



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS

*“Francisco García Salinas”*

Unidad Académica de Ciencias Químicas

Maestría en Ciencia y Tecnología Química

TESIS

***“Caracterización de celdas de combustible microbianas para la degradación de excipientes de medicamentos”***

Nombre del alumno:

I.A. Eduardo Arturo Enciso Hernández

Director: Dr. Sergio Miguel Durón Torres

Co-directora: Dra. Marisol Galván Valencia

Co-directora: Dr. en C. Verónica Ávila Vázquez

Mayo 2020

En Memoria de:

*Arturo Enciso Gonzales*

*Petra Perea Caldera*

*José Matilde Hernández Bañuelos*

*Berta Alicia de la Rosa Ortiz*

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo de investigación, se realizó en el Laboratorio de Electroquímica de la Maestría en Ciencia y Tecnología Química (MCTQ) de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, contando con los apoyos financieros otorgados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca de maestría con registro No. 2018-000068-02NACF.

Este trabajo no habría sido posible sin la guía y apoyo del Doctor Sergio Durón, gracias por la paciencia y el apoyo, GRACIAS POR TODO.

Agradecimiento especial a la Doctora Verónica, amiga y maestra durante todos estos años, su guía y apoyo me impulsan e inspiran a ser mejor un mejor investigador y ser humano, a superarme para algún día ser igual a usted, GRACIAS POR TODO.

A mis compañeros de generación y laboratorio en especial a Mike y a Ivon 2.0, al Sr. Pacheco, amigo y programador. Gracias por su amistad y tantas tardes de alegrías.

A Maribel, amiga y compañera de vida, gracias por tu apoyo, por tu cariño y tus bonitas palabras, tu apoyo incondicional me alentaba en los días en que me abrumaba y desesperaba.

A mi familia, gracias por su apoyo y cariño, esto va por ustedes.



LISTA DE TABLAS.....	
LISTA DE FIGURAS .....	
ABREVIATURAS.....	ii
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES .....	2
2.1 La salud en México.....	2
2.1.1 Principales enfermedades y padecimientos en México .....	2
2.1.2 Impacto ambiental de los excipientes.....	6
2.1.3 Impacto ambiental de los fármacos .....	9
2.1.4 Tratamiento y disposición de los residuos de medicamentos en México. .....	10
2.2 Energías renovables.....	12
2.2.1 Celdas de combustible.....	13
2.2.2 Celdas de combustible biológicas.....	15
2.2.3 Celdas de combustible microbianas .....	17
2.2.3.1 Microorganismos utilizados en las CCM .....	19
2.2.3.2 CCM en el tratamiento de residuos.....	20

2.3 Técnicas de caracterización electroquímicas .....	21
2.3.1 Voltamperometría cíclica.....	22
2.3.2 Voltamperometría de barrido lineal .....	24
2.3.3 Espectroscopía de impedancia electroquímica.....	25
2.3.4 Cronoamperometría .....	28
2.3.5 Eficiencia coulombimétrica.....	30
2.4 Técnicas de caracterización fisicoquímicas .....	31
2.4.1 Cromatografía líquida de alta eficiencia.....	31
2.4.2 Demanda Química de Oxígeno .....	32
JUSTIFICACIÓN .....	33
HIPÓTESIS .....	33
OBJETIVOS .....	34
Objetivo general.....	34
Objetivos específicos .....	34
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	35
6.1. Formación de biopelículas y evaluación electroquímica en media celda para diversos medicamentos .....	35
6.1.1 Selección de medicamentos .....	35
6.1.2 Preparación de los bioelectrodos.....	35

6.1.3 Evaluación en media celda de los bioánodos formados usando como sustrato los medicamentos. ....	36
6.1.4 Fotografías de la biopelícula .....	37
6.1.5 Acondicionamiento del inóculo.....	37
6.2. Simulación y construcción de prototipos de CCM .....	38
6.2.1 Prototipo 1.....	39
6.2.2 Prototipo 2 .....	39
6.2.3 Construcción del MEA.....	40
6.2.3.1 Activación e hidratación de la membrana de NAFION® .....	41
6.2.3.2 Ánodo .....	41
6.3 Simulación en COMSOL Multiphysics® .....	41
6.4 Construcción del sistema control y adquisición de datos. ....	42
6.4.1 Placa de control .....	43
6.4.2 Medición de temperatura: .....	43
6.4.3 Medición de voltajes de las celdas:.....	43
6.4.4 Almacenamiento de datos.....	44
6.5 Pruebas preliminares de los prototipos de las CCM.....	45
6.5.1 Soporte del MEA .....	45
6.5.2 Determinación del ciclo de degradación .....	45
6.6 Condiciones de operación de las CCM .....	46

