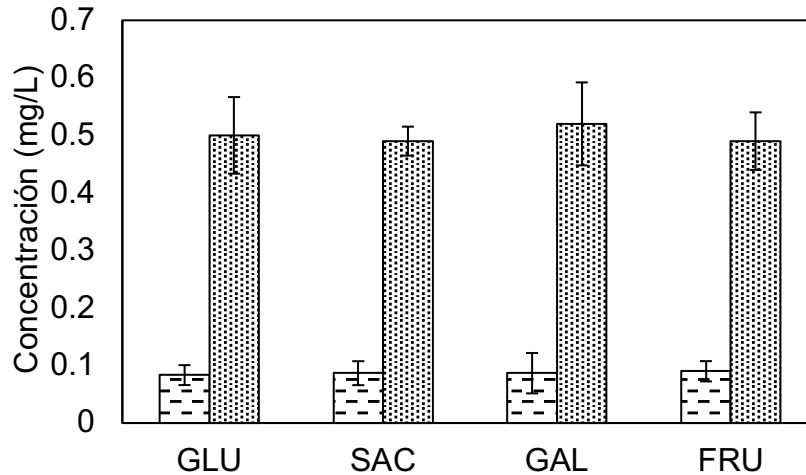


Figura 5.20. Concentración teórica y estándar determinada para cada compuesto. Las barras de error representan la desviación estándar (n=3).

5.1.2.2.2. Cuantificación de azúcares a partir de exudados radiculares

En términos de cromatografía, el T_r es el tiempo que un compuesto tarda en recorrer la columna cromatográfica. Este se asigna al pico correspondiente si la columna y todas las condiciones de funcionamiento se mantienen constantes, los compuestos deberán ser detectados en los mismos segmentos. En los cromatogramas que se presentan en las **Figuras 5.21 y 5.22** se muestran los registros de separación física de los componentes en un gráfico bidimensional y los T_r (min) de cada tipo de azúcar que se identificó y cuantificó por muestra de exudados. Las especies *Juncus effusus* (H-CCM₁) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₂) segregaron GAL, FRU, SAC y GLU como exudados en diferentes cantidades, entre los minutos 25-26 de cada corrida experimental se presenciaron dos compuestos que no fueron identificados.

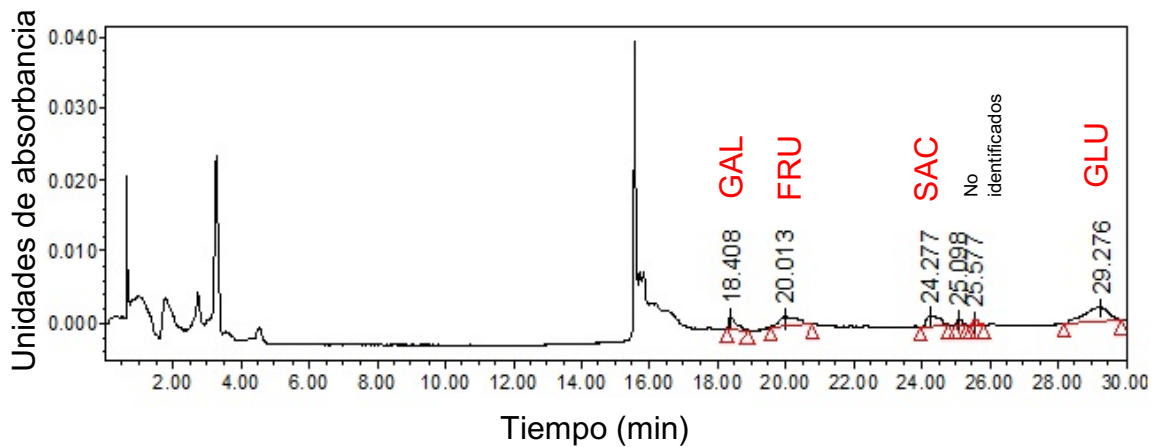


Figura 5.21. Azúcares obtenidos de los exudados de *Juncus effusus*.

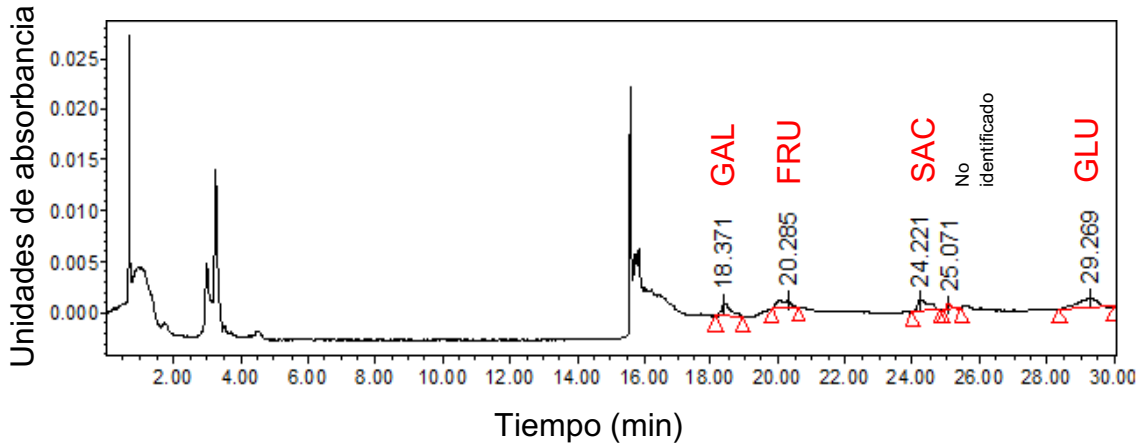


Figura 5.22. Azúcares obtenidos de los exudados de *Philodendron cordatum*.

La **Figura 5.23** muestra la producción de azúcares obtenida en la rizósfera (cámara aerobia: CAM₁) de ambas especies de macrófitas. La configuración innovadora de este nuevo diseño de H-CCM, permitió cuantificar la producción y consumo de carbohidratos al utilizar una membrana PEM para dividir las cámaras. En el gráfico se observan dos barras que muestran la cuantificación de cada compuesto, la barra 1 representa la producción de azúcares por rizodeposición, la barra 2 se refiere a la cantidad obtenida después del consumo por parte de la biopelícula, proceso llevado a cabo en la cámara anaerobia (CAM₂). De los diferentes compuestos evaluados, fueron identificados tres tipos de monosacáridos (GLU, GAL y FRU) y un disacárido (SAC), la SAC fue el tipo de azúcar que se exudó en mayor cantidad. Los resultados demostraron una biodegradabilidad parcial de todos los compuestos en la CAM₂.

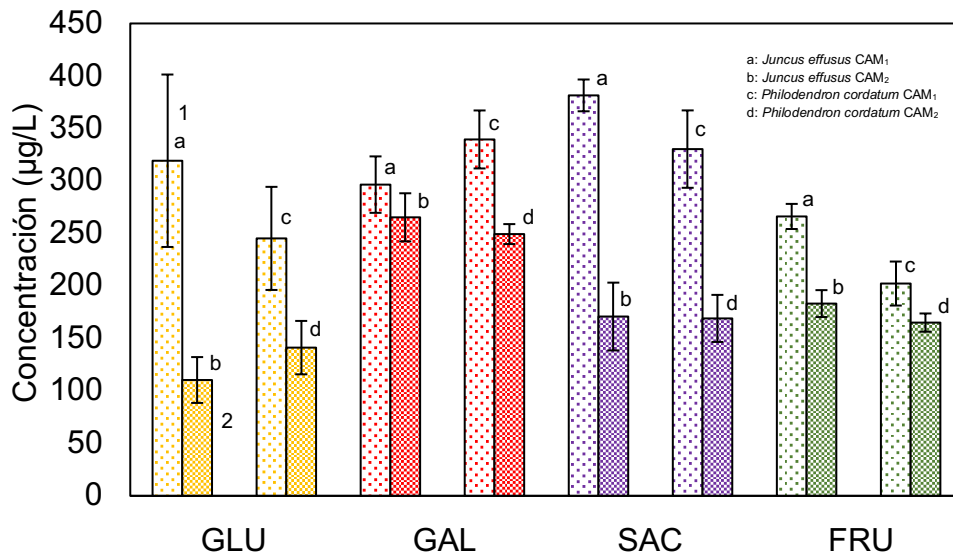
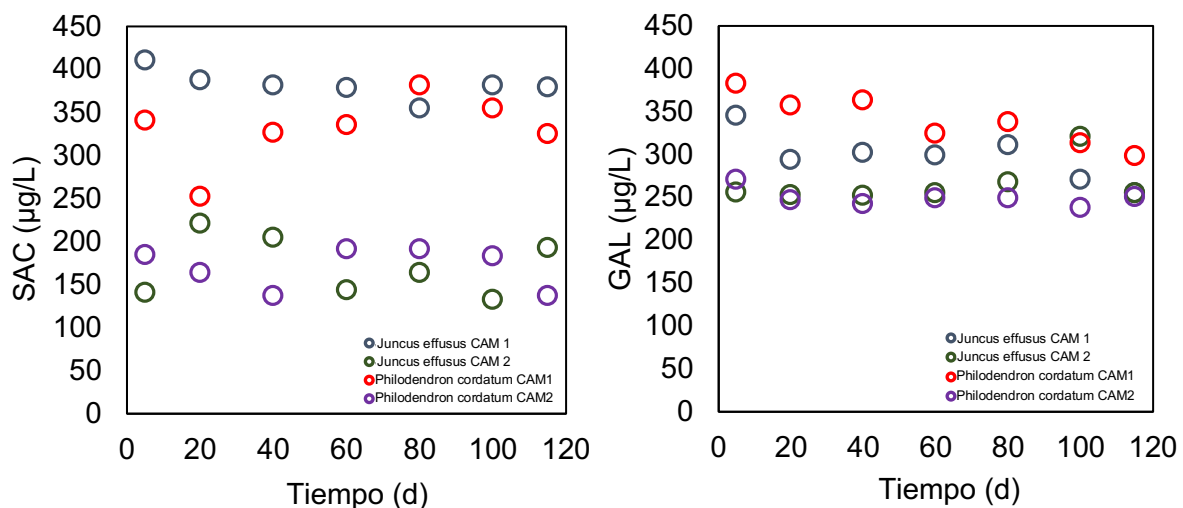


Figura 5.23. Cuantificación de azúcares a partir de exudados radiculares.

La diferencia entre las cantidades producidas es atribuida a dos principales razones, la primera es por el tipo de vía fotosintética en la fijación de CO₂, considerando que *Juncus effusus* pertenece a la vía C3 y *Philodendron cordatum* a C4. Teóricamente la segunda especie tiene mayor capacidad para segregar sustratos orgánicos, sin embargo, *Juncus effusus* (H-CCM₁) produjo mayores cantidades de GLU, SAC y FRU en la CAM₁, con valores de 319.21 ±82.13, 381.48 ±15.1 y 266.15 ±11.95 µg/L respectivamente. *Philodendron cordatum* (H-CCM₂) solo produjo mayor GAL (339 ±27.61 µg/L). La segunda razón es debido a la densidad de raíces extendidas en la rizósfera, fisiológicamente *Juncus effusus* posee superior densidad radicular, es decir que cuenta con más sitios activos de exudación. Los carbohidratos surgieron de la conversión fotosintética de materia, en la respiración vegetal se oxidan estos compuestos que aportan la energía necesaria para el desarrollo de la macrófita. En la biosíntesis se forman productos intermedios que son excretados a través de las raíces por la respiración mitocondrial, la cantidad de exudados dependerá de las condiciones ambientales en las que se encuentran y de la estructura anatómica que poseen las macrófitas. Por consiguiente, la exudación de algunos carbohidratos (GLU, SAC y FRU) puede tardar minutos, horas o días dependiendo de la velocidad respiratoria de la especie. El proceso puede ser aún más tardío si no cuenta con la suficiente luminosidad solar. La oscuridad disminuye la exudación de un 40-50%, debido a una respiración más lenta, donde se utilizan las reservas de carbohidratos para llevar a cabo reacciones bioquímicas (Atkin et al., 2000; Zhang et al., 2016).

En la siguiente **Figura (5.24)** se presenta el comportamiento de la exudación de los azúcares en la rizósfera y su respectiva biodegradación. Las concentraciones de los exudados de SAC, GAL y FRU con *Juncus effusus* se mantuvieron constantes, en rangos de 350-400, 280-340 y 260-290 µg/L respectivamente. En cambio, la GLU presentó una ligera fluctuación, en el primer muestreo se registró un valor de 314 µg/L (día 5) y entre los días 20-80 se presentó un incremento hasta ~400 µg/L.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

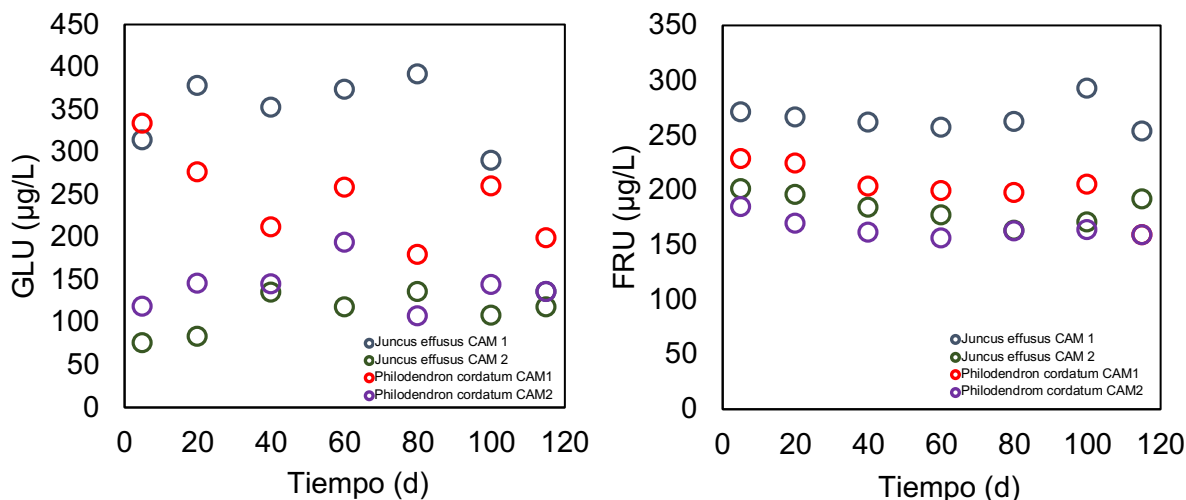


Figura 5.24. Producción y consumo de azúcares obtenidos de exudados radiculares.

Las concentraciones cuantificadas en el efluente (CAM₂) se mantuvieron dentro de rangos de 130-190, 235-270, 105-190 y 155-185 µg/L para SAC, GAL, GLU y FRU respectivamente. La SAC fue el tipo de azúcar que se produjo en mayor cantidad y la GLU el sustrato de mayor consumo. Los porcentajes de biodegradabilidad fueron de: 65 (GLU), 10 (GAL), 55 (SAC) y 30 (FRU) %.

Con *Philodendron cordatum*, los exudados de GAL y GLU de la CAM₁ presentaron un ligero decaimiento desde el inicio de la operación, ambos presentaron valores en rangos de 300-380 y 180-330 µg/L respectivamente. La SAC y FRU permanecieron semiconstantes, con valores de ~350 y ~225 µg/L. La tendencia en la CAM₂ tiene un comportamiento similar, las concentraciones son 115-190 (SAC), 240-270 (GAL), 105-140 (GLU) y 150-180 (FRU) µg/L. El compuesto con mayor biodegradabilidad fue la SAC (45%), seguido de la GLU (42%), GAL (27%) y FRU (18%). En la **Tabla 5.10** se muestra la cuantificación porcentual de azúcares totales.

Tabla 5.10. Composición de azúcares obtenidos de los exudados radiculares en la CAM₁.

Reactor	Especie de macrófita	Composición de azúcares (%)
H-CCM ₁	<i>Juncus effusus</i>	Glucosa: 23.2% Galactosa: 21.3% Sacarosa: 34.1% Fructosa: 21.1% Agarosa: 0%
H-CCM ₂	<i>Philodendron cordatum</i>	Glucosa: 21.9% Galactosa: 30.1% Sacarosa: 29.1% Fructosa: 18.3% Agarosa: 0%

Los resultados demostraron que la SAC y GLU son sustratos fotosintéticos con alta afinidad con la biopelícula anódica, misma que se desarrolló particularmente por especie de macrófita. Dicha afirmación se puede apreciar en la **Figura 5.25**, el anillo interno de la siguiente gráfica representa la producción azúcares totales en la CAM₁, el anillo externo muestra los porcentajes de consumo por la biopelícula (valores de biodegradabilidad) en la CAM₂ de cada tipo de azúcar en particular. Por ejemplo, en la rizósfera de *Juncus effusus* se produjo un total de 23% de GLU, de esta cantidad el 65% fue oxidado en la CAM₂, así sucesivamente para cada tipo de azúcar.

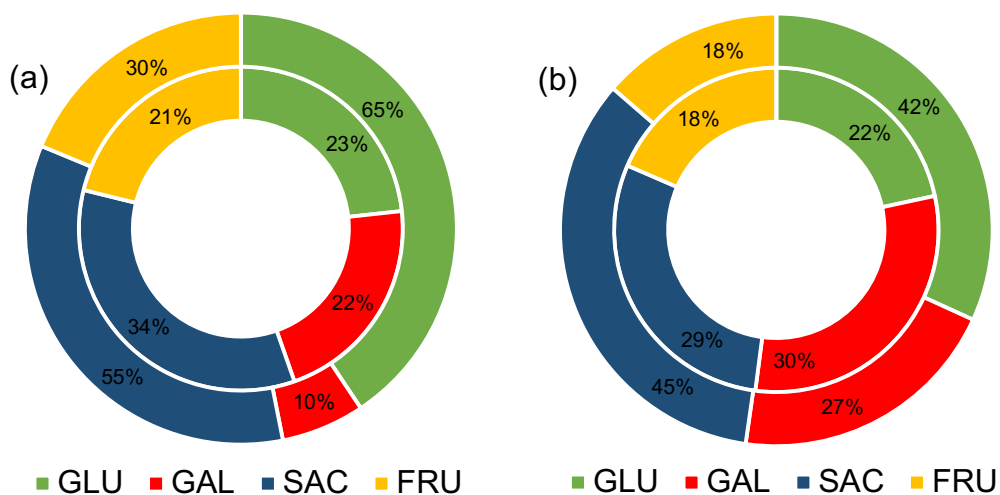


Figura 5.25. Gráfica de anillo que visualiza la producción y consumo de azúcares. *Juncus effusus* (a) y *Philodendron cordatum* (b).

Los estudios que involucran mecanismos mediante los cuales las macrófitas pueden interactuar con su entorno son sumamente complejos, principalmente a causa de la gran diversidad de estrategias que estas utilizan para tales fines. La exudación de los compuestos orgánicos de *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum* no es una excepción. La síntesis de los carbohidratos estudiados surgió de la fotosíntesis, bioquímicamente el carbón se exporta desde los cloroplastos hasta las raíces. Por ejemplo, en el citosol las moléculas triosas-fosfato son oxidadas mediante la vía de la glucólisis para formar la FRU. La síntesis de SAC se regula por la disponibilidad de sintetizar de UTP (trifosfato de uridina) a UDP (difosfato de uridina) y también por el estado de la fosforilación que puede modularse alostéricamente por cambios en las concentraciones de fósforo inorgánico (Pi). La SAC producida puede ser transportada a diferentes partes de la macrófita o ser almacenada localmente en vacuolas y posteriormente degradada por enzimas para entrar en determinadas vías oxidativas, de acuerdo con las rutas metabólicas en el ciclo de Calvin (Atkin et al., 2000). Finalmente, cuando el transporte y reparto de azúcares hacia los órganos heterotróficos a través del floema son cubiertos, muchos de estos compuestos son expulsados por el sistema radicular (Hennion et al., 2019).

Los factores ambientales, tanto bióticos como abióticos, afectan la asignación de azúcares hacia las raíces y las bacterias que habitan la rizósfera (Lemoine et al., 2013). Existen diferentes vías de descarga de azúcares, por ejemplo, la SAC puede salir del floema siguiendo la vía simpática o apoplástica, la exudación ocurre en el protofloema, un tejido transitorio conectado con el floema conductor. Las descargas de exudados dependen directamente del suministro de CO₂, ya que la cantidad de ramificaciones aumentan con alta actividad fotosintética. La mayoría de macrófitas acumulan carbohidratos en la rizósfera para adaptarse a condiciones salinas que pudieran estar presentes en su entorno. Otra función es la quimioatracción, la GLU y SAC son los más eficientes (Badri et al., 2013), existen sustratos fotosintéticos específicos para bacterias específicas, autores han propuesto que la exudación puede aumentar cuando la biopelícula es enriquecida con inóculos, razón por la cual fueron mayoritariamente consumidos en este experimento (Durand et al., 2018).

Los mecanismos moleculares involucrados en el transporte de azúcares desde la descarga del floema hasta la deposición del suelo siguen siendo en gran medida desconocidos. Existen factores abióticos que pueden afectar la exudación, en caso de una deficiencia mineral, las macrófitas acumulan azúcares en las hojas mientras que la exportación se ve afectada, el déficit de agua también perturba los flujos de fotosintatos. Los estudios que investigan el mecanismo de transporte de exudados tienden a mostrar una relación entre el flujo de carbón y la regulación transcripcional de varios transportadores. Todavía se requieren grandes esfuerzos para determinar claramente el papel funcional de estos transportadores y el destino de los azúcares como respuesta adaptativa a las condiciones rizosféricas (Hennion et al., 2019; Braun et al., 2016). En la **Tabla 5.11** se reporta el contenido de algunos tipos de azúcares presentes en la rizósfera de diferentes grupos de flora.

Tabla 5.11. Concentración de carbohidratos en exudados radiculares.

Flora	Exudado radicular	Concentración	Referencia	Flora	Exudado radicular	Concentración	Referencia
<i>Medicago truncatula</i>	Sacarosa	38 µg/mg	(Doity et al., 2012)	<i>Gossypium</i>	Fructosa	0.2 g/kg	(He et al., 2020)
	Glucosa	11 µg/mg			Ramnosa	5.2 g/kg	
	Fructosa	13 µg/mg			Arabinosa	6.4 g/kg	
	Rafinosa	0.6 µg/mg			Galactosa	6.1 g/kg	
	Trehalosa	0.5 µg/mg			Glucosa	65.3 g/kg	
<i>Carex montana</i>	Carbohidratos totales	19%	(Janecek y Klimesova, 2014)	<i>Phoenix pussilla</i>	Carbohidratos totales	14.08%	(Pradeep et al., 2020)
<i>Vitis vinifera</i>	Sacarosa	5 ng/µL	(Zhao et al., 2016)	<i>Juncus effusus</i>	Sacarosa	350-400 µg/L	En este estudio
	Galactosa	5 ng/µL			Glucosa	314-400 µg/L	
	Lactosa	5 ng/µL			Fructosa	260-290 µg/L	
	Ribosa	50 ng/µL			Galactosa	115-345 µg/L	
<i>Himatanthus sucuuba</i>	Sacarosa	51.05 mg/g	(Ferreira et al., 2009)	<i>Philodendron cordatum</i>	Sacarosa	250-350 µg/L	En este estudio
	Glucosa	33.09 mg/g			Glucosa	180-330 µg/L	
	Fructosa	8.70 mg/g			Fructosa	200-230 µg/L	
					Galactosa	300-380 µg/L	

5.1.2.3. Cuantificación de AGV

El suelo rizosférico se encuentra interactuando con compuestos de bajo peso molecular como los ácidos orgánicos y muchas otras sustancias, cuya dinámica de sorción se desconoce. Los ácidos orgánicos están involucrados en la regulación de una amplia gama de procesos celulares, estos representan compuestos de carbón en células vegetales que se encuentran implicados en diferentes vías bioquímicas de la rizodeposición, tales como: la glucólisis, el ciclo de Krebs, la fotorrespiración y la vía C4 (Penfield et al., 2012; Medeiros et al., 2016). Por esta razón controlan parte de los procesos bioquímicos y fisiológicos que se llevan a cabo en la rizósfera.