6.7 Caracterización electroquímica del prototipo de CCM. ....	47
6.7.1 Determinación del ciclo de degradación y registro del VCA .....	47
6.7.2 Voltamperometría de barrido lineal .....	47
6.7.3 Espectroscopia de impedancia electroquímica.....	48
6.7.4 Cronoamperometría .....	49
6.7.5 Cálculo de la eficiencia coulombimétrica (EC).....	49
6.8 Caracterización fisicoquímica .....	50
6.8.1 Determinación de DQO.....	50
6.8.2 Determinación del porcentaje de degradación de medicamentos. ....	51
ANÁLISIS Y RESULTADOS .....	52
7.2 Elección del inóculo y medicamentos.....	53
7.2.3 Comparación de comportamiento electroquímico del bioelectrodo con los medicamentos elegido .....	57
7.2.3.1 Benzonatato: .....	57
7.2.3.2 Celecoxib (Celebrex): .....	58
7.2.3.3 Hidroclorantiazida:.....	59
7.2.3.4 Metroprolol:.....	60
7.2.3.5 Loratadina:.....	61
7.2.3.6 Naproxeno: .....	62
7.2.3.8 Paracetamol: .....	63

7.2.3.8 Pantoprazol: .....	64
7.2.3.9 Determinación de la composición de los excipientes.....	65
7.3 Análisis de formación de biopelículas por micrografías.....	66
7.4 Diseño de celdas .....	70
7.4.1 Análisis de flujos y temperaturas 2D a partir de la Simulación en Comsol .....	73
7.4.1.1 Comparación de dirección de flujos .....	73
7.4.1.2 Análisis de temperaturas: .....	75
7.5 Condiciones de operación y optimización del diseño .....	76
7.5.1 Optimización del MEA.....	76
7.5.1.1 Impedancia de soportes del MEA.....	76
7.5.1.2 Evaluación del ciclo de degradación del excipiente de los medicamentos evaluados.....	80
7.5.1.3 Efecto de la posición del ánodo den el desempeño de la celda.....	81
7.5.1.4 Prototipo final.....	84
7.6.1 Efecto dela temperatura en las CCM .....	84
7.6.1.1 Curvas de polarización de las CCM evaluadas a 25°C y 32°C.....	86
7.6.1.2 Evaluación de las CCM por Espectroscopía de impedancia Electroquímica a condiciones de temperatura ambiente y controlada .....	88
7.6.1.4 Estabilidad de las celdas .....	92

7.6.2 Evaluación del efecto de la concentración en el desempeño de las CCM	92
7.6.2.1 Curva de polarización de los medicamentos evaluados	93
7.6.2.2 Evaluación de las CCM con los medicamento por Espectroscopía de impedancia Electroquímica	95
7.6.2.4 Estabilidad de las celdas	97
7.6.3 Pruebas adicionales	98
7.6.3.1 Curva de polarización de los fármacos evaluados	100
7.6.3.2 Evaluación de las CCM con los fármacos por Espectroscopía de impedancia Electroquímica	101
7.6.3.4 Estabilidad de las celdas	103
7.6.3.5 Remoción de Ibuprofeno,	104
7.6.4 Remoción de DQO y Eficiencia Coulombimetrica (EC)	105
CONCLUSIONES	109
PERSPECTIVAS	112
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
ANEXOS	123
ANEXO I	123
ANEXO II	127
ANEXO III	128
ANEXO IV	129

ANEXO V.....	133
ANEXO VI.....	134
ANEXO VII.....	135
ANEXO VIII.....	136
ANEXO IX.....	138
ANEXO X.....	139
ANEXO XI.....	140