En la **Figura 5.26** se muestra la cantidad de exudación de AGV producida en la CAM₁ y la desechada por la biopelícula en la CAM₂, cuya diferencia representa la asimilación biológica. *Juncus effusus* (H-CCM₁) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₂) produjeron cantidades de 16.56 ±1.30 y 10.70 ±1.55 mg/L como fotosintatos, en los efluentes se presentaron valores de 9.96 ±1.50 y 5.10 ±0.76 mg/L, de manera que cerca del 40 y 51% se utilizó como biocombustible respectivamente. Es por eso que se propuso evaluar los AGV como un sustrato endógeno, donde estos compuestos contribuyeron en la donación de electrones al ser sintetizados metabólicamente. Los roles que desempeñan dichos compuestos aún no han sido identificados de forma específica (Drincovich et al., 2016; Ibarra, 2011), pero existen evidencias de que los ácidos orgánicos coadyuvan con el crecimiento fisiológico, la tasa fotosintética, en el intercambio de gases, la osmorregulación y actividades enzimáticas presentes en el metabolismo de las macrófitas (Dyson et al., 2016).

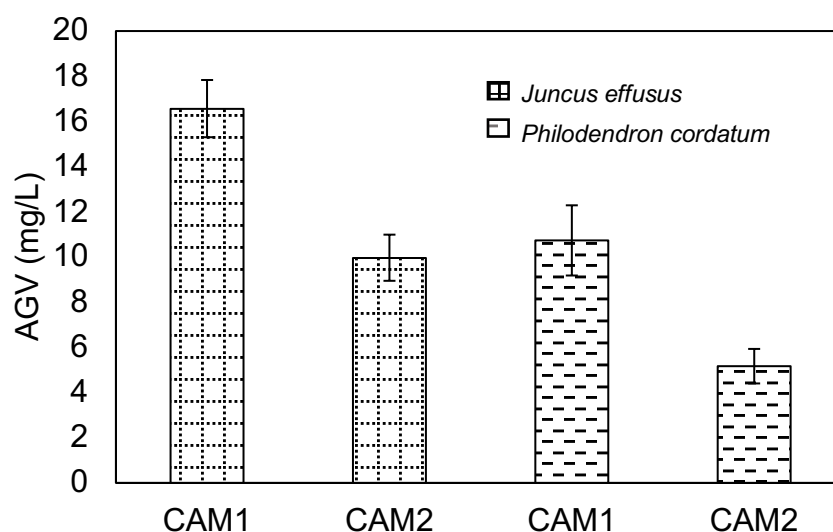


Figura 5.26. Producción y consumo de AGV obtenidos de exudados radiculares.

Se han identificado distintos tipos de exudados, entre ellos destacan: los azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, flavonoides, fenoles y vitaminas. De los diferentes tipos de azúcares se han encontrado: arabinosa, fructuosa, sacarosa, glucosa, maltosa, manosa, entre otros (Ibarra, 2011). Entre los aminoácidos se encuentran: la arginina, asparginina, cisteína y glutamina. También se identificaron los ácidos acético, ascórbico, benzoico, ferúlico, málico, etc (Ponce et al., 2004). En la mayoría de estos compuestos aislados se han reportado sus actividades y funciones, con los experimentos realizados en esta investigación, se adicionó una nueva función de utilidad de los exudados como se muestra en la **Tabla 5.12**. Hasta el momento, no existen reportes publicados sobre identificación de exudados específicos con las especies de macrófitas evaluadas en este estudio.

Tabla 5.12. Compuestos orgánicos identificados en exudados radiculares. Modificado de Oliveros-Bastidas et al. (2009).

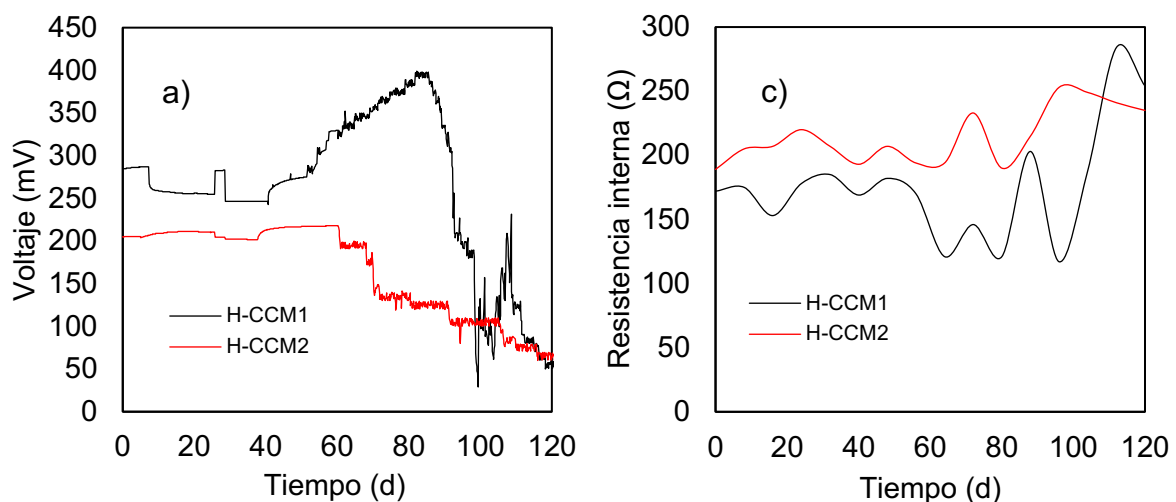
Clase	Ejemplos	Función reportada
Carbohidratos	Arabinosa, glucosa, fructuosa, galactosa, maltosa, ramosa, ribosa, sacarosa y ribosa	Proveer un ambiente favorable para el crecimiento fisiológico
Aminoácidos	Aminoácidos proteicos, ácido aminobutírico, homoserina, cistationina y ácido mugineico	Inhibidor de factores abióticos
Ácidos orgánicos alifáticos	Fórmico, acético, butírico, propiónico, maleico, cítrico, isocítrico, oxálico, fumárico, malónico, succínico, tartárico, oxaloacético, pirúvico, oxalogutárico, glicólico, siquímico, acetónico, valérico y glucónico	Reguladores del crecimiento de flora y efecto inhibitor
Ácidos orgánicos aromáticos	<i>p</i> -hidroxibenzoico, cafeico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico, gálico, gentísico, protocatecuico, salicílico, sináptico y siringico	Efecto estimulante
Fenólicos	Flavonoides, flavonas, flavononas, antocianinas e isoflavonoides	Inhibidor o estimulante del crecimiento
Ácidos grasos	Linoleico, linolénico, oleico, palmítico y esteárico	Reguladores de crecimiento
Esteroides	Compesterol, colesterol, sitosterol y estigmasterol	Reguladores de crecimiento
Azúcares y ácidos orgánicos	Glucosa, sacarosa, galactosa fructosa y ácidos orgánicos volátiles	Sustrato orgánico endógeno

Las diferentes interacciones que pueden presentarse entre los entes bióticos de la rizósfera y las macrófitas son multidisciplinarias. El estudio de la diversidad de compuestos liberados por las raíces, nos acerca a comprender mejor la naturaleza simbiótica con los microorganismos. Por parte de un H-CCM, la biopelícula anódica también cuenta con una elevada actividad biológica, es decir que las bacterias son una variable crucial en el rendimiento bioelectroquímico. Los sustratos orgánicos segregados pueden interactuar de forma directa o indirecta con cada una de las diferentes bacterias presentes. Por ese motivo, entender las diferentes acciones que los exudados pueden realizar, es relevante para dilucidar las causas de los patrones en las comunidades poblacionales que puede soportar cada macrófita.

5.1.2.4. Producción de bioelectricidad

En la **Figura 5.27** se muestra la evaluación bioelectroquímica con *Juncus effusus* (H-CCM₁) y *Philodendron cordatum* (H-CCM₂) en su nuevo diseño. Respecto a la producción de voltaje (**Figura 5.27a**), este tuvo poca oscilación en los primeros 50 días de operación, durante este tiempo de estabilidad, se mantuvieron con valores de ~270 (H-CCM₁) y ~200 (H-CCM₂) mV respectivamente. Después, el primer reactor presentó una tendencia creciente y constante hasta el día 80, en ese punto se registró un máximo voltaje de 399 mV, con una DP correspondiente de 63.7 mW/m² como se aprecia en la **Figura 5.27b** y una PV de 15.9 W/m³ (**Tabla 5.13**). Luego se observó una caída sustancial hasta el día 99, entre los días 100-120 se registró una fluctuación de 30-230 mV. La R_{int} (**Figura 5.27c**) se mantuvo dentro de un rango de 100-280 Ω, mientras que los potenciales (**Figura 5.27d**) perduraron cerca -350 (PA) y 150 mV (PC) a lo largo de todo el experimento.

Los resultados obtenidos son muy similares a los publicados por Liu et al. (2019^a), quienes reportaron que durante los primeros 40 días de operación, la producción de bioelectricidad se mantuvo constante con la especie *C. indica*. 20 días después de esta fase, se presentó un aumento significativo, punto donde registraron un máximo voltaje de 777 mV y una DP de 8.05 mW/m², posteriormente observaron un decaimiento hasta 100 mV (día 80). Discutieron que este comportamiento es causado principalmente por factores biológicos, en especial por la biopelícula. Nguyen et al. (2019) describen que durante las primeras semanas de operación de un H-CCM, existe un periodo de adaptación en la comunidad microbiana, en el cual los voltajes comúnmente se mantienen estables. Una vez aclimatados los microorganismos, es común apreciar abruptamente la generación de electrones y protones por el intenso consumo de sustrato. Concluida la fase exponencial del crecimiento microbiano, los voltajes tienden a disminuir intensamente.



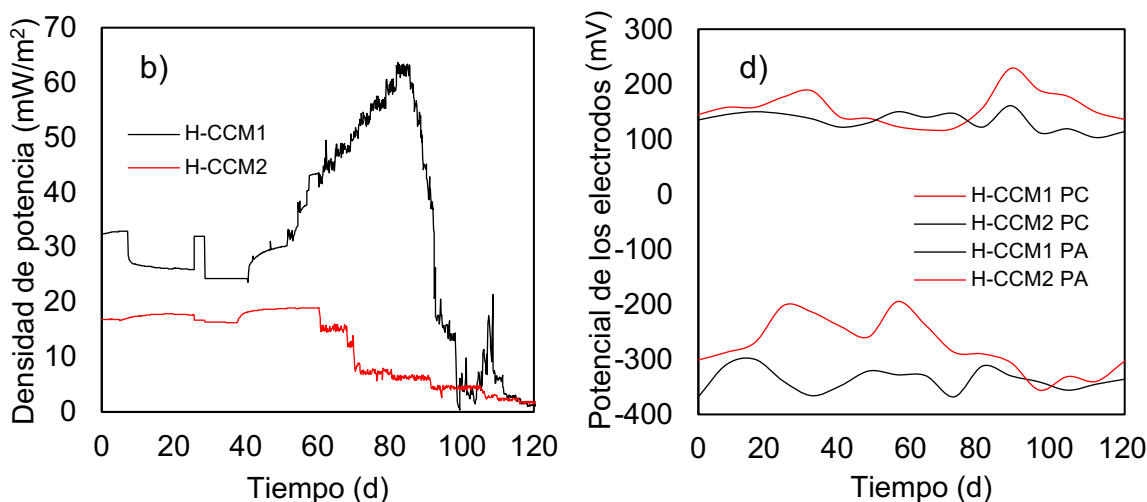


Figura 5.27. Producción de voltaje (a), densidad de potencia (b), resistencia interna (c), y potencial de los electrodos (d) obtenidos de los H-CCM₁ y H-CCM₂.

Algunos estudios han reportado esta tendencia al incrementar o disminuir las cargas orgánicas cuando utilizan aguas residuales (Wang et al., 2017^b; Lu et al., 2017). Pero en el caso de los sustratos fotosintéticos, el descenso de la curva de bioelectricidad se atribuye a una disminución en la liberación de exudados.

Tabla 5.13. Máximo rendimiento bioelectroquímico del sistema de H-CCM (Etapa 2).

Reactor	Especie de macrófita	Voltaje (mV)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Potencia volumétrica (W/m ³)	Potencial anódico (mV)	Potencial catódico (mV)
H-CCM ₁	<i>Juncus effusus</i>	399	63.7	15.9	-368	229
H-CCM ₂	<i>Philodendron cordatum</i>	228	20.1	5.2	-356	161

El caso del H-CCM₂ (*Philodendron cordatum*) tuvo un comportamiento diferente, hasta el día 59 el voltaje se mantuvo pseudoconstante (~200 mV), después del día 60 se observó un decremento gradual, luego decayó hasta 100 mV en el día 90. De los días 61-120 el descenso de voltaje tuvo un compartimiento paulatino, donde la tensión no fue intrigante. El máximo rendimiento fue de 228 mV, con una DP y PV de 20.1 mW/m² y 5.2 W/m³ respectivamente. La R_{int} presentó poca oscilación, esta se mantuvo entre 200-250 Ω. El PC permaneció semiestable, con valores cercanos a 125 mV, el PA se mantuvo aproximado a -300 mV. La poca variación de bioelectricidad de este reactor se atribuye a un equilibrio entre el suministro de sustrato y su oxidación (Logan et al., 2006). La biopelícula puede formarse en cuestión de días y alcanzar una fase estacionaria en la generación de bioenergía casi de inmediato. Tanto el H-CCM₁ y el H-CCM₂ presentaron pocas fluctuaciones en los rendimientos de R_{int}, PA y PC, lo que significa que la

implementación de la membrana PEM prevaleció las condiciones requeridas en cada cámara para llevar a cabo una alta oxidación de los exudados en el ánodo y una conveniente reducción de oxígeno en el cátodo. Supuesta afirmación se comprueba con los patrones obtenidos en los potenciales de los electrodos al mantener condiciones redox negativas (ánodo) y positivas (cátodo).

Las curvas de polarización se determinaron al término de la experimentación (día 121), con esta prueba se evaluó el comportamiento de los H-CCM normalizando el área anódica superficial como se observa en la **Figura 5.28**. Con la especie *Juncus effusus* (H-CCM₁) se registró el mayor rendimiento, quien con la R_{ext} de 560Ω produjo una DP de 38 mW/m^2 , con una correspondiente DC de 164 mA/m^2 . *Philodendron cordatum* presentó el máximo potencial con la misma R_{ext} (560Ω), cuya DP y DC fueron de 34 mW/m^2 y 156 mA/m^2 . Los resultados de VCA fueron de 670 (H-CCM₁) y 508 (H-CCM₂) mV respectivamente.

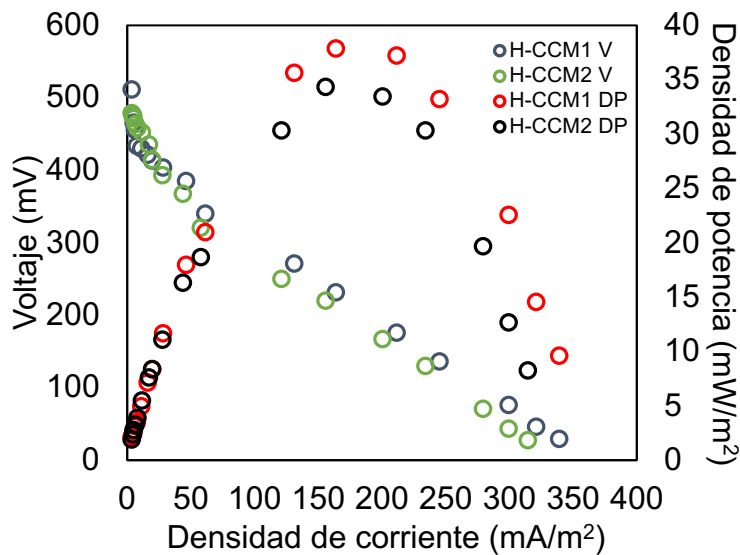


Figura 5.28. Curvas de polarización obtenidas de los H-CCM.

El comportamiento de la polarización de ambas celdas indicó que con bajas DC ($0\text{-}50 \text{ mA/m}^2$), se produjeron mayores pérdidas por activación, con medianas DC ($51\text{-}200 \text{ mA/m}^2$) prevalecieron las pérdidas óhmicas y a altas DC ($>200 \text{ mA/m}^2$) destacaron las pérdidas por concentración. Las pérdidas de activación se aluden a la fermentación de los exudados, en esta área de la curva se obtuvo mayor energía metabólica para las bacterias, pero menor bioelectricidad alcanzable para los H-CCM. La presencia de R_{int} revela que la tasa de oxidación por las bacterias limitó el transporte directo de electrones en el ánodo, dicho fenómeno implica que las áreas superficiales de los electrodos con biopelícula adherida desempeñaron un efecto nominal sobre las pérdidas de DC. Sin embargo, las mayores pérdidas de R_{int} se atribuyen a la resistencia de los electrodos, donde se ha demostrado

una correlación con el aumento progresivo de la DP y la disminución de la R_{int} con el uso de membranas. Por ejemplo, en las curvas de polarización de los estudios de Wang et al. (2017^a), Song et al. (2017), Xie et al. (2018) y Zaman y Wardhana (2018) produjeron una DP de 3.02, 4.50, 1.53 y 0.17 mW/m² respectivamente, también reportaron una $R_{int} > 450 \Omega$. En sus trabajos experimentales no utilizaron algún tipo de separador de cámaras o membrana. En cambio, en los estudios de Villasenor et al. (2013), Srivastava et al. (2017), Strik et al. (2008), Sophia y Sreeja (2017) obtuvieron DP de 43, 31, 63 y 222 mW/m² respectivamente, con una $R_{int} < 450 \Omega$, quienes implementaron membranas de bentonita de calcio, fibra de vidrio, arcilla e intercambio catiónico. En todos estos casos se produjo mayor DP a medida que disminuyen las pérdidas óhmicas. El rendimiento obtenido de este estudio, es similar comparado con el de Kumar et al. (2018), ellos reportaron una máxima DP de 42 mW/m² (vs 38 mW/m²) con una membrana de Terracota. Cabe aclarar que el uso de separadores es solo una de las muchas herramientas que pueden potencializar la DP y por ende, la disminución de pérdidas óhmicas, esto al mejorar las condiciones redox requeridas por cada cámara.

5.1.2.4.1. Efecto de la temperatura

Recientemente han descubierto que la influencia de los factores abióticos en la generación de bioelectricidad es mayor que la de los factores bióticos (Liu et al., 2019^b), por eso el impacto de la temperatura en dispositivos bioelectroquímicos es digno de atención para realizar investigación. En la **Figura 5.29** se muestra el monitoreo de la temperatura en diferentes puntos estratégicos de la configuración de los H-CCM. Esta prueba se realizó 30 días después de haberse iniciado la operación (día 31), punto en el que los voltajes permanecieron semiconstantes.

Tanto las temperaturas del ánodo ($T_{\text{ánodo}}$), cátodo ($T_{\text{cátodo}}$) y ambiente ($T_{\text{ambiental}}$) siguieron el mismo patrón lineal de comportamiento, la $T_{\text{ambiental}}$ presentó mayor oscilación (16-34°C), seguido de la $T_{\text{cátodo}}$ (20-30°C) y la $T_{\text{ánodo}}$ (26-33°C). Esta prueba inició a las 9:00 hrs, en ese tiempo los primeros registros de temperatura fueron de 24, 27 y 30°C respectivamente. Durante las siguientes 4 hrs (9:00-13:00 hrs) se presentó una tendencia creciente en todos los casos, donde las máximas temperaturas fueron de 34 ($T_{\text{ambiental}}$), 30 ($T_{\text{cátodo}}$) y 33 ($T_{\text{ánodo}}$) °C. En este mismo intervalo se presentaron los mayores voltajes, cuyos registros fueron de 274 mV (H-CCM₁) y 200 (H-CCM₂) mV. La $T_{\text{ánodo}}$ presentó mayor temperatura en todo momento, esto en virtud de que en la cámara anódica se realiza la acción biológica, además de encontrarse aislada atmosféricamente. Entre las 13:00-5:00 hrs las temperaturas descendieron hasta 16 ($T_{\text{ambiental}}$), 20 ($T_{\text{cátodo}}$) y 26 ($T_{\text{ánodo}}$) °C respectivamente, en este lapso los reactores presentaron una disminución de 16 y 11 mV para los H-CCM₁ y H-CCM₂. A partir de las 6 hrs, las temperaturas se restablecieron hasta llegar a poca fluctuación alrededor de las 9:00 hrs.

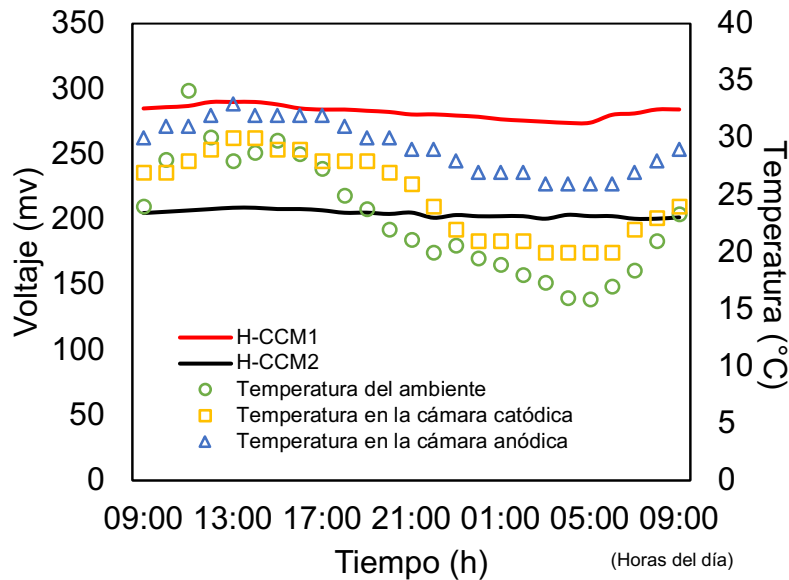


Figura 5.29. Monitoreo de la temperatura en los H-CCM.

Liu et al. (2019^a) realizaron un trabajo similar en el cual presenciaron la misma tendencia, observaron el máximo voltaje (777 mV) a una $T_{\text{ambiental}}$ de 34°C y el mínimo (550 mV) a 24°C. Describieron que la actividad microbiana incrementa a medida que aumenta la temperatura, misma que desempeña diversos roles en los H-CCM (Jadhav y Ghangrekar, 2009; Min et al., 2008; Patil et al., 2010). Esta afecta las cinéticas de formación de las biopelículas y parte de la conductividad electrolítica, además la descarga radical de exudados también está dirigida por la temperatura, afectando las rutas metabólicas en las comunidades microbianas, lo que a su vez provoca fluctuaciones en los voltajes (Dijkstra et al., 2011).

El desarrollo de la macrófita también está influenciado por la temperatura (Ivory et al., 1978), un ligero cambio puede provocar una afectación global al sistema. Actualmente los estudios con H-CCM involucran bacterias mesófilas, donde es recomendable mantener un rango de operación entre 25-35 °C, debido a que la biopelícula presenta una mayor actividad electrogénica, esto se ve reflejado en mayores rendimientos de DP (Shen et al., 2014). El incremento de la temperatura reduce los niveles de oxígeno disuelto, lo cual favorece el desarrollo de bacterias anóxico-anaerobias en la zona anódica y mejora el potencial del electrodo (Oon et al., 2015). En consecuencia, la temperatura es un factor de suma importancia, considerando que desencadena una serie de reacciones incontrolables. Para ello es necesario monitorear su comportamiento en ambas cámaras, como se hizo en este experimento. Algunos estudios han controlado la temperatura de la solución electrolítica con cámaras climáticas o resistencias eléctricas, pero este proceso no es ambientalmente sostenible debido al exceso consumo energético de estos equipos (Regmi et al., 2018^a; Guadarrama et al., 2019; Nitisoravut et al., 2017).

5.1.2.5. Propuesta de los mecanismos metabólicos involucrados

La oxidación de los exudados radiculares cuantificados (carbohidratos y AGV) se realizó en la cámara anódica bajo condiciones anaerobias, en este proceso se involucran cuatro rutas metabólicas: la glucólisis, la oxidación del piruvato (ciclo del acetil- CoA), el ciclo de Krebs y la β -oxidación (**Figura 5.30**). Esta serie de ciclos internos permite la conversión bioquímica de los sustratos fotosintéticos en productos finales de CO₂, H₂O y energía celular de ATP (Adenosín trifosfato). La coenzima nicotinamida adenina dinucleótido (abreviado como NAD⁺ en su forma oxidada y NADH en su forma reducida) participa en distintas reacciones redox implicadas en las vías de oxidación. Los NADH son moléculas reducidas, que representan el donador primario de electrones en la cadena transportadora de electrones a través de una serie de acarreadores que se encuentran entre el citoplasma y el periplasma de la célula bacteriana, tales acarreadores incluyen: proteínas, pool de quinonas y una serie de citocromos (Redondas, 2013; Dincer y Acar, 2015; Argun et al., 2009; Ntaikou et al., 2010).

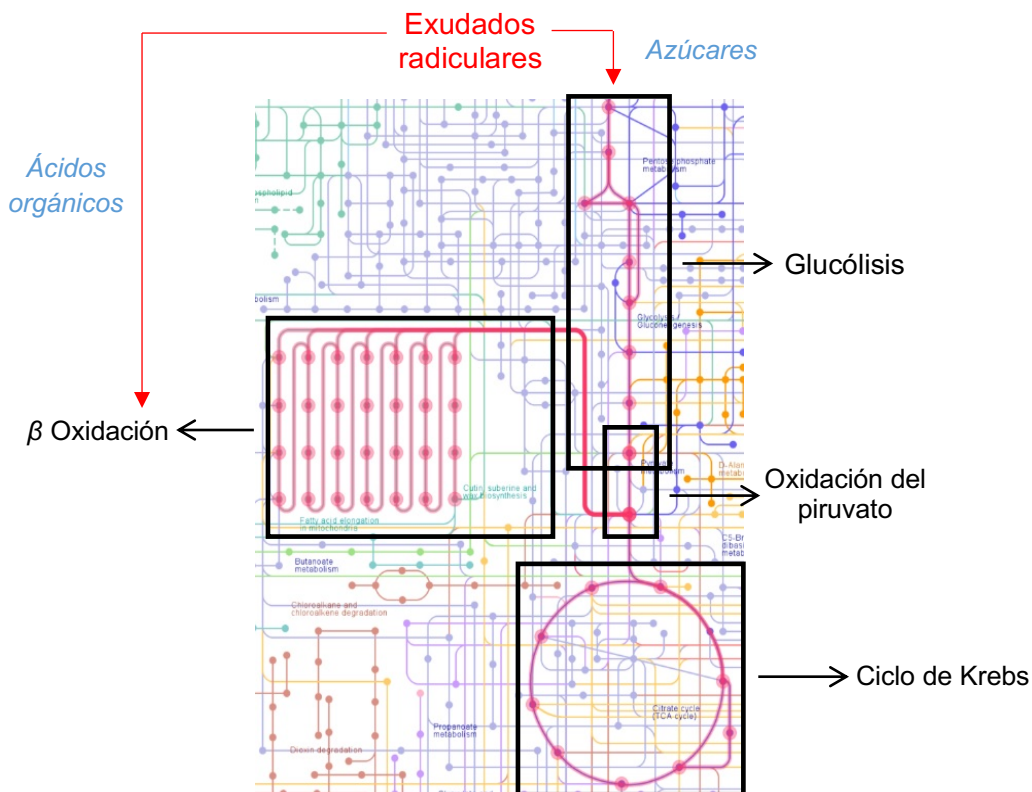


Figura 5.30. Rutas metabólicas en la degradación de compuestos orgánicos. La Glucólisis es la vía encargada de la degradación de la glucosa y otros azúcares complejos hasta la formación de piruvato. Enseguida, este se oxida y descarboxila para la formación de Acetil-CoA. En la β oxidación se convierten los ácidos orgánicos en Acetil-CoA. Luego en el ciclo de Krebs, se genera la mayor cantidad de NADH. (Mapa obtenido de KEGG, <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

En la **Figura 5.31** se relaciona la producción de azúcares totales (suma de las concentraciones cuantificadas de GLU, FRU, SAC y GAL) y voltaje de los H-CCM₁ y H-CCM₂ (datos descritos en las secciones 5.1.2.2.2 y 5.1.2.4). Las bacterias electroquímicamente activas utilizaron la vía de la glucólisis para oxidar la GLU, FRU, SAC y GAL mediante una fermentación anaerobia en la CAM₂. Mientras más complejo sea el sustrato o el carbohidrato a degradar, se requiere una mayor actividad de la glucólisis antes de entrar al ciclo de Krebs, estos tendrán que ser degradados a azúcares más simples como GLU y/o FRU. Sea cual sea el tipo de azúcar, el exudado deberá atravesar por el ciclo de la oxidación del piruvato, posteriormente, los pares de NADH/NAD servirán como donadores de electrones y después serán transferidos hacia el ánodo mediante diferentes mecanismos.

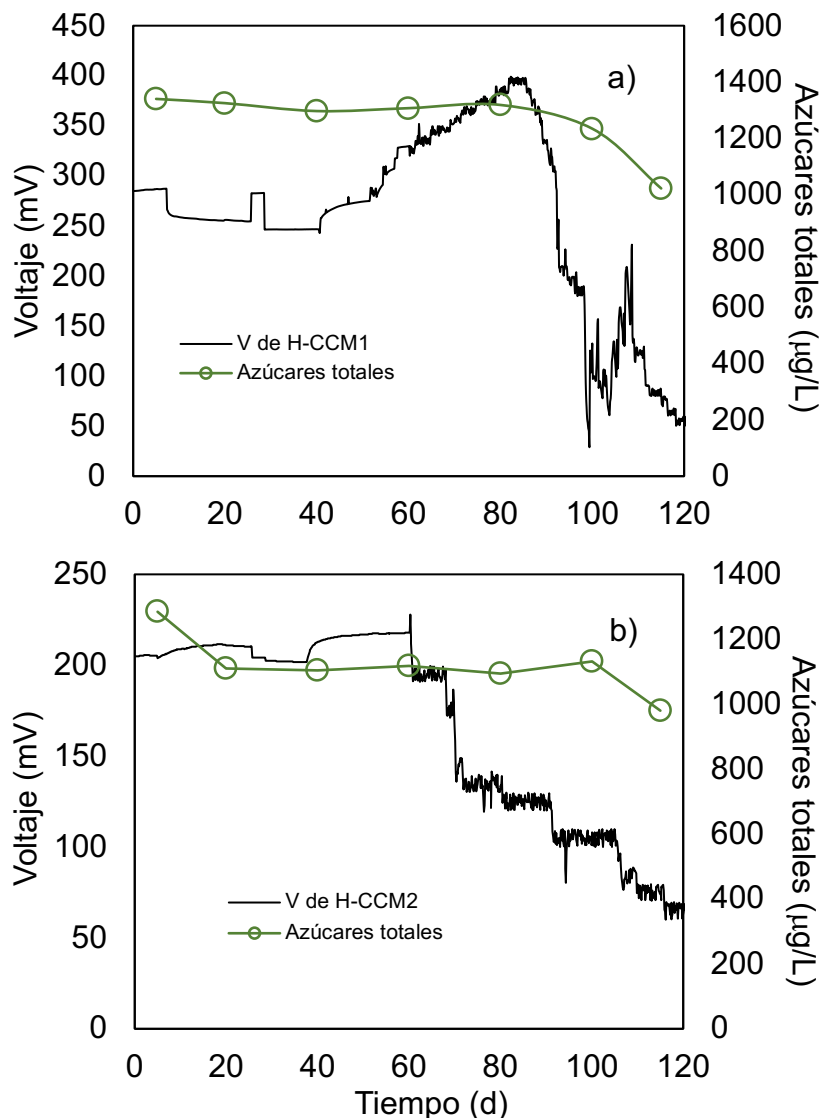


Figura 5.31. Producción de azúcares totales y voltaje a partir de los H-CCM. *Juncus effusus* (a) y *Philodendron cordatum* (b).

Las vías a partir de la degradación de los AGV con cadena corta (C1-C5), pasan a la formación de acetil CoA a través de las actividades catalíticas de las enzimas *deshidrogenasa*, como ejemplo, aquellas de la última fase de la degradación de ácidos grasos (beta oxidación). Una vez formado el acetil CoA, dicho compuesto atraviesa en el ciclo de Kreps, vía donde se genera el NADH que funciona como principal reservorio para el exporte extracelular de electrones, proceso en el cual las bacterias utilizan la vía del citocromo tipo C (en bacterias exoelectrógenas).

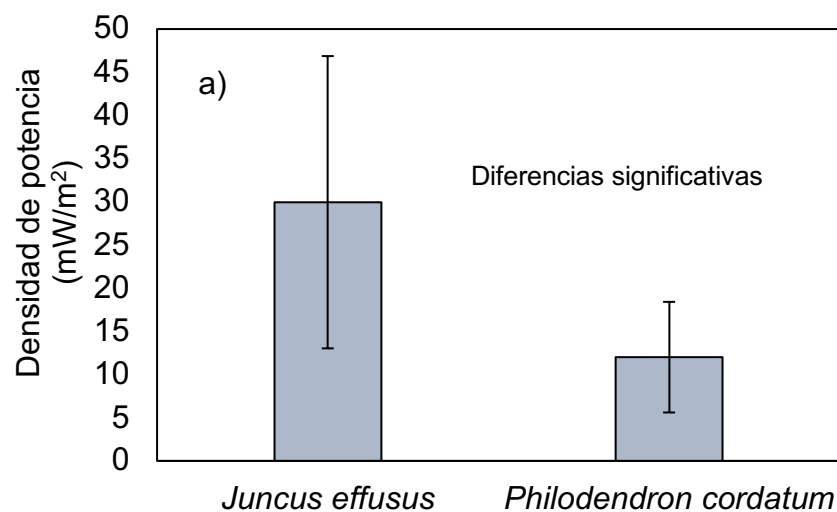
Algunos estudios han comprobado el importante papel del NADH como donador de electrones en los mecanismos de exporte por vía directa, debido a su alto potencial redox ($E^\circ = -0.320 \text{ V}$). Si la diferencia entre el potencial redox de los exudados y el electrodo es alta, la energía teórica que gana la bacteria para su crecimiento en la superficie del electrodo por electrón-mol transferido es alta (Li et al., 2018). Intracelularmente, los electrones fluyen de la cadena transportadora hacia el periplasma mediante el citocromo tipo C. Después, los electrones son depositados sobre el ánodo. El funcionamiento de esta cadena de transporte, provoca una translocación de protones fuera de la membrana, es decir, se crea un potencial electroquímico de protones, cuya disipación se conduce en favor de las enzimas *ATP-sintasas* y se produce ATP celular. 3 protones son necesarios para producir 1 molécula de ATP, aunque recientes investigaciones sugieren que los protones pueden variar entre 3 y 5 por cada mol de ATP generada, esto dependiendo de las condiciones ambientales. Luego, los protones removidos de los acarreadores de electrones son separados. Simultáneamente los electrones se transfieren al siguiente aceptor y los protones se liberan fuera de la célula. Esta liberación genera una fuerza móvil de protones a través de la membrana celular, en el cual se liberan cerca de 10 protones por cada par de electrones derivado de una reacción redox del par NADH/NAD, parte de estos protones se reducen en el cátodo para la producción de bioelectricidad en el circuito externo de los H-CCM (Nakanishi y Futai, 2008; Fan et al., 2012; Dincer y Acar, 2015).

En un estudio reciente, Li et al. (2018) encontraron que modificando la bacteria *Shewanella oneidensis* MR-1 por métodos de biología molecular sintética, es posible aumentar la producción del par redox NADH/NAD intracelular. Los autores señalaron que el incremento de esta coenzima produce una mayor generación de bioelectricidad en prototipos bioelectroquímicos. Es posible inferir que los factores que afectan la síntesis del par NADH/NAD están determinados por los diferentes tipos de sustratos fotosintetizados, donde cada uno tendrá un potencial estándar de reducción diferente, así como de su concentración y por la capacidad de las bacterias para ser metabolizados. Estas son algunas razones metabólicas por las cuales la especie *Juncus effusus* produjo mayor bioelectricidad que *Philodendron cordatum*. El análisis enfatiza en el par NADH/NAD por ser el principal donador de electrones, pero son muchas las reacciones redox por considerar en los SBE.

5.1.2.6. Relación exudados-bioelectricidad

Dado el comportamiento no paramétrico de los datos de DP de cada H-CCM, se realizó el análisis estadístico de Kruskal-Wallis (**Figura 5.32a**), el cual determinó la existencia de diferencias significativas, con un nivel de significancia de 5% y un valor-P <0.0001. También se realizó un análisis sobre la producción de exudados, específicamente de los azúcares. Los datos presentaron un comportamiento de distribución normal (comportamiento paramétrico), por lo tanto el modelo estadístico que se utilizó fue la prueba de *t* (**Figura 5.32b**). La prueba demostró la inexistencia de diferencias significativas, se obtuvo un valor-*t* de 36.02 y un valor-P de 1. Ambos estudios se realizaron con el software IBM SPSS® Statistics. Esto demuestra que gran parte del rendimiento bioelectroquímico obtenido, depende principalmente por el desempeño de la biopelícula y en menor magnitud por la cantidad de sustrato.

Las macrófitas se encuentran rodeadas de forma natural por complejas poblaciones de bacterias, con las cuales se formalizan múltiples tipos de asociaciones. En la rizósfera se establecen interacciones simbióticas con las raíces, la colonización por parte de las bacterias aumenta al existir mayor exudación orgánica. De modo que la capacidad de las macrófitas para modular el transporte de masa, en especial de azúcares, puede ser determinante para el reclutamiento de bacterias electroactivas (Hennion et al., 2019), esto beneficiaría la generación de bioelectricidad. Otro tipo de simbiosis es cuando las raíces controlan los intercambios biológicos, en algunos casos, determinadas comunidades bacterianas equilibran el crecimiento sobre otro tipo de microorganismos, en especial los fitotóxicos, a cambio es liberado carbón en forma de fotosintatos (García et al., 2016). En un estudio realizado por Kiers et al. (2011), explicaron que las especies *Medicago* pueden suministrar mayor cantidad de carbohidratos cuando habitan especies fúngicas en el medio rizosférico.



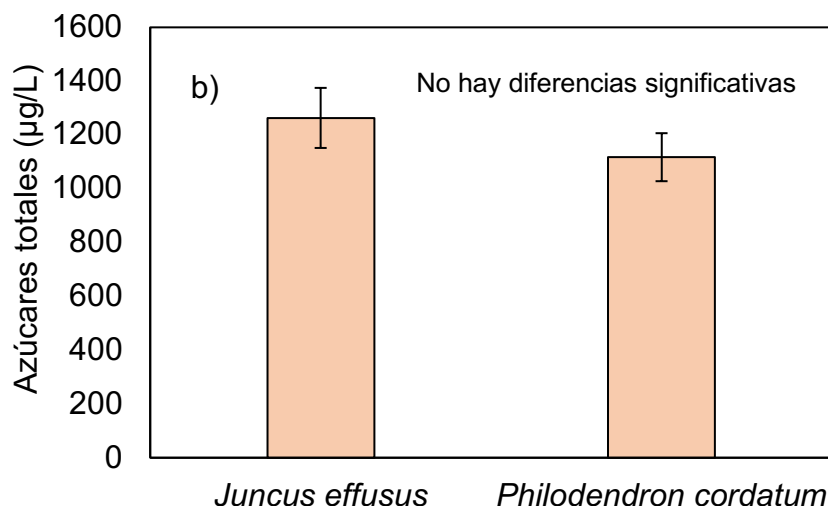


Figura 5.32. (a) Análisis estadístico de varianzas múltiples sobre producción de densidad de potencia y (b) prueba de *t* sobre la producción de exudados radiculares.

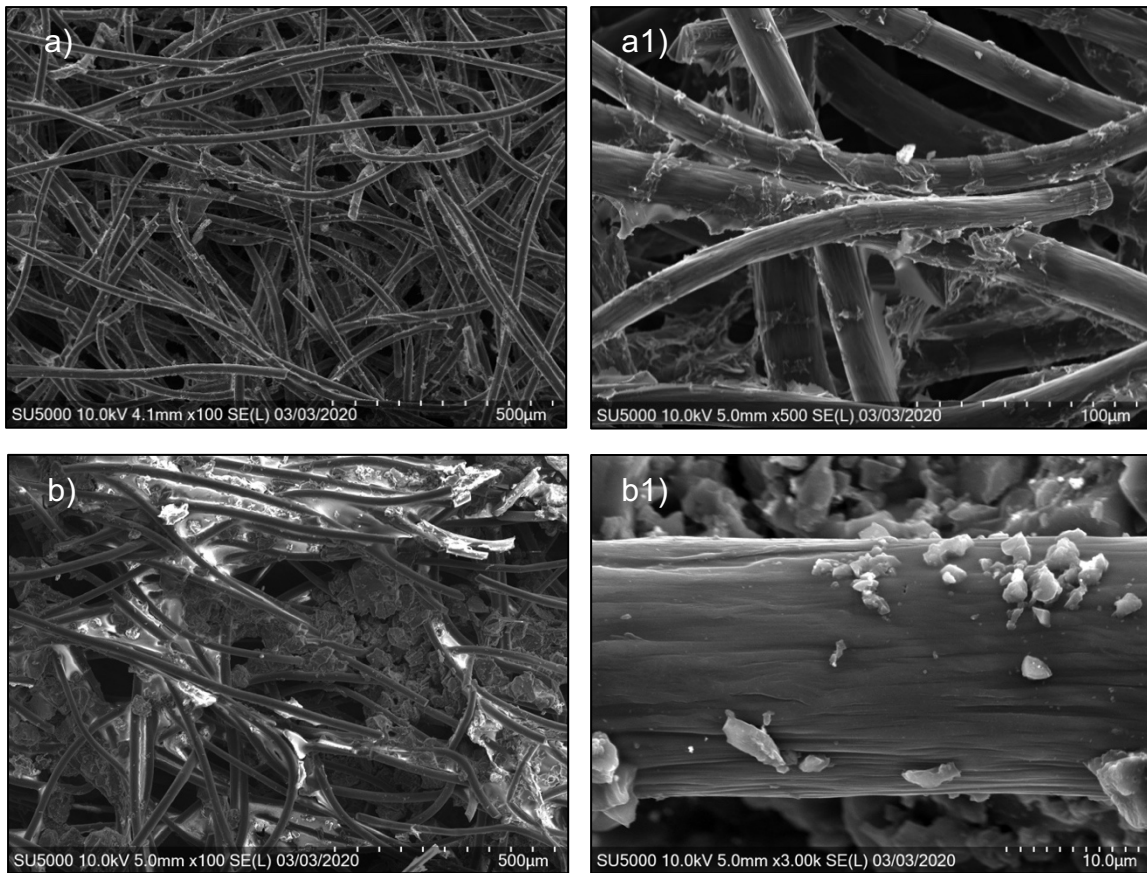
Algunos estudios han descrito que el transporte radicular de SAC se ve influenciado positivamente cuando se inoculan microorganismos seleccionados (Bitterlich et al., 2014), en esta interrelación las rizobacterias proporcionan nutrientes (N y P) a las macrófitas a cambio de sustratos orgánicos (Udvardi y Poole, 2013). La importancia del metabolismo de los azúcares para la fijación simbiótica que ocurre en las raíces, ha sido demostrada en varios estudios. Este intercambio de masa puede conducir a un conjunto regulado de azúcares disponibles para incrementar las interacciones, promoviendo efectos beneficiosos sobre la biopelícula. Algunos estudios (Miotto et al., 2016) tienden a favorecer estas hipótesis, un enfoque desafiante basado en el conocimiento actual, es identificar las vías de transporte de azúcar entre macrófitas y microorganismos. Otra área de investigación clave se dirige hacia la comprensión de los flujos de nutrientes dentro de las comunidades rizosféricas, incluidas: las bacterias, hongos y protozoarios (Hennion et al., 2019). Ambas propuestas podrían esclarecer los sistemas de interacción entre exudados-bioelectricidad.

A pesar de la complejidad del metabolismo vegetativo, el sistema radicular posee un suministro de materiales orgánicos potencialmente descriptibles. Investigar las interrelaciones simbióticas de rizobacterias-raíces es crucial para potencializar el rendimiento bioelectroquímico a través de los compuestos fotosintéticos, por ende este fundamento debe ser aplicado en H-CCM. Se espera que una colonización de bacterias selectiva, aumente el suministro de azúcares y por consiguiente, refleje un aumento en el rendimiento bioelectroquímico.

5.1.3. Tercera etapa experimental

5.1.3.1. Microscopía electrónica de barrido

La microestructura de los nanocatalizadores de G/TiO₂ (H-CCM₁), G/N (H-CCM₂) y C/Pt (H-CCM₃) impregnados sobre los cátodos, se observaron a través del MEBEC. En la **Figura 5.33** se muestra la morfología micrométrica de los nanomateriales. En las micrografías **a** y **a1** se observa como la capa catalítica de G/TiO₂, se encuentra perfectamente adherida a las fibras de carbón en forma de película, estas capturas fueron tomadas a una resolución de 100 y 1000 X (aumentos). Las imágenes **b** y **b1** presentan los nanodepositos de C/Pt, se aprecian nanopartículas homogéneas bien definidas, aglomeradas y dispersas. Morfológicamente poseen una estructura cristalina, esta propiedad fue revelada a una resolución de 3 kX. En las micrografías **c** y **c1**, se observa la capa catalítica de G/N. Dicha capa presentó menor densidad, probablemente se debió a una mala disolución. Esta prueba muestra evidencias de la fijación de las capas catalíticas, se observaron partículas irregulares, de tamaño a escala micro y nanométrica a magnificaciones de 100 X hasta 10 kX, promoviendo que los sitios catalíticos activos aumentaran para la RRO.