## LISTA DE TABLAS

No	Tabla	Pagina
1	Principales causas de muerte en México	3
2	Principales enfermedades en México	4
3	Medicamentos recetados para las 5 afecciones más comunes en México	5
4	Ejemplos de excipientes multifuncionales que se encuentran en el mercado	7
5	Tratamiento recomendado para las diferentes categorías de medicamentos	12
6	Cultivos, sustratos y tipos de celdas usados en CCM.	21
7	CCM para el tratamiento de residuos.	22
8	Clasificación de los métodos de HPLC	32
9	Condiciones experimentales empleadas en las CCM.	48
10	Peso y proporción de excipientes en los medicamentos a evaluar	53
11	Incremento porcentual de corriente por electrodo	57
12	Simulación de espectros para los soportes	79
13	Simulación de espectros a 25°C y 32°C	91
14	Simulación de espectros a 1gL <sup>-1</sup> y 0.5gL <sup>-1</sup>	97
15	Simulación de espectros con fármacos en estado puro	103
16	Porcentaje de remoción de DQO y EC de las celdas evaluadas	107
17	Diferentes tipos de CCM, y sus porcentajes de remoción de DAO y EC	109



## LISTA DE FIGURAS

No	Figura	Pagina
1	Estructura de algunos de los de los excipientes multifuncionales en el mercado	8
2	Principio de operación de una CC basada en el intercambio de protones	15
3	Esquema general de una celda de combustible microbiana.	20
4	Clasificación de las técnicas electroquímicas	23
5	Voltamperometria cíclica,	25
6	Similitud de la interfase electrificada con un circuito eléctrico equivalente	27
7	Circuito de Randles	28
8	Diagrama de Nyquist de un sistema controlado por activación	28
9	Sistema controlado por difusión	29
10	Técnica de cronoamperometría	31
11	Conexiones en la celda para la realización de las VC	38
12	Inóculos de Suelo Acondicionados	39
13	Prototipo 1, celda usada en pruebas preliminares	40
14	Ensamble de prototipo 2	41
15	Modelo 2D para la simulación de transferencia de calor	43
16	Buffer seguidor de voltaje.	45
17	Fragmento de código para el almacenamiento de datos	45
18	Soportes para el prototipo 1	46
19	Conexiones en la celda para la realización de las VBL y EIE	49
20	Conexiones en la celda para la realización de cronoamperometrias en celda completa	50
21	Voltamperometrías cíclicas de los bioelectrodos comparados con papel toray.	54
22	Comparación de las VC realizadas a los bioelectrodos en la evaluación de los medicamentos	56
23	Representación gráfica del incremento porcentual de corriente en Bio S	58
24	Voltamperograma cíclico de Bio S en presencia de Benzonatato	59
25	Picos de reducción de celicoxib	60
26	Picos de oxidación de la Hidroclorantiazida y metroprolol	61
27	Picos de oxidación de metroprolol	62
28	Voltamperograma cíclico de Bio S en presencia de Loratadina	63
29	Voltamperometria cíclica en presencia de Naproxeno	64
30	Voltamperometria cíclica en presencia de Paracetamol	64
31	Voltamperometria cíclica donde se muestran los picos de oxidación y reducción del Pantoprazol	65
32	Relación corriente concentración de Pantoprazol	66
33	Micrografías del electrodo de papel Toray 20X.	68