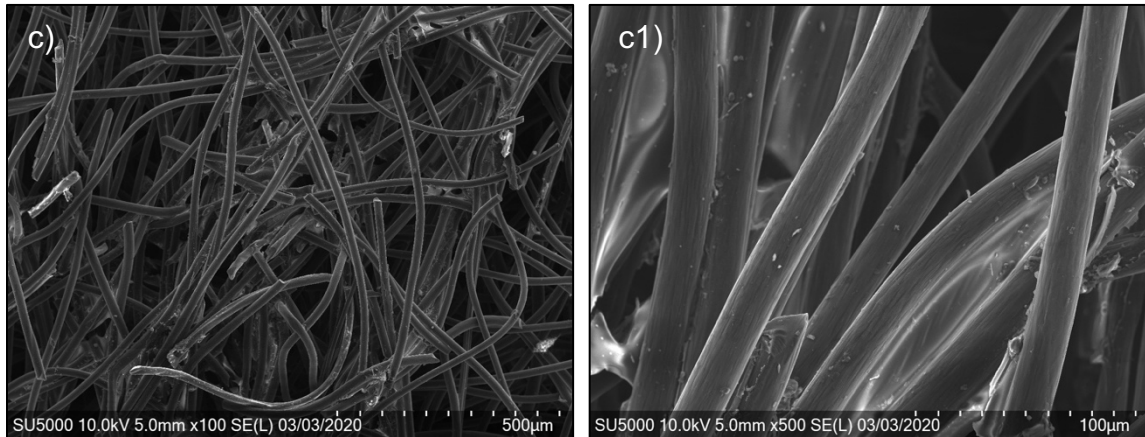


Figura 5.33. Micrografías del MEBEC de los nanocatalizadores adheridos sobre las fibras del fieltro carbón. (a) G/TiO₂, (b) C/Pt y (c) G/N.

5.1.3.2. Cinética de la reacción de reducción de oxígeno

En reacciones redox, la transferencia de electrones y el transporte de masa son dos procesos consecutivos y uno de los dos se comporta como la etapa determinante, dependiendo de la velocidad relativa (Li et al., 2019). La voltamperometría lineal de las curvas trazadas de corriente vs potencial que se muestran en la **Figura 5.34**, determinaron el comportamiento de la RRO a diferentes velocidades de rotación del EDR. En la polarización anódica se aprecian tres zonas, en la primera se observa una región cinética, identificada cuando la corriente obtenida es independiente de la velocidad angular del electrodo. Esta zona depende únicamente del control de transferencia de carga de electrones de la capa catalítica al oxígeno adsorbido, por lo que esta pequeña corriente se encuentra en función del potencial aplicado del EDR, dicha región se aprecia en un intervalo de potencial de 0 y -250 mV (mV vs Ag/AgCl). En la segunda región existe una ligera dependencia de la corriente con la velocidad de rotación, a cual se le conoce como corriente de control mixto, donde la transferencia de electrones es debida parcialmente al transporte másico, misma que se encuentra dentro de un intervalo de -300 a -1000 mV. Finalmente, la región tres es controlada únicamente por el transporte de masa (Bard y Faulker, 2001).

La corriente obtenida, es la corriente límite (i_{lim}) y se caracteriza por que la corriente incrementa con el aumento de la velocidad de rotación, es decir, que existe una dependencia de la corriente con el oxígeno que se reduce. Los voltamperogramas lineales para la RRO representan cierta actividad electrocatalítica, observándose definidas las zonas de transferencia de carga (I), la zona mixta (II) y la zona de transporte (III). Los gráficos de los nanocatalizadores utilizados presentaron la misma tendencia, cuando se incrementó la velocidad de rotación del EDR, la DC aumento en la zona III, debido a que difunde más oxígeno sobre la superficie del

electrodo de trabajo y por lo tanto ocurre una mayor reducción de oxígeno. En todos los casos se presentó mayor reducción a 1500 rpm, no se alcanzaron mesetas completamente horizontales, lo que indica que siempre existe una contribución de la transferencia de carga en la velocidad de reacción, provocada por una lenta transferencia de electrones (Sgarbi et al., 2019). Pero existe una clara diferencia en la DC entre cada aumento de velocidad de rotación, la DC alcanzada fue de 3.48, (G/TiO₂), 1.57 (G/N), 3.23 (C/Pt) y 2.32 (sin nanodépósito) mA/cm² respectivamente. El nanocatalizador que se acercó más a una meseta casi horizontal, fue el G/TiO₂, esto manifiesta una buena difusión del oxígeno disuelto en el electrolito sobre los sitios activos distribuidos en el electrodo, también indica una mejor actividad hacia la RRO (Ma et al., 2019). A partir de la información revelada, es posible discriminar catalíticamente los nanomateriales sobre sus eficiencias, es decir, que a mayor DC incrementa la actividad catalítica de la RRO (Sankarasubramanian et al., 2017).

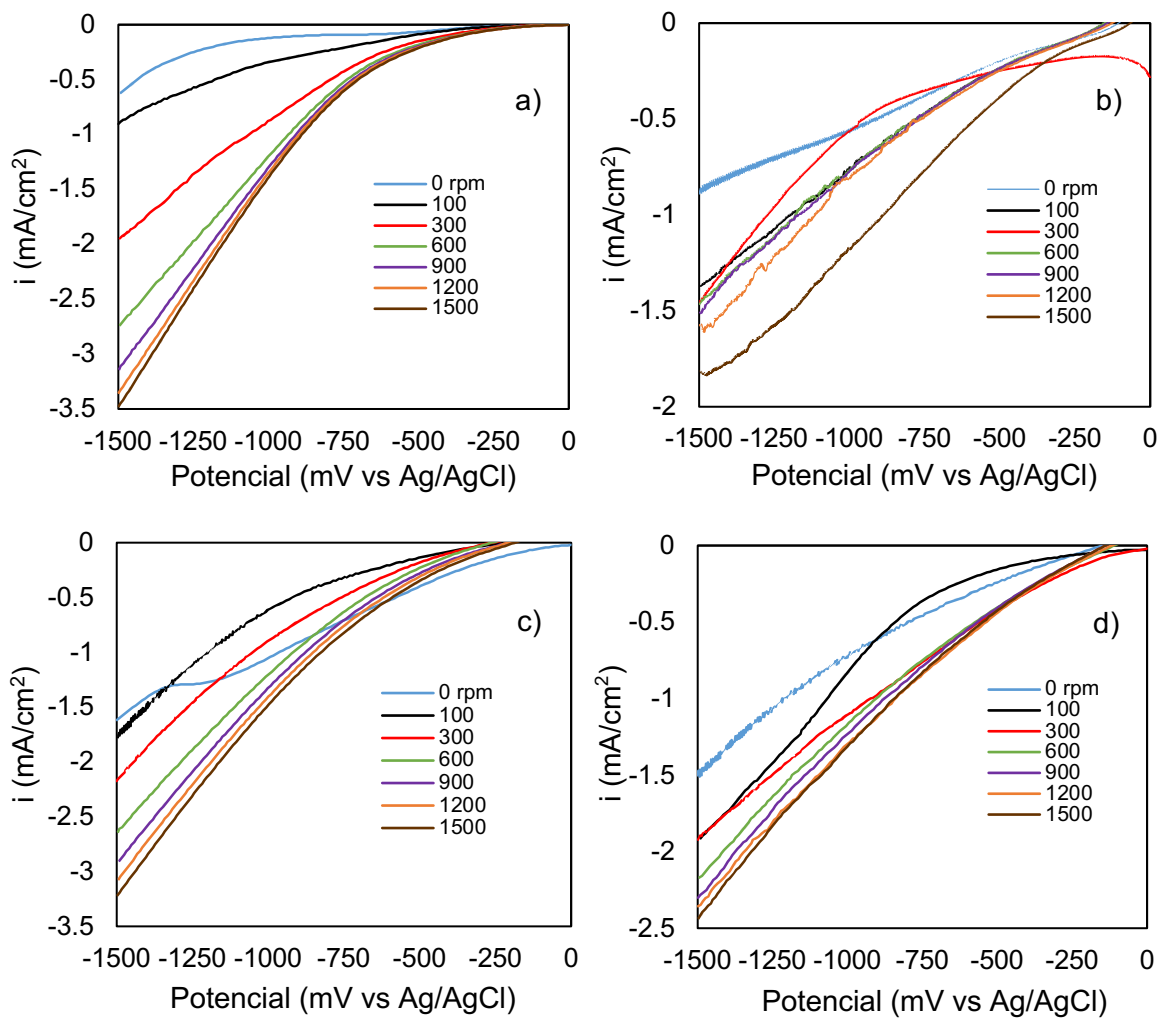


Figura 5.34. Voltamperometría lineal de los diferentes nanocatalizadores en H₂SO₄ (0.5 M), saturado con oxígeno a 25°C. (a) G/TiO₂, (b) G/N, (c) C/Pt y (d) sin nanocatalizador.

5.1.3.2.1. Análisis Koutecky-Levich

A partir de los datos de DC vs el potencial se obtuvieron las gráficas de Koutecky-Levich. La **Figura 5.35** muestra una relación lineal entre $1/i$ vs $\omega^{1/2}$, esto indica en primera instancia, que los resultados de todas las pruebas con el EDR, siguen una cinética de primer orden respecto a la RRO en el rango de potencial considerado en la polarización anódica. En la misma gráfica también se presenta las rectas teóricas de los mecanismos de transferencia global de 2 ($n=2$) y 4 ($n=4$) electrones. Los resultados de las pendientes exhibidas fueron obtenidos a potenciales de 300, 600, 900, 1200 y 1500 mV. Como se puede observar, las pendientes experimentales se ajustan al mecanismo de 4 electrones en la RRO. Las rectas experimentales no son paralelas, indicando que las pendientes no son independientes del potencial, por tal razón, el número de electrones que se transfieren globalmente en la reacción de reducción es variable en cada estudio. Las rectas teóricas se obtuvieron utilizando la ecuación de Levich (**Ecuación 4.1**) con los datos de la **Tabla 5.14**.

Tabla 5.14. Variables empleadas para el cálculo de i_{lim} .

Variable	Símbolo	Concentración
Solubilidad del oxígeno	C^o	$1.1 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^3$
Viscosidad cinemática del electrolito	ν	$0.01 \text{ cm}^2/\text{s}$
Coefficiente de difusión del electrolito	D	$1.4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$

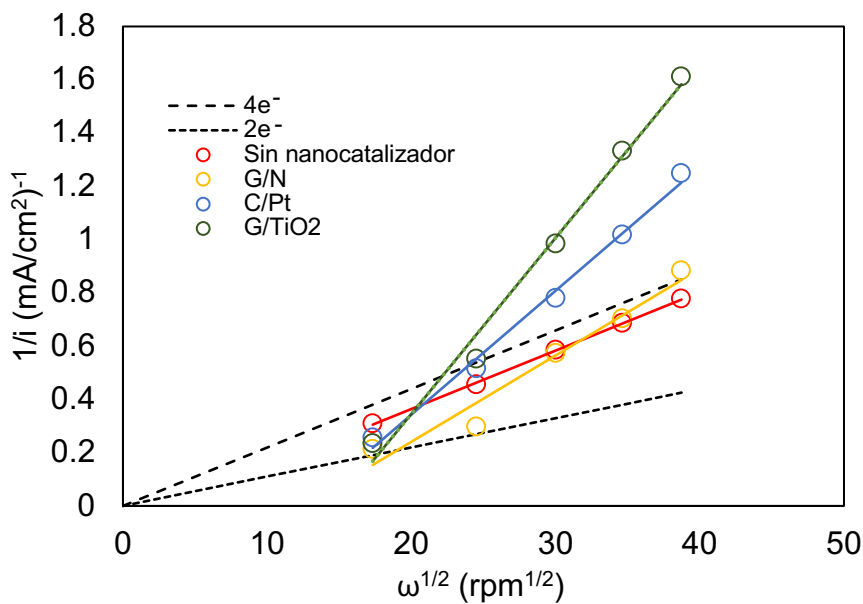


Figura 5.35. Gráfica de Koutecky-Levich sobre la RRO de los nanocatalizadores.

El análisis anterior denota que los nanocatalizadores evaluados reducen el oxígeno directamente a agua, siendo esto positivo desde el punto de vista de eficiencia en términos de rendimiento bioelectroquímico, considerando que un mecanismo vía 2 electrones involucraría mayores pérdidas óhmicas o caídas de potencial en los H-CCM. El comportamiento lineal de los datos, es un indicativo de que se establece un flujo laminar en el transporte de masa al momento de girar el EDR, además de que la especie electroactiva llega al electrodo por difusión (Ma et al., 2019).

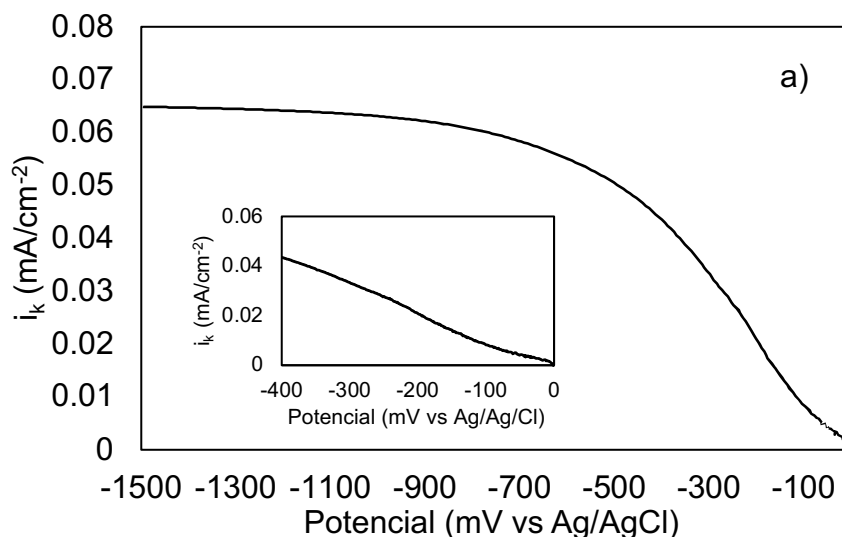
5.1.3.2.2. Parámetros electrocinéticos

Los diferentes parámetros electrocinéticos se calcularon realizando las correcciones a la corriente total por la distribución de la transferencia de masa. La **Figura 5.36**, presenta las gráficas de Tafel obtenidas de todos los nanocatalizadores estudiados, la corriente cinética i_k se obtuvo con la **Ecuación 4.3**. En cada una de las curvas, se observa una estrecha región de potenciales para calcular el valor de las pendientes de Tafel (B), de esta región se realizó una linealización exponencial con el fin de determinar la caracterización de la RRO, valores mostrados en la **Tabla 5.15**.

Tabla 5.15. Parámetros electrocinéticos de la RRO.

Nanocatalizador	Pendiente de Tafel (mV/dec)	Coefficiente de transferencia de carga (α)	Densidad de corriente de intercambio (DCi_0) (mA/cm ²)	n (e ⁻)
G/TiO ₂	149	0.320	4.9x10 ⁻²	4
G/N	184	0.396	2.9x10 ⁻²	4
C/Pt	110	0.536	4.1x10 ⁻²	4
Sin nanocatalizador	158	0.373	2.0x10 ⁻²	4

Condiciones: Electrolito de H₂SO₄ (0.5 M), saturado con oxígeno a 25°C.



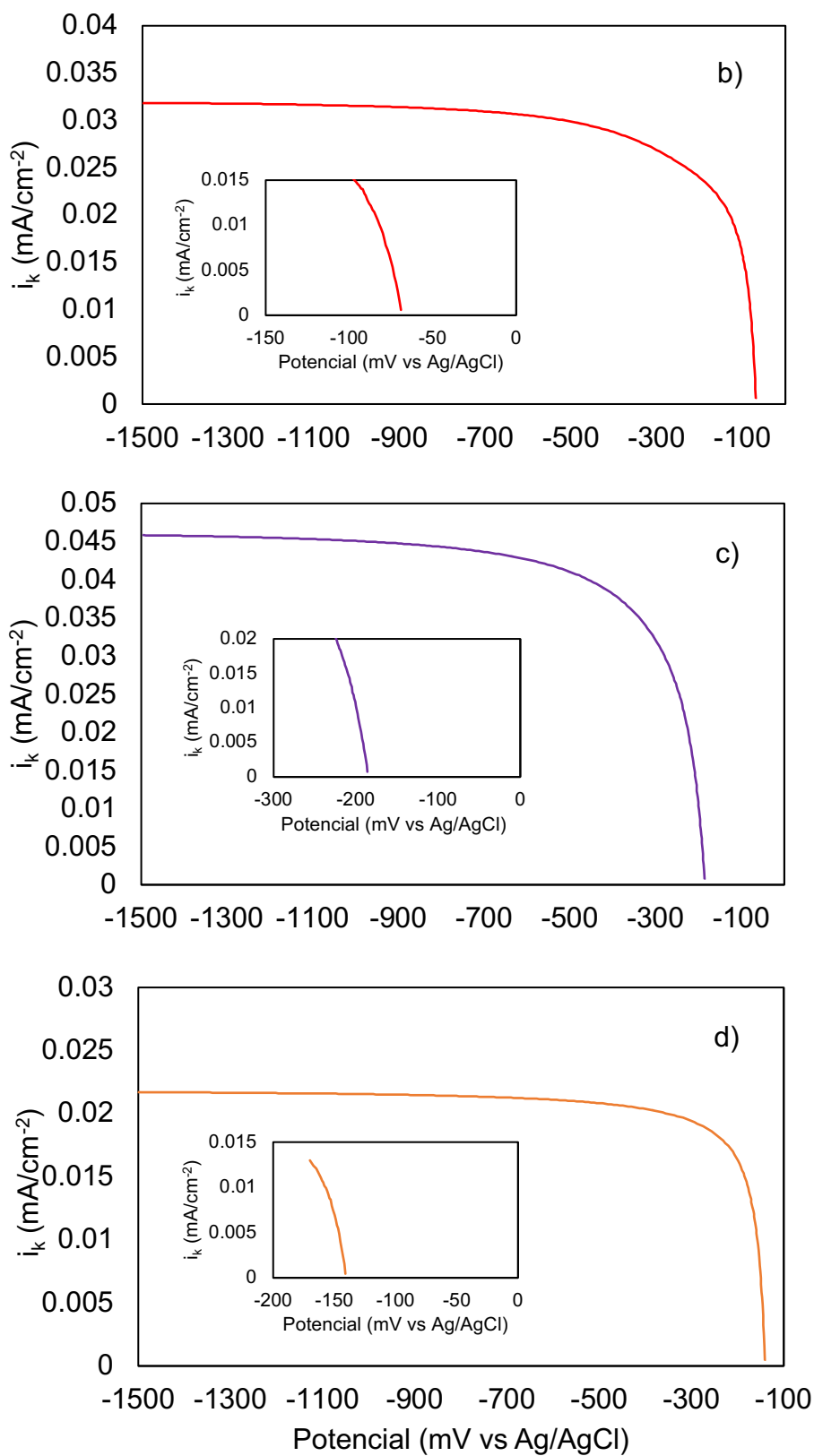


Figura 5.36. Gráficas de Tafel de los nanocatalizadores para la RRO.
 (a) G/TiO₂, (b) G/N, (c) C/Pt, (d) sin nanocatalizador.

El coeficiente de transferencia α , se define como un factor de simetría. En procesos de reacciones multietapas, indica que tanto el potencial aplicado fue utilizado para incrementar las velocidades de reacción de los reactivos a productos, siendo uno de los parámetros que permite evaluar el mecanismo de reacción (González, 2005). Un coeficiente de $\alpha > 0.5$, indica que el estado de transición de la reacción favorece la RRO, tal como sucede con los nanocatalizadores de G/TiO₂ y G/N. Valores de $\alpha < 0.5$, indican que el estado de transición de la reacción favorece la oxidación (Rose et al., 2015; Ezeta, 2011). Dada la linealidad de los datos, los coeficientes indican un aprovechamiento del potencial aplicado (EDR) y una velocidad de transferencia electrónica eficiente (Kurnatowski et al., 2017; Ma et al., 2019).

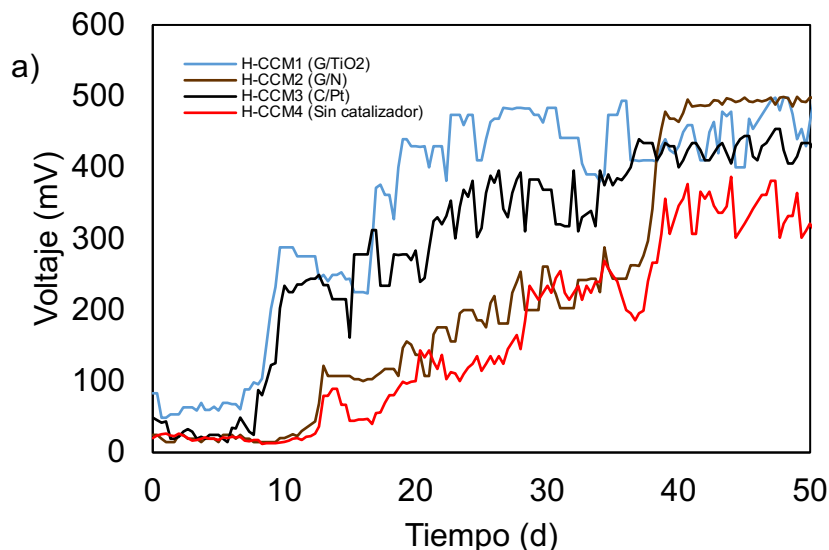
El valor de B permite extrapolar la región lineal de la respuesta del potencial vs i_k , proporcionando información cinética de una reacción electroquímica. Una pendiente ~ 120 mV/dec corresponde a una cinética de primer orden, donde las transferencias ocurren desde el primer electrón del electrocatalizador hacia la molécula de oxígeno quimisorbida sobre la superficie del electrodo. Esta prueba es una forma diagnóstica para determinar los mecanismos de reacción (Negahdar et al., 2019). La pendiente también determina la capacidad catalítica de un material, mientras el valor de B sea menor en el estudio de la RRO, los nanocatalizadores tendrán un mejor desempeño cuando determinado potencial es mayormente aprovechado hacia la energía de activación, reflejando un incremento en la velocidad de reacción (Shinagawa et al., 2015; Lopes et al., 2016). De acuerdo a lo anterior, los nanocatalizadores de G/TiO₂ y C/Pt presentaron una mejor catálisis, con valores de 149 y 110 mV/dec, lo que significa que existe una mayor cantidad de sitios activos para realizar las reacciones de reducción. Las pendientes demostraron que, a bajos potenciales es menor el valor de la corriente cinética (i_k), indicando el grado de adsorción de oxígeno sobre la superficie del electrodo (Hu et al., 2019; Ezeta, 2011).

La corriente de intercambio (i_0) es una medida del intercambio de electrones entre los conductores y las especies redox. Los valores de i_0 proporcionan información determinante, elevadas DC de intercambio (DCi_0) revela que las velocidades por reacción son más rápidas, misma que es proporcional a la constante de velocidad de una reacción, por esa razón es una medida de la capacidad de un sistema para llevar a cabo un proceso de transferencia de carga (Kim y Park, 2019; Menolasina, 2004). Con esta cinética, las mayores DCi_0 se obtuvieron con los nanocatalizadores de G/TiO₂ y C/Pt (4.9×10^{-2} y 4.1×10^{-2} mA/cm² respectivamente) y por ende mayor velocidad en la RRO. Esto explica que el potencial aplicado en la polarización es mayormente aprovechado hacia la energía de activación, como era de suponerse, el electrodo sin nanocatalizador presentó menores DCi_0 (2.0×10^{-2} mA/cm²). Con los resultados obtenidos, se puede esclarecer que el mecanismo de reacción de la RRO se efectúa a través de una transferencia multielectrónica global de 4 electrones (n).

5.1.3.3. Evaluación bioelectroquímica aplicando catalizadores en H-CCM

Los nanomateriales depositados sobre cada cátodo de los H-CCM, permitieron la transferencia másica desde el electrolito. De esta forma, pudo establecerse un buen contacto entre las tres fases que participan en la RRO. Esta condición genera los sitios activos donde se realizan las semirreacciones en la zona de triple de contacto entre: el gas difusor, el electrodo (con nanocatalizador) y el electrolito que acelera la reducción. En la **Figura 5.37**, se muestra la producción de bioelectricidad con los nanocatalizadores aplicados. La variable de respuesta obtenida del voltaje, describe claramente como los nanocatalizadores aumentaron la transferencia de carga y la adsorción de los reactivos en el cátodo durante la reducción. Dicho fenómeno se aprecia comparando los resultados de los H-CCM₁₋₃ con el H-CCM₄. Los reactores con nanopartículas depositadas de G/TiO₂ (H-CCM₁) y C/Pt (H-CCM₃) produjeron mayor rendimiento bioelectroquímico, con voltajes máximos de 490 y 454 mV y DP de 99.2 y 82.4 mW/m² respectivamente. El reactor con G/N (H-CCM₂) produjo 499 mV y 99.6 mW/m². El reactor sin nanocatalizador produjo 386 mV y 60.8 mW/m². Tomando como referencia los resultados del H-CCM₄, se observó un aumento de voltaje de 108 (H-CCM₁), 34 (H-CCM₂) y 75 (H-CCM₃) %.

Las capas catalíticas metálicas aumentaron el área activa en la RRO, esto debido a que en los nanocatalizadores se realizó un esparcimiento interatómico, mejorando el rompimiento de la molécula de oxígeno (Lopes et al., 2016). La capa catalítica es muy delgada (aproximadamente 5 μm) sobre la superficie catódica, de esta manera, se maximizó la utilización del catalizador y se facilitó el transporte de masa, incluido el oxígeno. Con la técnica del EDR, se obtuvo un perfil de difusión bien definido, asegurando un flujo laminar para que el transporte de la especie electroactiva de interés (oxígeno) se mantuviera constante.



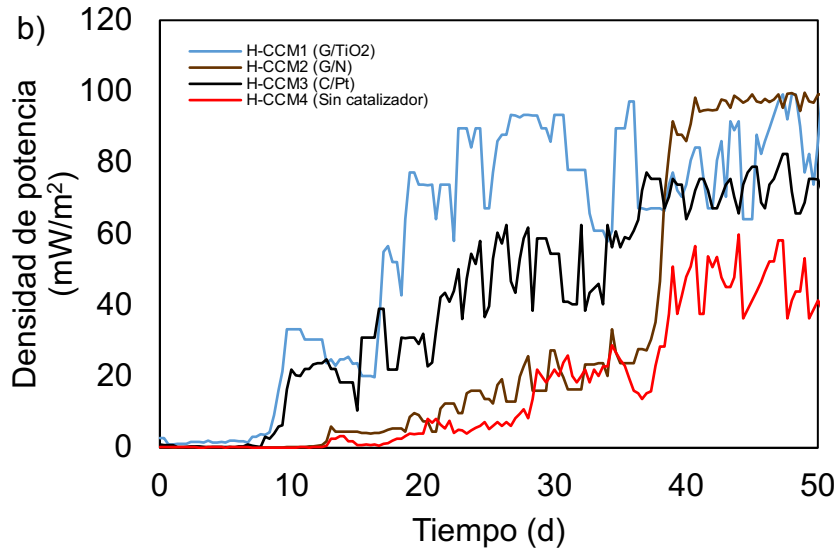


Figura 5.37. Producción de voltaje (a) y densidad de potencia (b) aplicando nanocatalizadores en H-CCM.

Se observó una tendencia incremental en todos los H-CCM, se aprecia un periodo de aclimatación celular durante los primeros 10 días de operación. En los siguientes los días (10-35) el voltaje y la DP aumentaron hasta llegar a una semiestabilización, comportamiento que describe claramente el proceso de desarrollo de la biopelícula en el crecimiento microbiano (justificación descrita en las secciones 5.1.1.2.1 y 5.1.2.4). Entre los días 40-50 la bioelectricidad tuvo una tendencia semiconstante.

La RRO sobre las capas catalíticas es en gran medida independiente del plano cristalográfico del metal, pero depende en grado apreciable de la solubilidad y de la concentración de oxígeno en el electrolito. En cambio, las DC_{i_0} dependen de la actividad y naturaleza de los nanocatalizadores, este argumento se observó con los H-CCM₁ y H-CCM₃, quienes presentaron mayores voltajes, DP y DC_{i_0} . Valores de DC_{i_0} bajos, representan una cinética de RRO lenta, la cual se observó claramente con el H-CCM₄, mismo que produjo menor voltaje. Una característica importante, es la interacción del oxígeno con los sitios activos de la superficie catalizada. Existen tres modelos que describen las posibles interacciones oxígeno-nanocatalizadores. El primer modelo propuesto es el de Griffiths, basado en las interacciones de los orbitales π de la molécula del oxígeno con los niveles vacíos de d_z^2 de los metales de transición. Por otra parte, interfiere en la interacción de los niveles d_{xz} y d_{yz} de los metales de transición parcialmente llenos con los orbitales antienlazantes π^* del oxígeno. Estas interacciones contribuyen a incrementar la longitud de enlace O-O, por lo que tiende a disminuir la energía de enlace. El modelo de Pauling implica una interacción de los orbitales sp de la molécula del oxígeno con los niveles d_z^2 de los metales de transición. Esto impone un carácter bipolar sobre la especie adsorbida y en su condición energética influye sobre los ligantes que se encuentran en el

electrolito, lo que bajo determinadas condiciones puede favorecer la acumulación de oxígeno sobre la superficie del catalizador. El tercer modelo propuesto, es el de Puente, este logra directamente una apertura de la doble ligadura de la molécula de oxígeno. La formación de la estructura depende del espaciado entre los átomos de los metales en la red superficial, en cuyo caso, la interacción se produce entre los orbitales sp de cada átomo de oxígeno con los orbitales d_{xz} y d_{yz} parcialmente ocupados por el metal de transición (Ma et al., 2019; Altamirano, 2003). Para que la reducción de oxígeno se realice, es necesario romper los enlaces O-O, lo cual implica una fuerte interacción del oxígeno con la superficie de los nanocatalizadores.

Las posibles rutas de electroreducción se presentan en la **Figura 5.38**. Las rutas I y III conducen a la electroreducción directa por vía 4 electrones, mientras que la ruta II implica la formación de subproductos. Es posible inferir que el mecanismo de reducción los todos H-CCM es por la ruta III, considerando los nanodepósitos como capas polimetálicas, incluyendo los metales de transición de los colectores de electrones. La razón por la que los H-CCM₁ y H-CCM₃ produjeron mayor voltaje, es porque la velocidad global de reacción en el plano basal es mucho mayor que en el material con solo fieltro de carbón. Esta diferencia se explica por su anisotropía superficial de las propiedades conductoras, incrementando los sitios activos en el plano basal (Negahdar et al., 2019). La RRO se asocia al oxígeno en un sitio activo o par de sitios mediante procesos de adsorción o quimisorción, la interacción se realiza verticalmente cuando la reacción involucra solo un sitio activo y de forma horizontal cuando se involucra un par. La asociación con un par de sitios activos, es propicia para la disociación del enlace O-O, esto eventualmente podría resultar en una reducción rápida a agua, tal como se observa en las rutas I y III. La adsorción en un solo sitio activo favorece la transferencia de dos electrones para producir peróxido de hidrógeno, esto se observa en la ruta II (Suárez y Solorza, 2010).

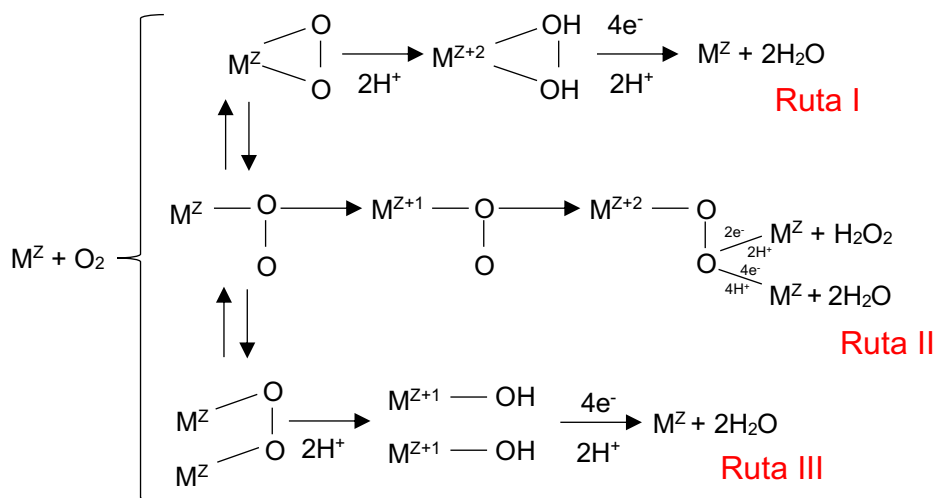


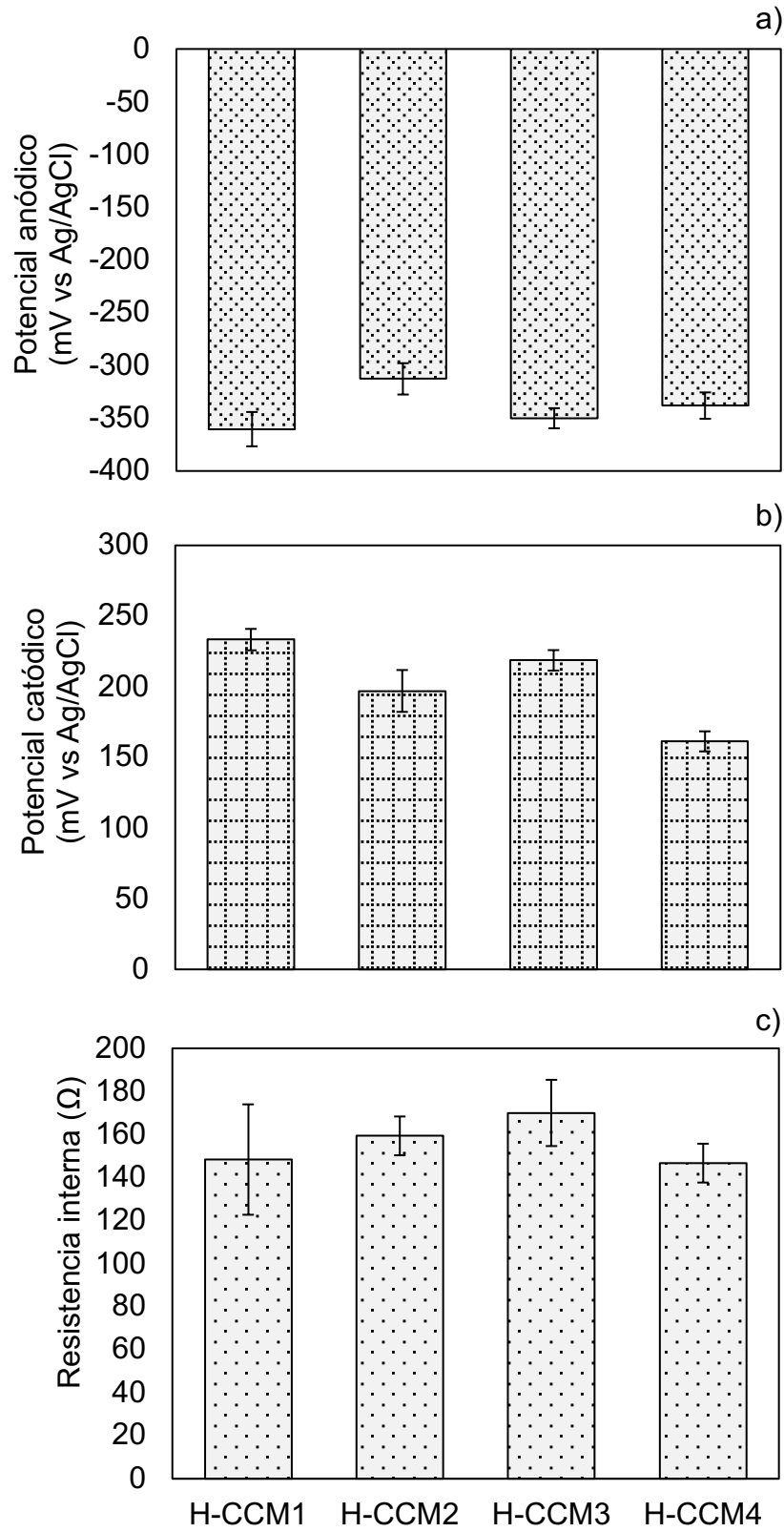
Figura 5.38. Posibles rutas de reacción para la electroreducción de oxígeno en los H-CCM. El símbolo M^Z representa los metales de transición.

Los potenciales de los electrodos con los diferentes nanocatalizadores empleados en los H-CCM se muestran en la **Figura 5.39a y b**. La activación de los electrodos al impregnar las capas catalíticas, tiene el objetivo de aumentar las reacciones redox sobre la superficie. En el proceso de activación se reestructura la capa catalítica a escala atómica que estabiliza los materiales de estudio y aumenta la actividad de los nanocatalizadores hacia la RRO. El incremento de la catálisis en la RRO, sin duda contrajo repercusiones positivas sobre el área catódica, esto al impulsar la positividad de los electrodos. Los H-CCM mantuvieron potenciales constantes, con registros de ~ 230 (H-CCM₁), ~ 190 (H-CCM₂), ~ 220 (H-CCM₃) y ~ 160 (H-CCM₄) mV. Tomando como referencia los valores del H-CCM₄, se presentó un incremento del 45 (H-CCM₁), 23 (H-CCM₂) y 36 (H-CCM₃) % respectivamente. El PC se relaciona con las capacidades de quimisorción de los enlace O-O, considerando que este parámetro determina la actividad redox de los reactantes. Esta conjetura está sujeta a los resultados obtenidos con los nanocatalizadores de G/TiO₂ y C/Pt, cuyos materiales reportaron mayor actividad catalítica en la evaluación de los parámetros electrocinéticos que ahora se ve reflejado en la producción de bioelectricidad. En la contraparte no se observaron grandes diferencias con los PA, en todos los casos los valores perduraron entre -315 y -370 mV. La evaluación de la RRO no afectó la acción biológica del ánodo, razón por la cual los PA se mantuvieron constantes.

En la **Figura 5.39c** se muestran las R_{int} obtenidas, todos los reactores presentaron un comportamiento constante, en el que se registraron pérdidas óhmicas de 140-170 Ω . La presencia de altos sobrepotenciales indica que, aunque el proceso está controlado por el transporte de oxígeno a la superficie del electrodo vía difusión, la transferencia electrónica desde el ánodo contribuye a una corriente no depositada sobre el circuito. Esto depende parcialmente por el transporte de masa y el flujo de electrones en la oxidación de sustratos y en menor transcendencia por la RRO.

Las máximas DC se obtuvieron mediante las curvas de polarización (**Figura 5.39d**). El H-CCM₄ produjo una DC de 207 mA/m², con una DP de 60 mW/m² con la R_{int} de 560 Ω . La catálisis de los nanocatalizadores también se vio evidenciada en esta prueba al aumentar el rendimiento. Los H-CCM₁₋₃ produjeron DC de 228, 214 y 222 mA/m², con DP de 73, 64 y 69 mW/m² respectivamente, todos con la R_{ext} de 560 Ω . Los valores de VCA fueron de 777 (H-CCM₁), 706 (H-CCM₂), 714 (H-CCM₃) y 680 (H-CCM₄) mV. La prueba evaluó la capacidad para la generación de bioelectricidad con los materiales aplicados al cambiar la composición superficial de los cátodos, siendo un estudio similar al de Yang et al. (2016), quienes utilizaron un cátodo de filtro de carbón con una capa catalítica de MnO₂. Emplearon una configuración de doble cámara con un separador de fibra de vidrio, como matriz usaron un estrato de grava para la macrófita *Acorus calamus* y describieron que modificar la estructura del cátodo aumentó la PV un 27.1%, alcanzando un valor de 3.8 W/m³. Este valor

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



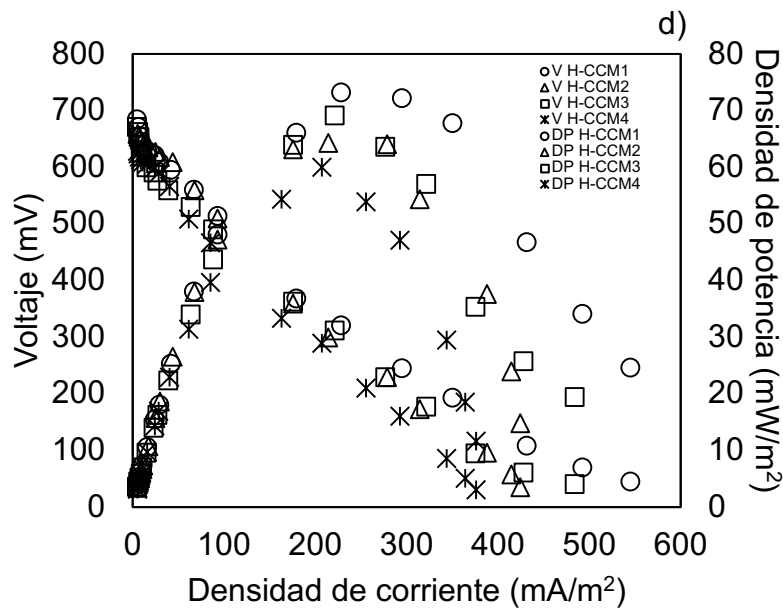


Figura 5.39. Evaluación de los potenciales anódicos (a), catódicos (b), resistencias internas (c) y curvas de polarización (d) a partir del sistema de H-CCM.

es bajo comparado con las PV obtenidas en este estudio (Tabla 5.16), atribuido por la diferencia de volúmenes entre los reactores (2.4 vs 1.5 L), también obtuvieron registros menores de PC (80-120 mV vs EEH). Sin embargo reportaron altos valores de PA (hasta -500 mV), esto último puede radicar por una mayor actividad biológica en la cámara anaerobia, considerando que utilizaron aguas residuales con un alto contenido de aceite (> 500 mg/L de DQO). En otro estudio, Takanezawa et al. (2010) evaluaron la generación de bioelectricidad de la especie *Oryza sativa*. Como cátodo emplearon una pieza de fieltro de grafito impregnada con Pt como catalizador con el fin de acelerar la RRO, la DP que alcanzaron fue de 14.44 mW/m² con una R_{ext} de 1000 Ω. De Schamphelaire et al. (2010) utilizaron la misma especie de macrófita, pero aplicaron ferricianuro como catalizador sobre un disco de grafito, produjeron 33 mW/m². Srivastava et al. (2017) depositaron Pt sobre un cátodo de tela de carbón y produjeron 31.5 mW/m³ con la especie *Canna indica*. Castresana et al. (2019) reportaron una DP de 2.5 mW/m² al aplicar CuO-Cu₂O sobre el cátodo, evaluaron la especie *Pleurocapous* y aumentaron la bioelectricidad (DP) un 17%.

Tabla 5.16. Máximo rendimiento bioelectroquímico del sistema de H-CCM (Etapa 3).

Reactor	Nanocatalizador	Voltaje (mV)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Potencia volumétrica (W/m ³)	Potencial anódico (mV)	Potencial catódico (mV)
H-CCM ₁	G/TiO ₂	490	99.2	24.8	-370	242
H-CCM ₂	G/N	499	99.6	24.9	-329	214
H-CCM ₃	C/Pt	454	82.4	20.6	-350	227
H-CCM ₄	---	386	60.8	14.4	-341	169

Estos son algunos trabajos que aplican los catalizadores para potencializar la bioelectricidad, sin embargo, no es común evaluar la RRO, pero es indispensable hacerlo para conocer el mecanismo involucrado en la transferencia de electrones en los SBE. El estudio de la cinética de la RRO es muy estudiado en la síntesis de materiales, con CCM los reportes son muy limitados y con H-CCM hasta el momento son inexistentes. Dado que no existe una regla definida sobre el comportamiento catalítico, todos los nuevos materiales deben ser investigados para constatar sobre que trayectoria principal se lleva a cabo la reacción. Es indudable que el Pt sea el catalizador más estudiado para activar la RRO, pero también se ha utilizado una variedad de calcogenuros de metales de transición, entre ellos: Rh, Pd, Ir, Ru, Os, Co y Mo. Óxidos metálicos de transición (Ni-Co-O), así como aleaciones con otros metales como el Pb y Fe también han sido utilizados. Dentro de los materiales de carbón se ha usado el carbón activado, nanotubos y nanopartículas de carbón. El G y sus derivados tuvieron un impacto positivo en la investigación en los últimos años. Sus propiedades físicas y químicas que incluyen la resistencia mecánica, alta conductividad electrónica, alta área de superficie y sus propiedades bioadhesivas hacen que sea un material prometedor para aplicarse como electrodos en celdas de tipo H-CCM, CCM y CEM (Li et al., 2017^b).

El análisis estadístico de varianzas múltiples que se muestra en la **Figura 5.40** (prueba de Kruskal-Wallis), determinó que existen diferencias significativas sobre la producción de DP al variar las capas catalíticas en los H-CCM. Se utilizó un nivel de significancia de 5%, donde se obtuvo un valor-P <0.0001 para todos los grupos de tratamiento. Con esta prueba se corroboró que los nanomateriales potencializaron la bioelectricidad al incrementar la catálisis de los sitios activos para realizar la RRO.

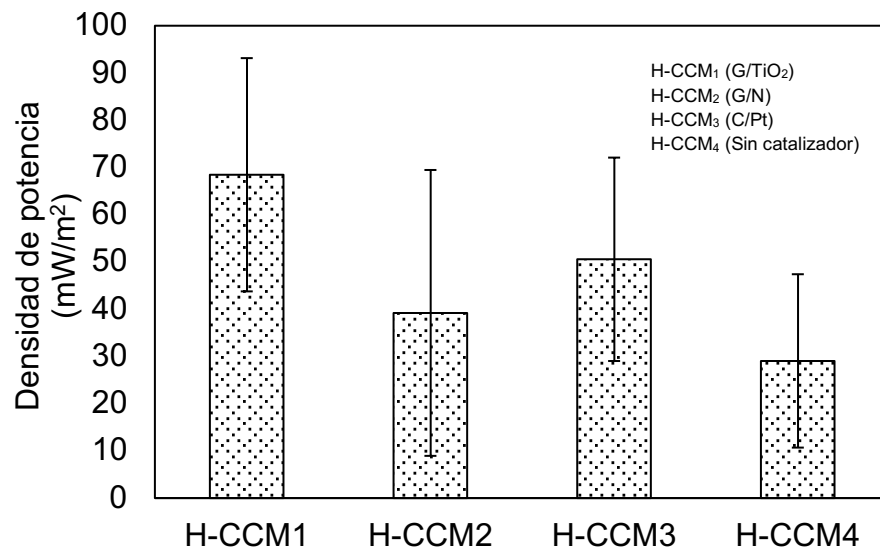


Figura 5.40. Análisis estadístico de varianzas múltiples sobre producción de densidad de potencia aplicando nanocatalizadores.

Las pruebas de voltamperometría cíclica (VC) consistieron en variar de una manera recurrente el potencial a una velocidad de barrido específica. En la **Figura 5.41** se muestran las señales de excitación ante el electrodo de referencia. En el plano bidimensional se aprecian dos regiones, un barrido anódico y un catódico. Los ciclos se realizaron a la misma velocidad de escaneo, esto permitió visualizar de forma completa los voltamperogramas a modo de ondas para determinar la oxidación y reducción de especies reactantes a través de transferencias de masa por difusión, donde en cada ciclo evaluado la respuesta se observó simétrica y constante.

En las regiones anódicas se aprecian los ciclos de oxidación de los compuestos orgánicos de una comunidad microbiana mixta, donde claramente la biopelícula muestra actividades redox. El H-CCM₁ presentó picos de respuesta ante potenciales de -1300 a -900 mV. Los H-CCM₂ y H-CCM₄ presentaron comportamientos muy similares, ambas reducciones en potenciales de -1100 a -700 mV. El H-CCM₃ demostró la reducción a -800 y -500 mV. Las curvas de VC visualizan y confirman la electroactividad de la biopelícula anódica en DC de -50 a -100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Por otra parte, en los barridos catódicos la reducción se observó a un potencial de 800-900 mV. Los picos son atribuidos a la desorción de protones durante la RRO. En todos los casos las señales ocurrieron a DC de 70-90 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, es evidente que en ese punto se realizó la reducción del oxígeno, tomando en cuenta que todos los H-CCM siguen el mismo mecanismo de transferencia de electrones. En cada electrodo se determinó un área activa, los cuales son sitios específicos para cada superficie dinámica. En este caso, la VC muestra evidencias de los procesos superficiales de electroreducción de hidrógeno y oxígeno en el cátodo y la acción biológica en el ánodo.

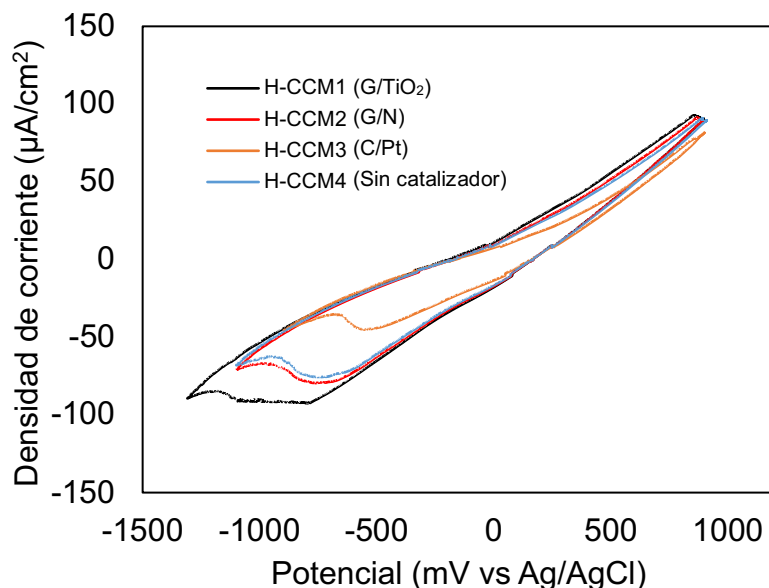


Figura 5.41. Voltamperogramas cíclicos obtenidos del sistema de H-CCM.

CAPÍTULO 6

6.1. Conclusiones

La evaluación bioelectroquímica de las macrófitas: *Aglaonema commutatum*, *Cyperus papyrus*, *Epipremnum aureum*, *Dranacaena braunii*, *Philodendron cordatum*, *Chrysopogon zizanioides*, *Eichhornia crassipes* y *Juncus effusus* determinó que la cantidad de bioelectricidad producida, depende de la calidad y cantidad de los exudados descargados por los sistemas radiculares hacia la rizósfera, cuyo proceso es afectado directamente por la radiación solar. Por lo tanto, los niveles de luminosidad sobre los H-CCM es un factor preponderante para la obtención de bioelectricidad y su eficiencia fotosintética. El cambio de IRD1 a IRD2 propició un aumento de 1-2.5 veces de rendimiento en términos de DP, al mejorar el proceso de rizodeposición. De las distintas especies evaluadas con H-CCM de cámara única, IRD2 y matriz de T_{ez} , *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum* presentaron mejores resultados, produciendo un máximo VCC de 315 y 215 mV, con una DP de 38.9 y 18.5 mW/m², donde la R_{int} fue de 193.6 y 251.4 Ω respectivamente. Los potenciales de los electrodos (PA y PC) demostraron que los H-CCM fueron operados bajo condiciones redox ambientalmente favorables. La negatividad en los valores registrados de PA determinaron un ambiente anaerobio en la zona anódica y los valores positivos en los PC, determinaron la reducción del oxígeno. Con las curvas de polarización se determinaron las máximas DC, con valores de 198.18 y 161.81 mA/m² (R_{ext} de 220 Ω) respectivamente. La relación entre R_{int}/R_{ext} se mantuvo dentro de un rango de 50-500 y 500-820 Ω , donde las polarizaciones no son lineales a causa de las pérdidas por activación y concentración.

Respecto a las matrices utilizadas como soporte, el T_{ez} presentó de 2-8 veces mayores eficiencias bioeléctricas sobre el C_{oq} , atribuido a sus capacidades conductivas. Este argumento se comprobó por pruebas de impedancia, donde las pérdidas óhmicas llegaron a ser superiores a 700 Ω con la matriz de C_{oq} . Mientras que con T_{ez} las R_{int} no superaron los 380 Ω , lo cual demostró que el C_{oq} presenta menor condensación y mayor disipación de electrones sobre los electrodos y el circuito externo.

La identificación cualitativa de terpenos, alcaloides y flavonoides por CCF en las especies *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum* determinó que existen condiciones rizosféricas muy dinámicas y versátiles. Considerando que estos metabolitos controlan parte de las interacciones entre el sistema radicular con su entorno. El nuevo diseño de H-CCM con flujo descendente y doble cámara, permitió conocer las concentraciones de exudados en la rizósfera. El análisis cromatográfico por UHPLC, demostró la presencia de GLU, GAL, SAC y FRU

en las secreciones de ambas macrófitas en concentraciones de 200-450 $\mu\text{g/L}$. La primera especie exudó mayor cantidad de carbohidratos por su exuberante densidad radicular, a pesar de que *Philodendron cordatum* posee una vía fotosintética C4. Los resultados exhortaron que la SAC y GLU son sustratos fotosintéticos endógenos con alta afinidad con la biopelícula anódica, donde la biodegradabilidad fue de 45-65%. Por consiguiente, los azúcares representan los donadores de electrones utilizados para la producción de bioelectricidad. Las macrófitas *Juncus effusus* y *Philodendron cordatum* produjeron máximos VCC de 399 y 228 mV, con DP de 63.7 y 20.1 mW/m^2 cuando fueron operadas con reactores de doble cámara. Por lo que, el haber instalado una membrana PEM incrementó la bioelectricidad hasta un 55%, al mejorar las condiciones anaerobias en el ánodo para potencializar la oxidación de los sustratos y una mayor reducción de oxígeno en el cátodo.

La adhesión de las capas catalíticas de G/TiO₂, G/N y C/Pt sobre las fibras de carbón para aumentar el número de sitios activos para la RRO, se comprobó a través del MEBEC, cuyas partículas fueron identificadas en escalas micro y nanométricas. Los parámetros electrocinéticos demostraron que la RRO de los diferentes nanocatalizadores, ocurrió por el mecanismo de reducción directa, el que involucra una transferencia de 4 electrones hacia la formación de agua, de acuerdo con la reacción $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$.

Los valores obtenidos de las pendientes de Tafel (B), los coeficientes de transferencia de carga (α) y las DCi₀ demostraron que los nanocatalizadores incrementan las actividades electrocatalíticas de la RRO. Aumentar los sitios activos sobre los electrodos catódicos, propició el aumento de la producción de bioelectricidad. El mayor rendimiento bioelectroquímico en los H-CCM se presentó con los nanomateriales de G/TiO₂ y C/Pt, con máximos VCC de 490 y 454 mV, con DP de 99.2 y 82.4 mW/m^2 respectivamente. La impregnación de las capas catalíticas para beneficiar la electrorreducción catódica reflejó un aumento de más del 100% de bioelectricidad en términos de VCC y DP.

Los resultados obtenidos de esta investigación están sujetos a los métodos y condiciones utilizados en la misma. Cualquier cambio en las configuraciones, materiales, condiciones fisicoquímicas, biológicas e incluso climáticas podría reflejar un comportamiento completamente diferente, debido a que los H-CCM cuentan con un sistema heterogéneo de naturaleza compleja, a consecuencia de ello muchos factores ambientales pueden ser difícilmente controlables.

CAPÍTULO 7

7.1. Perspectivas y recomendaciones

- Existen ciertos enfoques que deben ser investigados para mejorar y comprender la tecnología de H-CCM. Entre ellos, podemos encontrar la identificación masiva de exudados radiculares, donde estos podrían tener un alto potencial redox para actuar como donadores de electrones para ciertas especies de macrófitas y así obtener mejor calidad de fotosintatos orgánicos.
- El enriquecimiento con sustratos exógenos y consorcios bacterianos selectivos en la cámara anódica, podría aumentar la bioelectricidad. También es necesario indagar sobre la relación simbiótica entre las comunidades bacterianas con la rizósfera. La calidad e intensidad de radiación solar es un fenómeno que afecta directamente los procesos fotosintéticos, por lo tanto, es un factor que interfiere en la producción de exudados, lo que a su vez, repercute en la transferencia de masa como sustrato orgánico hacia las rizobacterias. A consecuencia de ello es imprescindible buscar nuevas configuraciones, diseños y materiales para poder aumentar el área de contacto entre la biopelícula y el sistema radicular.
- Se ha observado que cada condición impuesta en la investigación, afecta los resultados generales de un H-CCM. De tal manera que la identificación de la intensidad de luz óptima para una fotosíntesis eficiente, una actividad microbiana eficaz y una rizodeposición adecuada son factores que deben estudiarse a profundidad. También se deben desarrollar técnicas para prevalecer la vitalidad de las macrófitas dentro de un H-CCM, simulando un entorno natural, ya que las eficiencias de la producción de bioelectricidad dependen de este principio.
- Dentro de la caracterización bioelectroquímica, se deben realizar pruebas de voltamperometría cíclica y lineal para evaluar el desarrollo de la biopelícula de bacterias electroactivas, teniendo en cuenta que las condiciones de la rizósfera son diferentes para cada especie de macrófita.
- Aislar cepas de bacterias exoelectrógenas para inocularlas sobre los electrodos y trabajar con ADN recombinante para acelerar el transporte extracelular de electrones, también podría incrementar el rendimiento bioelectroquímico.
- Respecto a catalizadores, es requerido involucrar más materiales que activen la superficie catódica hacia la RRO. Se ha demostrado que el G ha aumentado la bioelectricidad en DP hasta miles de mW/m^2 en CCM, por lo que este material tiene un gran potencial como bioelectrodo en H-CCM.
- En la sección 2.1, se mencionaron algunas de las configuraciones y materiales más utilizados, sin embargo, las condiciones óptimas para su operación aún no se han determinado específicamente. Por tal motivo, se recomienda continuar investigando los componentes para mejorar el rendimiento bioelectroquímico en general y evaluar las remociones de algunos contaminantes específicos como: colorantes, pesticidas, residuos industriales con altas resistencias, compuestos recalcitrantes, fármacos y metales pesados. Con el avance técnico-científico se pretende lograr una aplicación tecnológica práctica y sustentable.

CAPÍTULO 8

8.1. Referencias

- Abbas, S. Z., Rafatullah, M., Khan, M. A., Siddiqui, M. R. (2019). Bioremediation and electricity generation by using open and closed sediment microbial fuel cells. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3348.
- Aguirre-Sierra, A., Bacchetti-De Gregoris, T., Berná, A., Salas, J. J., Aragón, C., Esteve-Núñez, A. (2016). Microbial electrochemical systems outperform fixed-bed biofilters in cleaning up urban wastewater. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 2(6), 984-993.
- Aguirre, A. (2017). Integrating microbial electrochemical systems in constructed wetlands. Tesis Doctoral. Universidad de Alcalá. Madrid, España.
- Ahn, J. H., Jeong, W. S., Choi, M. Y., Kim, B. Y., Song, J., Weon, H. Y. (2014). Phylogenetic diversity of dominant bacterial and archaeal communities in plant-microbial fuel cells using rice plants. *Journal of Microbiol Biotechnol*, 24(12), 1707-1718.
- Ahn, Y., Logan, B. E. (2012). A multi-electrode continuous flow microbial fuel cell with separator electrode assembly design. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(5), 2241-2248.
- Akpor, O. B., Othoinoyi, D. A., Olaolu, D. T., Aderiye, B. I. (2014). Pollutants in wastewater effluents: impacts and remediation processes. *International Journal of Environmental Research and Earth Science*, 3(3), 050-059.
- Alocilja, E. C. (2000). Principles of biosystems engineering. Courier Custom Publishing.
- Altamirano, G. (2003). Desarrollo de electrocatalizadores para una celda de combustibgle tipo PEM. Tesis de Maestría. CIDETEC. CDMX, México.
- Appleby, A. J., Savy, M. (1978). Kinetics of oxygen reduction reactions involving catalytic decomposition of hydrogen peroxide: Application to porous and rotating ring-disk electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 92(1), 15-30.
- Araneda, I., Tapia, N., Lizama Allende, K., Vargas, I. (2018). Constructed wetland-microbial fuel cells for sustainable greywater treatment. *Water*, 10(7), 940.
- Arends, J. B., Speeckaert, J., Blondeel, E., De Vrieze, J., Boeckx, P., Verstraete, W., Boon, N. (2014). Greenhouse gas emissions from rice microcosms amended with a plant microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(7), 3205-3217.
- Argun, H., Kargi, F., Kapdan, I. K. (2009). Microbial culture selection for bio-hydrogen production from waste ground wheat by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(5), 2195-2200.
- Atkin, O. K., Millar, A. H., Gardeström, P., Day, D. A. (2000). Photosynthesis, carbohydrate metabolism and respiration in leaves of higher plants. In *Photosynthesis*, 153-175.
- Ayala-Ruiz, D., Castillo Atoche, A., Ruiz-Ibarra, E., Osorio de la Rosa, E., Vázquez Castillo, J. (2019). A Self-powered PMFC-based wireless sensor node for smart city applications. *Wireless Communications and Mobile Computing*, 1-10.
- Badri, D. V., Chaparro, J. M., Zhang, R., Shen, Q., Vivanco, J. M. (2013). Application of natural blends of phytochemicals derived from the root exudates of *Arabidopsis* to the soil reveal that phenolic-related compounds predominantly modulate the soil microbiome. *Journal of Biological Chemistry*, 288(7), 4502-4512.
- Badri, D. V., Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 32(6), 666-681.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 233-266.
- Bajracharya, S., Sharma, M., Mohanakrishna, G., Benneton, X. D., Strik, D. P., Sarma, P. M., Pant, D. (2016). An overview on emerging bioelectrochemical systems (BES): technology for sustainable electricity, waste remediation, resource recovery, chemical production and beyond. *Renewable Energy*, 98, 153-170.
- Bard, A. J., Faulkner, L. R. (2001). Fundamentals and applications. *Electrochemical Methods*, 2(482), 580-632.
- Baudler, A., Riedl, S., Schröder, U. (2014). Long-term performance of primary and secondary electroactive biofilms using layered corrugated carbon electrodes. *Frontiers in Energy Research*, 2, 30.
- Baudler, A., Schmidt, I., Langner, M., Greiner, A., Schröder, U. (2015). Does it have to be carbon? Metal anodes in microbial fuel cells and related bioelectrochemical systems. *Energy and Environmental Science*, 8(7), 2048-2055.
- Bitterlich, M., Krügel, U., Boldt-Burisch, K., Franken, P., Kühn, C. (2014). The sucrose transporter SI SUT2 from tomato interacts with brassinosteroid functioning and affects arbuscular mycorrhiza formation. *The Plant Journal*, 78(5), 877-889.

- Blankenship, R. E., Tiede, D. M., Barber, J., Brudvig, G. W., Fleming, G., Ghirardi, M., Moore, T. A. (2011). Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement. *Science*, 332(6031), 805-809.
- Bombelli, P., Dennis, R. J., Felder, F., Cooper, M. B., Iyer, D. M. R., Royles, J., Howe, C. J. (2016). Electrical output of bryophyte microbial fuel cell systems is sufficient to power a radio or an environmental sensor. *Royal Society Open Science*, 3(10), 160249.
- Bombelli, P., Iyer, D. M. R., Covshoff, S., McCormick, A. J., Yunus, K., Hibberd, J. M., Howe, C. J. (2013). Comparison of power output by rice (*Oryza sativa*) and an associated weed (*Echinochloa glabrescens*) in vascular plant bio-photovoltaic (VP-BPV) systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(1), 429-438.
- Bonilla, D. (2012). Caracterización fisicoquímica del coque formado en la producción de etileno por steam cracking de etano. Tesis de licenciatura. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.
- Borker, M., Suchithra, T. V. (2018). Electricity generation from living plants using microbial fuel cells. *International Journal of Engineering and Technology*, 7(4): 534-537.
- Bose, D., Dhawan, H., Kandpal, V., Vijay, P., Gopinath, M. (2018). Bioelectricity generation from sewage and wastewater treatment using two-chambered microbial fuel cell. *International Journal of Energy Research*, 42(14), 4335-4344.
- Braun, H., Fontes, P. C. R., Silva, T. P. D., Finger, F. L., Cecon, P. R., Ferreira, A. P. S. (2016). Carbohydrates concentration in leaves of potato plants affected by nitrogen fertilization rates. *Revista Ceres*, 63(2), 241-248.
- Brunelli, D., Tosato, P., Rossi, M. (2016). Flora health wireless monitoring with plant-microbial fuel cell. *Procedia Engineering*, 168, 1646-1650.
- Butti, S. K., Velvizhi, G., Sulonen, M. L., Haavisto, J. M., Koroglu, E. O., Cetinkaya, A. Y., Verma, A. (2016). Microbial electrochemical technologies with the perspective of harnessing bioenergy: maneuvering towards upscaling. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 53, 462-476.
- Cabezas, A. (2010). Diversity and function of the microbial community on anodes of sediment microbial fuel cells fueled by root exudates. Tesis Doctoral. Universidad de Philipps, Marburg, Alemania.
- Cabezas, A., Pommerenke, B., Boon, N., Friedrich, M. W. (2015). *Geobacter*, *Anaeromyxobacter* and *Anaerolineae* populations are enriched on anodes of root exudate-driven microbial fuel cells in rice field soil. *Environmental Microbiology Reports*, 7(3), 489-497.
- Calignano, F., Tommasi, T., Manfredi, D., Chiolerio, A. (2015). Additive manufacturing of a microbial fuel cell—A detailed study. *Scientific Reports*, 5(1), 17373.
- Castresana, P. A., Martinez, S. M., Freeman, E., Eslava, S., Di Lorenzo, M. (2019). Electricity generation from moss with light-driven microbial fuel cells. *Electrochimica Acta*, 298, 934-942.
- Cervantes-Alcalá, R., Arrocha-Arcos, A. A., Peralta-Peláez, L. A., Ortega-Clemente, L. A. (2012). Electricity generation in sediment plant microbial fuel cells (SPMFC) in warm climates using *Typha domingensis* pers. *International Research Journal of Biotechnology*, 3(9), 166-173.
- Chae, K. J., Choi, M. J., Lee, J. W., Kim, K. Y., Kim, I. S. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 100(14), 3518-3525.
- Chen, Z., Huang, Y. C., Liang, J. H., Zhao, F., Zhu, Y. G. (2012). A novel sediment microbial fuel cell with a biocathode in the rice rhizosphere. *Bioresource Technology*, 108, 55-59.
- Cheng, S., Liu, H., Logan, B. E. (2006). Increased performance of single-chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. *Electrochemistry Communications*, 8(3), 489-494.
- Chiranjeevi, P., Mohanakrishna, G., Mohan, S. V. (2012). Rhizosphere mediated electrogenesis with the function of anode placement for harnessing bioenergy through CO₂ sequestration. *Bioresource Technology*, 124, 364-370.
- Cho, I. H., Zoh, K. D. (2007). Photocatalytic degradation of azo dye (Reactive Red 120) in TiO₂/UV system: Optimization and modeling using a response surface methodology (RSM) based on the central composite design. *Dyes Pigm.* 75, 533-543.
- Corbella, C., Garfí, M., Puigagut, J. (2014). Vertical redox profiles in treatment wetlands as function of hydraulic regime and macrophytes presence: Surveying the optimal scenario for microbial fuel cell implementation. *Science of the Total Environment*, 470, 754-758.
- Corbella, C., Puigagut, J. (2016). Microbial fuel cells implemented in constructed wetlands: Fundamentals, current research and future perspectives. *Contributions to Science*, 113-120.
- Corbella, C., Puigagut, J., Garfí, M. (2017). Life cycle assessment of constructed wetland systems for wastewater treatment coupled with microbial fuel cells. *Science of the Total Environment*, 584, 355-362.

- Cornejo, J. A., Lopez, C., Babanova, S., Santoro, C., Artyushkova, K., Ista, L., Atanassov, P. (2015). Surface modification for enhanced biofilm formation and electron transport in *Shewanella* anodes. *Journal of the Electrochemical Society*, 162(9), 597-603.
- Cristiani, P., Carvalho, M. L., Guerrini, E., Daghighi, M., Santoro, C., Li, B. (2013). Cathodic and anodic biofilms in single chamber microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, 92, 6-13.
- Damjanovic, A., Genshaw, M. A., Bockris, J. O. M. (1966). Distinction between intermediates produced in main and side electroodic reactions. *The Journal of Chemical Physics*, 45(11), 4057-4059.
- De Schampelaire, L., Cabezas, A., Marzorati, M., Friedrich, M. W., Boon, N., Verstraete, W. (2010). Microbial community analysis of anodes from sediment microbial fuel cells powered by rhizodeposits of living rice plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(6), 2002-2008.
- Deng, H., Chen, Z., Zhao, F. (2012). Energy from plants and microorganisms: Progress in plant-microbial fuel cells. *ChemSusChem*, 5(6), 1006-1011.
- Deng, H., Cheng, W., Zhang, F. (2014). Factors affecting the performance of single-chamber soil microbial fuel cells for power generation. *Pedosphere*, 24(3), 330-338.
- Dijkstra, P., Thomas, S. C., Heinrich, P. L., Koch, G. W., Schwartz, E., Hungate, B. A. (2011). Effect of temperature on metabolic activity of intact microbial communities: evidence for altered metabolic pathway activity but not for increased maintenance respiration and reduced carbon use efficiency. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2023-2031.
- Dincer, I., Acar, C. (2015). Review and evaluation of hydrogen production methods for better sustainability. *International journal of hydrogen energy*, 40(34), 11094-11111.
- Doherty, L., Zhao, Y., Zhao, X., Hu, Y., Hao, X., Xu, L., Liu, R. (2015^a). A review of a recently emerged technology: Constructed wetland-Microbial fuel cells. *Water Research*, 85, 38-45.
- Doherty, L., Zhao, Y., Zhao, X., Wang, W. (2015^b). Nutrient and organics removal from swine slurry with simultaneous electricity generation in an alum sludge-based constructed wetland incorporating microbial fuel cell technology. *Chemical Engineering Journal*, 266, 74-81.
- Doidy, J., van Tuinen, D., Lamotte, O., Corneillat, M., Alcaraz, G., Wipf, D. (2012). The *Medicago truncatula* sucrose transporter family: characterization and implication of key members in carbon partitioning towards arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Plant*, 5(6), 1346-1358.
- Drincovich, M. F., Voll, L. M., Maurino, V. G. (2016). On the diversity of roles of organic acids. *Frontiers in plant science*, 7, 1592.
- Du, Z., Li, H., Gu, T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, 25(5), 464-482.
- Durand, M., Mainson, D., Porcheron, B., Maurousset, L., Lemoine, R., Pourtau, N. (2018). Carbon source-sink relationship in *Arabidopsis thaliana*: the role of sucrose transporters. *Planta*, 247(3), 587-611.
- Dyson, B. C., Miller, M. A., Feil, R., Rattray, N., Bowsher, C. G., Goodacre, R., Johnson, G. N. (2016). FUM2, a cytosolic fumarase, is essential for acclimation to low temperature in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 172(1), 118-127.
- Eisenhut, M., Bräutigam, A., Timm, S., Florian, A., Tohge, T., Fernie, A. R., Weber, A. P. (2017). Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. *Molecular Plant*, 10(1), 47-61.
- Epifanio, M., Inguva, S., Kitching, M., Mosnier, J. P., Marsili, E. (2015). Effects of atmospheric air plasma treatment of graphite and carbon felt electrodes on the anodic current from *Shewanella* attached cells. *Bioelectrochemistry*, 106, 186-193.
- Estrada-Arriaga, E. B., Hernández-Romano, J., García-Sánchez, L., Garcés, R. A. G., Bahena-Bahena, E. O., Guadarrama-Pérez, O., Chavez, G. E. M. (2018). Domestic wastewater treatment and power generation in continuous flow air-cathode stacked microbial fuel cell: Effect of series and parallel configuration. *Journal of environmental management*, 214, 232-241.
- Ezeta, A. (2011). Estudio de la cinética de la reacción de reducción de oxígeno sobre electrodos Bi- y Trimetálicos sintetizados por aleado mecánico. Tesis Doctoral. Instituto Politécnico Nacional. CDMX, México.
- Fan, Y., Han, S. K., Liu, H. (2012). Improved performance of CEA microbial fuel cells with increased reactor size. *Energy and Environmental Science*, 5(8), 8273-8280.
- Fang, Z., Cheng, S., Wang, H., Cao, X., Li, X. (2018). Feasibility study of simultaneous azo dye decolorization and bioelectricity generation by microbial fuel cell-coupled constructed wetland: substrate effects. *RSC Advances*, 7(27), 16542-16552.
- Fang, Z., Song, H. L., Cang, N., Li, X. N. (2013). Performance of microbial fuel cell coupled constructed wetland system for decolorization of azo dye and bioelectricity generation. *Bioresource Technology*, 144, 165-171.
- Fang, Z., Song, H. L., Cang, N., Li, X. N. (2015). Electricity production from Azo dye wastewater using a microbial fuel cell coupled constructed wetland operating under different operating conditions. *Biosensors and Bioelectronics*, 68, 135-141.

- Ferreira, C. D. S., Piedade, M. T. F., Tiné, M. A. S., Rossatto, D. R., Parolin, P., Buckeridge, M. S. (2009). The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment of *Himatanthus sucuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Annals of Botany*, 104(6), 1111-1119.
- Franks, A. E., Malvankar, N., Nevin, K. P. (2010). Bacterial biofilms: the powerhouse of a microbial fuel cell. *Biofuels*, 1(4), 589-604.
- Gajda, I., Greenman, J., Melhuish, C., Santoro, C., Li, B., Cristiani, P., Ieropoulos, I. (2014). Water formation at the cathode and sodium recovery using microbial fuel cells (MFCs). *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 7, 187-194.
- García-Villarrubia, A. (2015). Valoración energética y tratamiento de aguas residuales mediante celdas de combustible microbiológicas. Tesis Doctoral. Universidad la Mancha. Ciudad Real, España.
- García, J. D. (2018). Oxidación electroquímica de compuestos farmacéuticos presentes en agua residual. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelos, Mexico.
- García, K., Doidy, J., Zimmermann, S. D., Wipf, D., Courty, P. E. (2016). Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends in Plant Science*, 21(11), 937-950.
- Ghassemi, Z., Slaughter, G. (2017). Biological Fuel Cells and Membranes. *Membranes*, 7(1), 3.
- Gilani, S. R., Yaseen, A., Zaidi, S. R. A., Zahra, M., Mahmood, Z. (2016). Photocurrent Generation through Plant Microbial Fuel Cell by Varying Electrode Materials. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 38(1).
- Giorgi, L., Leccese, F. (2013). Fuel Cells: Technologies and Applications. *The Open Fuel Cells Journal*, (6), 1-20.
- González, H. (2005). Síntesis y estudio electrocatalítico de compuestos de rutenio para su aplicación en una celda de combustible con membrana de intercambio protónico. Cap. 1-5. CINVESTAV, México.
- Goto, Y., Yoshida, N., Umeyama, Y., Yamada, T., Tero, R., Hiraishi, A. (2015). Enhancement of electricity production by graphene oxide in soil microbial fuel cells and plant microbial fuel cells. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 3, 42.
- Guadarrama-Pérez, O., Hernández-Romano, J., García-Sánchez, L., Gutierrez-Macias, T., Estrada-Arriaga, E. B. (2019). Simultaneous bio-electricity and bio-hydrogen production in a continuous flow single microbial electrochemical reactor. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 38(1), 297-304.
- Guerrini, E., Grattieri, M., Trasatti, S. P., Bestetti, M., Cristiani, P. (2014). Performance explorations of single chamber microbial fuel cells by using various microelectrodes applied to biocathodes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(36), 21837-21846.
- Gupta, S., Srivastava, P., Yadav, A. K. (2020). Integration of microbial fuel cell into constructed wetlands: effects, applications, and future outlook. In *Integrated Microbial Fuel Cells for Wastewater Treatment* (pp. 273-293). Butterworth-Heinemann.
- Habibul, N., Hu, Y., Wang, Y. K., Chen, W., Yu, H. Q., Sheng, G. P. (2016). Bioelectrochemical chromium (VI) removal in plant-microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 50(7), 3882-3889.
- He, Y. R., Xiao, X., Li, W. W., Sheng, G. P., Yan, F. F., Yu, H. Q., Wu, L. J. (2012). Enhanced electricity production from microbial fuel cells with plasma-modified carbon paper anode. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(28), 9966-9971.
- He, Z., Olk, D. C., Tewolde, H., Zhang, H., Shankle, M. (2020). Carbohydrate and Amino Acid Profiles of Cotton Plant Biomass Products. *Agriculture*, 10(1), 2.
- Helder, M. (2012). Design criteria for the plant-microbial fuel cell: electricity generation with living plants: from lab tot application. Tesis Doctoral. Universidad de Wageningen. Wageningen, Holanda.
- Helder, M., Strik, D. P. B. T. B., Hamelers, H. V. M., Kuhn, A. J., Blok, C., Buisman, C. J. N. (2010). Concurrent bio-electricity and biomass production in three Plant-Microbial Fuel Cells using *Spartina anglica*, *Arundinella anomala* and *Arundo donax*. *Bioresource Technology*, 101(10), 3541-3547.
- Helder, M., Strik, D. P., Hamelers, H. V., Buisman, C. J. (2012). The flat-plate plant-microbial fuel cell: the effect of a new design on internal resistances. *Biotechnology for Biofuels*, 5(1), 70.
- Hennion, N., Durand, M., Vriet, C., Doidy, J., Maurousset, L., Lemoine, R., Pourtau, N. (2019). Sugars en route to the roots. Transport, metabolism and storage within plant roots and towards microorganisms of the rhizosphere. *Physiologia Plantarum*, 165(1), 44-57.
- Higgins, S. R., Foerster, D., Cheung, A., Lau, C., Bretschger, O., Minter, S. D., Cooney, M. J. (2011). Fabrication of macroporous chitosan scaffolds doped with carbon nanotubes and their characterization in microbial fuel cell operation. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(6-7), 458-465.
- Hu, X., Tian, X., Lin, Y. W., Wang, Z. (2019). Nickel foam and stainless steel mesh as electrocatalysts for hydrogen evolution reaction, oxygen evolution reaction and overall water splitting in alkaline media. *RSC Advances*, 9(54), 31563-31571.
- Huan, D., Yi-Cheng, U., Zhang, F., Zheng, C., Hui-Juan, U., Feng, Z. (2014). Factors affecting the performance of single-chamber soil microbial fuel cells for power generation. *Pedosphere*, 24(3), 330-338.

- Ibarra, A., (2011). Characterization of organic acids of low molecular weight present in root exudates of *Zea mays*: applications for the remediation of soils contaminated by heavy metals. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de León, Nuevo León, México.
- Ivory, D. A., Whiteman, P. C. (1978). Effect of temperature on growth of five subtropical grasses. I. Effect of day and night temperature on growth and morphological development. *Functional Plant Biology*, 5(2), 131-148.
- Jadhav, G. S., Ghangrekar, M. M. (2009). Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource Technology*, 100(2), 717-723.
- Janeček, Š., Klimešová, J. (2014). Carbohydrate storage in meadow plants and its depletion after disturbance: do roots and stem-derived organs differ in their roles?. *Oecologia*, 175(1), 51-61.
- Jawre, A., Chauhan, P., Patel, A., Prajapati, H., Sandhu, S. S. (2019). Bioelectricity Potential through Plant Microbial Fuel Cell System Using by *Cynodon dactylon* (Dooba ghas).
- Jingyu, H., Miwornunyue, N., Ewusi-Mensah, D., Koomson, D. A. (2020). Assessing the factors influencing the performance of constructed wetland–microbial fuel cell integration. *Water Science and Technology*, 81(4), 631-643.
- Juang, D. F., Lee, C. H., Hsueh, S. C. (2012). Comparison of electrogenic capabilities of microbial fuel cell with different light power on algae grown cathode. *Bioresource Technology*, 123, 23-29.
- Kabutey, F. T., Zhao, Q., Wei, L., Ding, J., Antwi, P., Quashie, F. K., Wang, W. (2019). An overview of plant microbial fuel cells (PMFCs): Configurations and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 110, 402-414.
- Kaewkannetra, P., Chiwes, W., Chiu, T. Y. (2011). Treatment of cassava mill wastewater and production of electricity through microbial fuel cell technology. *Fuel*, 90(8), 2746-2750.
- Kaku, N., Yonezawa, N., Kodama, Y., Watanabe, K. (2008). Plant/microbe cooperation for electricity generation in a rice paddy field. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(1), 43-49.
- Kalathil, S., Pant, D. (2016). Nanotechnology to rescue bacterial bidirectional extracellular electron transfer in bioelectrochemical systems. *RSC Advances*, 6(36), 30582-30597.
- Kalathil, S., Patil, S. A., Pant, D. (2017). Microbial Fuel Cells: Electrode Materials. *Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry*, 1-10.
- Khudzari, J. M. (2018). Bioelectricity Production in Compost, Soil, and Plant Microbial Fuel Cells. Tesis Doctoral. Universidad McGill. Québec, Canada.
- Kiers, E. T., Duhamel, M., Beesetty, Y., Mensah, J. A., Franken, O., Verbruggen, E., Palmer, T. M. (2011). Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *science*, 333(6044), 880-882.
- Kim, J., Park, H. (2019). Electrokinetic parameters of a vanadium redox flow battery with varying temperature and electrolyte flow rate. *Renewable Energy*, 138, 284-291.
- Koop-Jakobsen, K., Wenzhöfer, F. (2015). The dynamics of plant-mediated sediment oxygenation in *Spartina anglica* rhizospheres—A planar optode study. *Estuaries and Coasts*, 38(3), 951-963.
- Kouzuma, A., Kaku, N., Watanabe, K. (2014). Microbial electricity generation in rice paddy fields: recent advances and perspectives in rhizosphere microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(23), 9521-9526.
- Kumar, K., Man mohan, K., Manangath, S. P., Gajalaksmi. (2018). Terracotta separator based plant microbial fuel cells for bioelectricity and catholyte production. *International Journal of Applied Engineering Reserch*, 13(21): 14948-14955.
- Kurnatowski, M., Bortz, M., Klein, P., Kintzel, B., Cremers, C. (2017). Quantitative Kinetic Analysis of a Pd/Au Alloy Catalyst for Oxygen Electro-Reduction. *Journal of The Electrochemical Society*, 164(14), 1072.
- Kuzyakov, Y. (2010). Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), 1363-1371.
- Lamberg, P., Bren, K. L. (2016). Extracellular Electron Transfer on Sticky Paper Electrodes: Carbon Paste Paper Anode for Microbial Fuel Cells. *ACS Energy Letters*, 1(5), 895-898.
- Lemoine, R., La Camera, S., Atanassova, R., Dédaldéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N., Faucher, M. (2013). Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science*, 4, 272.
- Leong, J. X., Daud, W. R. W., Ghasemi, M., Liew, K. B., Ismail, M. (2013). Ion exchange membranes as separators in microbial fuel cells for bioenergy conversion: a comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 28, 575-587.
- Li, F., Li, Y. X., Cao, Y. X., Wang, L., Liu, C. G., Shi, L., Song, H. (2018). Modular engineering to increase intracellular NAD (H⁺) promotes rate of extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis*. *Nature Communications*, 9(1), 3637.
- Li, S., Cheng, C., Thomas, A. (2017^a). Carbon-based microbial-fuel-cell electrodes: From conductive supports to active catalysts. *Advanced Materials*, 29(8), 1602547.

- Li, Y., Li, Q., Wang, H., Zhang, L., Wilkinson, D. P., Zhang, J. (2019). Recent progresses in oxygen reduction reaction electrocatalysts for electrochemical energy applications. *Electrochemical Energy Reviews*, 1-21.
- Li, Y., Styczynski, J., Huang, Y., Xu, Z., McCutcheon, J., Li, B. (2017^b). Energy-positive wastewater treatment and desalination in an integrated microbial desalination cell (MDC)-microbial electrolysis cell (MEC). *Journal of Power Sources*, 356, 529-538.
- Liew, K. B., Daud, W. R. W., Ghasemi, M., Leong, J. X., Lim, S. S., Ismail, M. (2014). Non-Pt catalyst as oxygen reduction reaction in microbial fuel cells: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(10), 4870-4883.
- Lin, H., Wu, S. X., Zhu, J. (2018). Modeling Power Generation and Energy Efficiencies in Air-Cathode Microbial Fuel Cells Based on Freter Equations. *Applied Sciences*, 8(10), 1983.
- Liu, F., Sun, L., Wan, J., Tang, A., Deng, M., Wu, R. (2019^a). Organic matter and ammonia removal by a novel integrated process of constructed wetland and microbial fuel cells. *RSC Advances*, 9(10), 5384-5393.
- Liu, Q., Zhou, B., Zhang, S., Xu, D., Pan, R., Xia, S. (2019^b). Embedding Microbial Fuel Cells into the Vertical Flow Constructed Wetland Enhanced Denitrogenation and Water Purification. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(3), 1799-1804.
- Liu, S., Song, H., Li, X., Yang, F. (2013). Power generation enhancement by utilizing plant photosynthate in microbial fuel cell coupled constructed wetland system. *International Journal of Photoenergy*, 2013, 1-10.
- Liu, W., Cheng, S., Guo, J. (2014). Anode modification with formic acid: A simple and effective method to improve the power generation of microbial fuel cells. *Applied Surface Science*, 320, 281-286.
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Rabaey, K. (2006). Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental Science and Technology*, 40(17), 5181-5192.
- 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 and Technology*, 41(9), 3341-3346.
- Lopes, T., Kucernak, A., Malko, D., Ticianelli, E. A. (2016). Mechanistic Insights into the Oxygen Reduction Reaction on Metal-N-C Electrocatalysts under Fuel Cell Conditions. *Chem. Electro. Chem.*, (3), 1580-1590.
- Lu, L., Xing, D., Ren, Z. J. (2015). Microbial community structure accompanied with electricity production in a constructed wetland plant microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 195, 115-121.
- Lu, M., Chen, S., Babanova, S., Phadke, S., Salvacion, M., Mirhosseini, A., Bretschger, O. (2017). Long-term performance of a 20-L continuous flow microbial fuel cell for treatment of brewery wastewater. *Journal of Power Sources*, 356, 274-287.
- Ma, R., Lin, G., Zhou, Y., Liu, Q., Zhang, T., Shan, G., Wang, J. (2019). A review of oxygen reduction mechanisms for metal-free carbon-based electrocatalysts. *npj Computational Materials*, 5(1), 1-15.
- Manohar, K., Shinde A. A., Supriya, S. (2017). Green electricity production from living plant and microbial fuel cell. *International Journal of Advance Research in Science and Engineering*, 6(09): 459-466.
- Maricle, B. R., Lee, R. W. (2007). Root respiration and oxygen flux in salt marsh grasses from different elevational zones. *Marine Biology*, 151(2), 413-423.
- Matsuura, H. N., Fett-Neto, A. G. (2015). Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms of action. *Plant toxins*, 1-15.
- McCormick, A. J., Bombelli, P., Bradley, R. W., Thorne, R., Wenzel, T., Howe, C. J. (2015). Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems. *Energy Environ. Sci.*, 8(4), 1092-1109.
- Medeiros, D. B., Martins, S. C., Cavalcanti, J. H. F., Daloso, D. M., Martinoia, E., Nunes-Nesi, A., Araújo, W. L. (2016). Enhanced photosynthesis and growth in ataquac knockout mutants are due to altered organic acid accumulation and an increase in both stomatal and mesophyll conductance. *Plant Physiology*, 170(1), 86-101.
- Menolasina, S. (2004). *Fundamentos y aplicaciones de Electroquímica*. Universidad de los Andes, Consejo de Publicaciones, Mérida, Venezuela.
- Merino-Jimenez, I., Santoro, C., Rojas-Carbonell, S., Greenman, J., Ieropoulos, I., Atanassov, P. (2016). Carbon-based air-breathing cathodes for microbial fuel cells. *Catalysts*, 6(9), 127.
- Min, B., Román, Ó. B., Angelidaki, I. (2008). Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance. *Biotechnology Letters*, 30(7), 1213-1218.
- Miotto-Vilanova, L., Jacquard, C., Courteaux, B., Wortham, L., Michel, J., Clément, C., Sanchez, L. (2016). *Burkholderia phytofirmans* PsJN confers grapevine resistance against *Botrytis cinerea* via a direct antimicrobial effect combined with a better resource mobilization. *Frontiers in plant science*, 7, 1236.
- Mohan, S. V., Mohanakrishna, G., Chiranjeevi, P. (2011). Sustainable power generation from floating macrophytes based ecological microenvironment through embedded fuel cells along with simultaneous wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 102(14), 7036-7042.
- Moore, J. C., McCann, K., de Ruiter, P. C. (2007). Soil rhizosphere food webs, their stability, and implications for soil processes in ecosystems. In *The Rhizosphere* (pp. 101-125). Academic Press.

- Moqsud, M. A., Yoshitake, J., Bushra, Q. S., Hyodo, M., Omine, K., Strik, D. (2015). Compost in plant microbial fuel cell for bioelectricity generation. *Waste Management*, 36, 63-69.
- Nakanishi-Matsui, M., Futai, M. (2008). Stochastic rotational catalysis of proton pumping F-ATPase. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1500), 2135-2142.
- Narimisa, M. R., Narimisa, M. R. (2018). Climate Change and Global warming overview; Assessing Climate Change and Global Warming in local scale. *Revista Publicando*, 5(14), 570-580.
- Nattawut, K., Holasut, K. (2015). Electricity Generation of Plant Microbial Fuel Cell (PMFC) using *Cyperus Involucratus* R. *Engineering and Applied Science Research*, 42(1), 117-124.
- Neczaj, E., Grosser, A. (2018). Circular Economy in Wastewater Treatment Plant—Challenges and Barriers. In *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, 2, (11), 614.
- Negahdar, L., Zeng, F., Palkovits, S., Broicher, C., Palkovits, R. (2019). Mechanistic Aspects of the Electrocatalytic Oxygen Evolution Reaction over Ni-Co Oxides. *ChemElectroChem*, 6(22), 5588-5595.
- Nguyen, V., Nitorisavut, R. (2019). Bioelectricity Generation in Plant Microbial Fuel Cell Using Forage Grass under Variations of Circadian Rhythm, Ambient Temperature, and Soil Water Contents. *IEEE Asia Power and Energy Engineering Conference (APEEC)* (pp. 240-244).
- Nitorisavut, R., Regmi, R. (2017). Plant microbial fuel cells: A promising biosystems engineering. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 81-89.
- Novoa, C. (2011). Aprovechamiento de coque de petróleo como aditivo en la producción de coque siderúrgico. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- 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.
- Okada, K., Abe, H., Arimura, G. I. (2015). Jasmonates induce both defense responses and communication in *monocotyledonous* and *dicotyledonous* plants. *Plant and Cell Physiology*, 56(1), 16-27.
- Oliveros-Bastidas, A. D. J., Macías, F. A., Fernández, C. C., Marín, D., Molinillo, J. M. (2009). Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. *Química nova*, 32(1), 198-213.
- Olivier, J. G., Schure, K. M., Peters, J. A. H. W. (2017). Trends in global CO₂ and total greenhouse gas emissions. PBL Netherlands Environmental Assessment Agency, 5.
- Omondi, J. O., Lazarovitch, N., Rachmilevitch, S., Yermiyahu, U., Sperling, O. (2019). High nitrogen availability limits photosynthesis and compromises carbohydrate allocation to storage in roots of *Manihot esculenta* Crantz. *Frontiers in plant science*, (10), 1-9.
- Oon, Y. L., Ong, S. A., Ho, L. N., Wong, Y. S., Dahalan, F. A., Oon, Y. S., Nordin, N. (2017). Role of macrophyte and effect of supplementary aeration in up-flow constructed wetland-microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and energy recovery. *Bioresource Technology*, 224, 265-275.
- Oon, Y. L., Ong, S. A., Ho, L. N., Wong, Y. S., Oon, Y. S., Lehl, H. K., Thung, W. E. (2015). Hybrid system up-flow constructed wetland integrated with microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and electricity generation. *Bioresource technology*, 186, 270-275.
- Pabón Pereira, C.P., (2009). Anaerobic Digestion in Sustainable Biomass Chains Subdepartment of Environmental Technology. Wageningen University, Wageningen, Holanda.
- Pandit, S., Chandrasekhar, K., Kakarla, R., Kadier, A., Jeevitha, V. (2017). Basic principles of microbial fuel cell: technical challenges and economic feasibility. In *Microbial Applications Vol. 1* (pp. 165-188). Springer, Cham.
- Pant, D., Singh, A., Van Bogaert, G., Gallego, Y. A., Diels, L., Vanbroekhoven, K., (2011). An introduction to the life cycle assessment (LCA) of bioelectrochemical systems (BES) for sustainable energy and product generation: Relevance and key aspects; *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (15), 1305-1313.
- Patil, S. A., Harnisch, F., Kapadnis, B., Schröder, U. (2010). Electroactive mixed culture biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of temperature for biofilm formation and performance. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(2), 803-808.
- Pausch, J., Kuzyakov, Y. (2011). Photoassimilate allocation and dynamics of hotspots in roots visualized by 14C phosphor imaging. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(1), 12-19.
- Penfield, S., Clements, S., Bailey, K. J., Gilday, A. D., Leegood, R. C., Gray, J. E., Graham, I. A. (2012). Expression and manipulation of *phosphoenolpyruvate carboxykinase* 1 identifies a role for malate metabolism in stomatal closure. *The Plant Journal*, 69(4), 679-688.
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista boliviana de química*, 31(2), 68-81.
- Perveen, S., Al-Taweel, A. (Eds.). (2018). Terpenes and Terpenoids. *BoD—Books on Demand*.
- Ponce, M. A., Scervino, J. M., Erra-Balsells, R., Ocampo, J. A., Godeas, A. M. (2004). Flavonoids from shoots, roots and roots exudates of *Brassica alba*. *Phytochemistry*, 65(23), 3131-3134.

- Poulter, B., MacBean, N., Hartley, A., Khlystova, I., Arino, O., Betts, R., Hagemann, S. (2015). Plant functional type classification for earth system models: results from the European Space Agency's Land Cover Climate Change Initiative. *Geoscientific Model Development*, 8, 2315-2328.
- Pradeep, A., Bharathi, S. V., Ali, M. S. (2020). Preliminary phytochemical, microscopic analysis and metabolite profiling of Phoenix pusilla root. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(03), 128-134.
- Prasad, J., Tripathi, R. K. (2018). Plant Microbial Fuel Cell Energy Harvesting Boost Converter With/Without the Super Capacitor. *Majlesi Journal of Mechatronic Systems*, 6(4), 7-13.
- Rabaey, K., Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology*, 23(6), 291-298.
- Redondas, M. (2013). Obtención de hidrógeno mediante la fermentación oscura de residuos de comida y lactosuero. Tesis Doctoral. Universidad de León. León, España.
- Regmi, R. (2017). Examining different classes of plants under various operating conditions for bioelectricity production in plant microbial fuel cell. Tesis doctoral. Universidad Thammasat. Bangkok, Tailandia.
- Regmi, R., Nitorisavut, R., Charoenroongtavee, S., Yimkhaopong, W., Phanthurat, O. (2018^a). Earthen Pot–Plant Microbial Fuel Cell Powered by Vetiver for Bioelectricity Production and Wastewater Treatment. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 46(3), 1700193.
- Regmi, R., Nitorisavut, R., Ketchaimongkol, J. (2018^b). A decade of plant-assisted microbial fuel cells: looking back and moving forward. *Biofuels*, 9(5), 605-612.
- Rincon, V. A., Carvalhais, L. C., Schenk, P. M. (2013). Culture-independent molecular tools for soil and rhizosphere microbiology. *Diversity*, 5(3), 581-612.
- Rivera, A. (2014). Generación de en una celda de electrólisis microbiana alimentada con ácidos grasos volátiles. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de México. D.F., México.
- Rojas-Carbonell, S., Santoro, C., Serov, A., Atanassov, P. (2017). Transition metal-nitrogen-carbon catalysts for oxygen reduction reaction in neutral electrolyte. *Electrochemistry Communications*, 75, 38-42.
- Rose, M. A., Williamson, M. A., Willit, J. (2015). Determining the exchange current density and tafel constant for uranium in LiCl/KCl eutectic. *ECS Electrochemistry Letters*, 4(1), C5.
- Rossi, M., Tosato, P., Gemma, L., Torquati, L., Catania, C., Camalò, S., Brunelli, D. (2017). Long range wireless sensing powered by plant-microbial fuel cell. In *Design, Automation and Test in Europe Conference and Exhibition (DATE)*, (pp. 1651-1654).
- Ruiz, V., Ilhan, Z. E., Kang, D. W., Krajmalnik-Brown, R., Buitrón, G. (2014). The source of inoculum plays a defining role in the development of MEC microbial consortia fed with acetic and propionic acid mixtures. *Journal of biotechnology*, 182, 11-18.
- Rusyn, I. B., Hamkalo, K. R. (2018). Bioelectricity production in an indoor plant-microbial biotechnological system with *Alisma plantago-aquatica*. *Acta Biologica Szegediensis*, 62(2), 170-179.
- Sankarasubramanian, S., Seo, J., Mizuno, F., Singh, N., Prakash, J. (2017). Elucidating the oxygen reduction reaction kinetics and the origins of the anomalous Tafel behavior at the lithium–oxygen cell cathode. *The Journal of Physical Chemistry C*, 121(9), 4789-4798.
- Santoro, C., Agrios, A. G., Li, B., Cristiani, P. (2012). The correlation of the anodic and cathodic open circuit potential (OCP) and power generation in microbial fuel cells (MFCs). *ECS Transactions*, 41(11), 45-53.
- 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.
- Santoro, C., Flores-Cadengo, C., Soavi, F., Kodali, M., Merino-Jimenez, I., Gajda, I., Atanassov, P. (2018). Ceramic Microbial Fuel Cells Stack: power generation in standard and supercapacitive mode. *Scientific reports*, 8(1), 3281.
- Saz, Ç., Türe, C., Türker, O. C., Yakar, A. (2018). Effect of vegetation type on treatment performance and bioelectric production of constructed wetland modules combined with microbial fuel cell (CW-MFC) treating synthetic wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(9), 8777-8792.
- Schrader, J., Bohlmann, J. (Eds.). (2015). *Biotechnology of isoprenoids* (Vol. 149). Switzerland: Springer.
- Selim, H. M., Kamal A. M., Ali, D. M., Hassan, R. Y. (2017). Bioelectrochemical systems for measuring microbial cellular functions. *Electroanalysis*, 29(6), 1498-1505.
- Sevda, S., Dominguez-Benetton, X., Vanbroekhoven, K., Sreerkrishnan, T. R., Pant, D. (2013). Characterization and comparison of the performance of two different separator types in air–cathode microbial fuel cell treating synthetic wastewater. *Chemical engineering journal*, 228, 1-11.
- Seviour, T., Doyle, L. E., Lauw, S. J. L., Hinks, J., Rice, S. A., Nesatyy, V. J., Marsili, E. (2015). Voltammetric profiling of redox-active metabolites expressed by *Pseudomonas aeruginosa* for diagnostic purposes. *Chemical Communications*, 51(18), 3789-3792.
- Sgarbi, R., Kumar, K., Jaouen, F., Zitolo, A., Ticianelli, E. A., Maillard, F. (2019). Oxygen reduction reaction mechanism and kinetics on M-N_xC_y and M@N-C active sites present in model M-N-C catalysts under alkaline and acidic conditions. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 1-12.

- Shen, H. B., Yong, X. Y., Chen, Y. L., Liao, Z. H., Si, R. W., Zhou, J., Zheng, T. (2014). Enhanced bioelectricity generation by improving pyocyanin production and membrane permeability through sophorolipid addition in *Pseudomonas aeruginosa*-inoculated microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 167, 490-494.
- Shen, X., Zhang, J., Liu, D., Hu, Z., Liu, H. (2018). Enhance performance of microbial fuel cell coupled surface flow constructed wetland by using submerged plants and enclosed anodes. *Chemical Engineering Journal*, 351, 312-318.
- Shi, Y., Yang, X., Ning, X., Yang, Q. (2018). Research progress of microbial fuel cell and constructed wetland coupling system. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (199), 1-9.
- Shin, K. S., Murthy, H. N., Heo, J. W., Hahn, E. J., Paek, K. Y. (2008). The effect of light quality on the growth and development of in vitro cultured *Doritaenopsis plants*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(3), 339-343.
- Shinagawa, T., Garcia-Esparza, A. T., Takanabe, K. (2015). Insight on Tafel slopes from a microkinetic analysis of aqueous electrocatalysis for energy conversion. *Scientific reports*, 5, 13801.
- Singh, H. M., Pathak, A. K., Chopra, K., Tyagi, V. V., Anand, S., Kothari, R. (2018). Microbial fuel cells: a sustainable solution for bioelectricity generation and wastewater treatment. *Biofuels*, 10(1), 11-31.
- Sivaram, A. K., Logeshwaran, P., Subashchandrabose, S. R., Lockington, R., Naidu, R., Megharaj, M. (2018). Comparison of plants with C3 and C4 carbon fixation pathways for remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soils. *Scientific Reports*, 8(1), 2100.
- Song, H., Zhang, S., Long, X., Yang, X., Li, H., Xiang, W. (2017). Optimization of Bioelectricity Generation in Constructed Wetland-Coupled Microbial Fuel Cell Systems. *Water*, 9(3), 185.
- Sophia, A. C., Sreeja, S. (2017). Green energy generation from plant microbial fuel cells (PMFC) using compost and a novel clay separator. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 21, 59-66.
- Srikanth, S., Mohan, S. V. (2012). Influence of terminal electron acceptor availability to the anodic oxidation on the electrogenic activity of microbial fuel cell (MFC). *Bioresource Technology*, 123, 480-487.
- Srivastava, P., Abbassi, R., Garaniya, V., Lewis, T., Yadav, A. K. (2020). Performance of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetland coupled with a microbial fuel cell for treating wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 33, 100994.
- Srivastava, P., Dwivedi, S., Kumar, N., Abbassi, R., Garaniya, V., Yadav, A. K. (2017). Performance assessment of aeration and radial oxygen loss assisted cathode based integrated constructed wetland-microbial fuel cell systems. *Bioresource Technology*, 244, 1178-1182.
- Srivastava, P., Yadav, A. K., Mishra, B. K. (2015). The effects of microbial fuel cell integration into constructed wetland on the performance of constructed wetland. *Bioresource Technology*, 195, 223-230.
- Strik, D. P., Snel, J. F., Buisman, C. J. (2008). Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell. *International Journal of Energy Research*, 32(9), 870-876.
- Strik, D. P., Timmers, R. A., Helder, M., Steinbusch, K. J., Hamelers, H. V., Buisman, C. J. (2011). Microbial solar cells: applying photosynthetic and electrochemically active organisms. *Trends in biotechnology*, 29(1), 41-49.
- Suárez-Alcántara, K., Solorza-Feria, O. (2010). Evaluation of $Ru_xW_ySe_z$ catalyst as a cathode electrode in a polymer electrolyte membrane fuel cell. *Fuel Cells*, 10(1), 84-92.
- Sudirjo, E. (2020). Plant microbial fuel cell in paddy field: A power source for rural area. Tesis Doctoral. Wageningen University. Wageningen, Países Bajos.
- Sudirjo, E., Buisman, C. J., Strik, D. P. (2019). Activated Carbon Mixed with Marine Sediment is Suitable as Bioanode Material for *Spartina anglica* Sediment/Plant Microbial Fuel Cell: Plant Growth, Electricity Generation, and Spatial Microbial Community Diversity. *Water*, 11(9), 1810.
- Takanezawa, K., Nishio, K., Kato, S., Hashimoto, K., Watanabe, K. (2010). Factors affecting electric output from rice-paddy microbial fuel cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(6), 1271-1273.
- Tamta, P., Rani, N., Yadav, A. K. (2020). Enhanced wastewater treatment and electricity generation using stacked constructed wetland-microbial fuel cells. *Environmental Chemistry Letters*, 1-9.
- Tapia, N., Rojas, C., Bonilla, C., Vargas, I. (2018). A New Method for Sensing Soil Water Content in Green Roofs Using Plant Microbial Fuel Cells. *Sensors*, 18(1), 71.
- Timmers, R. A., Rothballer, M., Strik, D. P., Engel, M., Schulz, S., Schlöter, M., Hartmann, A., Hamelers, B., Buisman, C. (2012). Microbial community structure elucidates performance of *Glyceria maxima* plant microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(2), 537-548.
- Timmers, R. A., Strik, D. P., Hamelers, H. V., Buisman, C. J. (2013). Electricity generation by a novel design tubular plant microbial fuel cell. *Biomass and Bioenergy*, 51, 60-67.
- 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.

- Treesubstorn, C., Chaiworn, W., Surareungchai, W., Thiravetyan, P. (2019). Increasing of electricity production from *Echinodosus cordifolius*-microbial fuel cell by inoculating *Bacillus thuringiensis*. *Science of the Total Environment*, 686, 538-545.
- Trejo-Téllez, L. I., Ramírez-Martínez, M., Gómez-Merino, F. C., García-Albarado, J. C., Baca-Castillo, G. A., Tejada-Sartorius, O. (2013). Physical and chemical evaluation of volcanic rocks and its use for tulip production. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(5), 863-876.
- Udvardi, M., Poole, P. S. (2013). Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses. *Annual review of plant biology*, 64, 781-805.
- Vargas, C. A. R., Arias, C. A., Zhang, L., Brix, H. (2018). Microbial Community Function in Electroactive Biofilm-based Constructed Wetlands. *Biogeosciences Discussions*, 1-28.
- Villasenor, J., Capilla, P., Rodrigo, M. A., Canizares, P., Fernandez, F. J. (2013). Operation of a horizontal subsurface flow constructed wetland-microbial fuel cell treating wastewater under different organic loading rates. *Water Research*, 47(17), 6731-6738.
- Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A. G., Pigna, M. (2010). Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3), 268-292.
- Wang, C., Guo, L., Li, Y., Wang, Z. (2012). Systematic comparison of C3 and C4 plants based on metabolic network analysis. *BMC Systems Biology*, 6(2), 9.
- Wang, H., Jiang, S.C., Wang, Y., Xiao, B. (2013^a). Substrate removal and electricity generation in a membrane-less microbial fuel cell for biological treatment of wastewater. *Bioresource Technology*, 138, 109-116.
- Wang, J., Song, X., Wang, Y., Bai, J., Li, M., Dong, G., Yan, D. (2017^a). Bioenergy generation and rhizodegradation as affected by microbial community distribution in a coupled constructed wetland-microbial fuel cell system associated with three macrophytes. *Science of the Total Environment*, 607, 53-62.
- Wang, J., Song, X., Wang, Y., Zhao, Z., Wang, B., Yan, D. (2017^b). Effects of electrode material and substrate concentration on the bioenergy output and wastewater treatment in air-cathode microbial fuel cell integrating with constructed wetland. *Ecological Engineering*, 99, 191-198.
- 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 and Technology*, 43(17), 6870-6874.
- Wang, Y., Zhao, Y., Xu, L., Wang, W., Doherty, L., Tang, C., Zhao, J. (2017^c). Constructed wetland integrated microbial fuel cell system: looking back, moving forward. *Water Science and Technology*, 76(2), 471-477.
- Wang, Z., Cao, C., Zheng, Y., Chen, S., Zhao, F. (2014). Abiotic oxygen reduction reaction catalysts used in microbial fuel cells. *ChemElectroChem*, 1(11), 1813-1821.
- Wang, Z., Deng, H., Chen, L., Xiao, Y., Zhao, F. (2013^b). In situ measurements of dissolved oxygen, pH and redox potential of biocathode microenvironments using microelectrodes. *Bioresource Technology*, 132, 387-390.
- Watson, V. J., Logan, B. E. (2011). Analysis of polarization methods for elimination of power overshoot in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 13(1), 54-56.
- Watson, V. J., Nieto Delgado, C., Logan, B. E. (2013). Influence of chemical and physical properties of activated carbon powders on oxygen reduction and microbial fuel cell performance. *Environmental Science and Technology*, 47(12), 6704-6710.
- Wetser, K. (2016). Electricity from wetlands: Technology assessment of the tubular Plant Microbial Fuel Cell with an integrated biocathode. Tesis Doctoral. Wageningen University, Wageningen, Holanda.
- Wetser, K., Sudirjo, E., Buisman, C. J., Strik, D. P. (2015). Electricity generation by a plant microbial fuel cell with an integrated oxygen reducing biocathode. *Applied Energy*, 137, 151-157.
- Włodarczyk, P. P., Włodarczyk, B. (2019). Wastewater Treatment and Electricity Production in a Microbial Fuel Cell with Cu-B Alloy as the Cathode Catalyst. *Catalysts*, 9(7), 572.
- Wroblowa, H. S., Razumney, G. (1976). Electroreduction of oxygen: a new mechanistic criterion. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 69(2), 195-201.
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S., Liu, H. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: design and operation. *Bioresource technology*, 175, 594-601.
- Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R. (2014). Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: a nitrogen and organic matter targeted review. *Water Research*, 57, 40-55.
- Wu, X. Y., Song, T. S., Zhu, X. J., Wei, P., Zhou, C. C. (2013). Construction and operation of microbial fuel cell with *Chlorella vulgaris* biocathode for electricity generation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171(8), 2082-2092.
- Xiao, L., He, Z. (2014). Applications and perspectives of phototrophic microorganisms for electricity generation from organic compounds in microbial fuel cells. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 37, 550-559.
- 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.

- Xie, X., Criddle, C., Cui, Y. (2015). Design and fabrication of bioelectrodes for microbial bioelectrochemical systems. *Energy and Environmental Science*, 8(12), 3418-3441.
- Xu, L., Zhao, Y., Doherty, L., Hu, Y., Hao, X. (2016^a). Promoting the bio-cathode formation of a constructed wetland-microbial fuel cell by using powder activated carbon modified alum sludge in anode chamber. *Scientific Reports*, 6, 26514.
- Xu, L., Zhao, Y., Doherty, L., Hu, Y., Hao, X. (2016^b). The integrated processes for wastewater treatment based on the principle of microbial fuel cells: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(1), 60-91.
- Xu, L., Zhao, Y., Wang, X., Yu, W. (2018). Applying multiple bio-cathodes in constructed wetland-microbial fuel cell for promoting energy production and bioelectrical derived nitrification-denitrification process. *Chemical Engineering Journal*, 344, 105-113.
- Yadav, A. K., Dash, P., Mohanty, A., Abbassi, R., Mishra, B. K. (2012). Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. *Ecological Engineering*, 47, 126-131.
- Yadav, A. K., Srivastava, P., Kumar, N., Abbassi, R., Mishra, B. K. (2018). Constructed Wetland-Microbial Fuel Cell: An Emerging Integrated Technology for Potential Industrial Wastewater Treatment and Bio-Electricity Generation. *Constructed Wetlands for Industrial Wastewater Treatment*, 493-510.
- Yan, D., Song, X., Weng, B., Yu, Z., Bi, W., Wang, J. (2018). Bioelectricity generation from air-cathode microbial fuel cell connected to constructed wetland. *Water Science and Technology*, 78(9), 1990-1996.
- Yan, Z., Jiang, H., Cai, H., Zhou, Y., Krumholz, L. R. (2015). Complex interactions between the macrophyte *Acorus calamus* and microbial fuel cells during pyrene and benzo [a] pyrene degradation in sediments. *Scientific Reports*, 5, 10709.
- Yang, L., Stöckigt, J. (2010). Trends for diverse production strategies of plant medicinal alkaloids. *Natural product reports*, 27(10), 1469-1479.
- Yang, Q., Wu, Z., Liu, L., Zhang, F., Liang, S. (2016). Treatment of oil wastewater and electricity generation by integrating constructed wetland with microbial fuel cell. *Materials*, 9(11), 885.
- Yao, Z., Su, W., Wu, D., Tang, J., Wu, W., Liu, J., Han, W. (2018). A state-of-the-art review of biohydrogen producing from sewage sludge. *International Journal of Energy Research*, 42(14), 4301-4312.
- Yasri, N. G., Nakhla, G. (2016). Electrochemical behavior of anode-respiring bacteria on doped carbon electrodes. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(51), 35150-35162.
- Yin, Y., Yu, C., Yu, L., Zhao, J., Sun, C., Ma, Y., Zhou, G. (2015). The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 187, 84-90.
- Young, M. N., Links, M. J., Popat, S. C., Rittmann, B. E., Torres, C. I. (2016). Tailoring microbial electrochemical cells for production of hydrogen peroxide at high concentrations and efficiencies. *ChemSusChem*, 9(23), 3345-3352.
- Zaman, B., Wardhana, I. W. (2018). Potential of Electric Power Production from Microbial Fuel Cell (MFC) in Evapotranspiration Reactor for Leachate Treatment Using *Alocasia macrorrhiza* Plant and *Eleusine indica* Grass. In *E3S Web of Conferences*, 31, 02010.
- Zhang, F., Ge, Z., Grimaud, J., Hurst, J., He, Z. (2013). Long-term performance of liter-scale microbial fuel cells treating primary effluent installed in a municipal wastewater treatment facility. *Environmental Science and Technology*, 47(9), 4941-4948.
- Zhang, K., Wu, X., Luo, H., Li, X., Chen, W., Chen, J., Wang, W. (2020). CH₄ control and associated microbial process from constructed wetland (CW) by microbial fuel cells (MFC). *Journal of Environmental Management*, 260, 110071.
- Zhang, Q., Song, X., Bartels, D. (2016). Enzymes and metabolites in carbohydrate metabolism of desiccation tolerant plants. *Proteomes*, 4(4), 40.
- Zhao, L., Chanon, A. M., Chattopadhyay, N., Dami, I. E., Blakeslee, J. J. (2016). Quantification of carbohydrates in grape tissues using capillary zone electrophoresis. *Frontiers in plant science*, 7, 818.
- Zhao, Y., Collum, S., Phelan, M., Goodbody, T., Doherty, L., Hu, Y. (2013). Preliminary investigation of constructed wetland incorporating microbial fuel cell: batch and continuous flow trials. *Chemical Engineering Journal*, 229, 364-370.
- Zhou, Y., Xu, D., Xiao, E., Xu, D., Xu, P., Zhang, X., Wu, Z. (2018). Relationship between electrogenic performance and physiological change of four wetland plants in constructed wetland-microbial fuel cells during non-growing seasons. *Journal of Environmental Sciences*, 70, 54-62.
- Zhu, X. G., Long, S. P., Ort, D. R. (2010). Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 235-261.
- Zurilla, R. W., Sen, R. K., Yeager, E. (1978). The kinetics of the oxygen reduction reaction on gold in alkaline solution. *Journal of the Electrochemical Society*, 125(7), 1103-1109.