34	Micrografías al bioelectrodo Bio D	69
35	Micrografías del bioelectrodo Bio I	70
36	Micrografías de Bio S	71
37	Prototipo 2	72
38	Modificación del prototipo de celda agregando una chaqueta de calentamiento.	73
39	Prototipo final de la CCM	73
40	Calefacción en flujo paralelo	75
41	Calefacción en flujo cruzado	75
42	Perfiles de temperatura a contraflujo a diferentes tiempos y temperatura	76
43	Diagramas de Nyquist de los diferentes soportes del CMA	78
44	Diagramas de Bode de los diferentes soportes del MEA	79
45	Impedancia de soporte en barras a diferentes potenciales	80
46	Registro de VCA de la primer prueba de degradación	82
47	Registro de VCA del efecto de la posición del ánodo en la CCM.	83
48	Curva de polarización segunda prueba	84
49	Diagramas de Nyquist del efecto asociados a la posición del ánodo	84
50	Diseño final del prototipo No 2.	85
51	Registro de VCA a diferentes temperaturas	86
52	. Curva de polarización de las celdas evaluadas a diferentes temperaturas Circuito equivalente propuesto	88
53	Circuito equivalente propuesto	89
54	Diagramas de Nyquist a diferentes temperaturas	91
55	Diagramas de Bode a diferentes temperaturas	92
56	Cronoamperometrias de las CCM	93
57	Registro de voltajes a diferentes concentraciones	94
58	Curva de polarización de las celdas evaluadas a diferentes concentraciones	96
59	Diagrama de Nyquist a diferentes concentraciones	97
60	Estabilidad de las celdas a diferentes concentraciones.	99
61	Registro de voltajes, celdas con la sustancia activa de fármacos	100
62	Curva de polarización de las celdas evaluadas con fármacos puros	102
63	Diagramas de Nyquist con fármacos puros	103
64	Estructura química de la carbamazepina.	103
65	Curva de estabilidad de los fármacos evaluados	104
66	Cromatogramas para la cuantificación de Ibuprofeno	105

## ABREVIATURAS

AFE	Aceptor Final de Electrones
ARB	Aguas residuales de Biodiesel
ARD	Aguas Residuales Domesticas
ATP	Adenosin trifosfato
Bio D	Bioelectrodo de aguas residuales domesticas
Bio I	Bioelectrodo de aguas residuales Industriales
Bio S	Bioelectrodo de suelo
CA	Cronoamperometría
CCB	Celda de combustible Biológica
CC	Celdas de combustible
CCE	Celda de combustible Enzimática
CE	Cuerpo embrionario
CCM	Celca de Combustible microbiana
DQO	Demanda Química de Oxigeno (g/L-1)
EC	Eficiencia Coulombimetrica (%)
EIS	Espectroscopia de Impedancia electroquímica
ERA	Evaluación de Riesgo Ambiental
EUA	Estados Unidos de América
GEI	Gases de Efecto Invernadero
GPC	Guías de Practicas Medicas
IPCC	Panel intergubernamental para el Cambio Climático
ISAL	Inoculo de suelo acondicionado de Loratadina
ISAN	Inoculo de suelo acondicionado de Naproxeno
ISAP	Inoculo de suelo acondicionado de Pantoprazol
MOs	Microrganismos
ND	No disponible
RSU	Residuos Sólidos Urbanos
SINGREM	Sistema Nacional de Gestión de Residuos de Envases y Medicamentos
VBL	Voltamperometria de Barrido Lineal
VC	Voltamperometria cíclica
A	Amper
$\Delta_i$	Incremento de corriente
$\Delta DQO$	es la remoción de DQO en el tiempo t
Bes	Número de electrones intercambiados por mol de oxígeno, 4 e <sup>-</sup>
b	número de electrones que reaccionan por cada mol de oxígeno (4)
$C_i$	concentración inicial

$C_f$	Concentración final.
cm	Centímetro
$C_p$	Capacidad calorífica $\text{JKg}^{-1}\text{m}^{-3}$ ,
$C_{dl}$	Capacitancia de la interfase ( $\mu\text{F}$ )
$C_b$	Concentración de masa en la solución
D	Coefficiente de difusión
$e^-$	Electrón
$E_0$	Potencial estándar (V)
$E_{\text{max}}$	Potencial máximo
E	potencial (V)
$EC_{50}$	Dosis media de inhibición
F	Constante de Faraday $96845.33 \text{ Cmol}^{-1}$
$i$	Corriente Faradaica
h	Horas
$\text{H}^+$	Protón
I	Corriente (A)
$i$	densidad de corriente ( $\text{A/m}^2$ )
in	Pulgadas
k	constante de intercambio de calor $\text{Wm}^{-1}\text{k}^{-1}$
KHz	Kilohertz
$\text{M}32 \text{ g mol}^{-1}$	Peso molecular del oxígeno molecular
$\mu\text{g}$	Microgramo
$\mu\text{F}$	Microfaradios
$\mu\text{L}$	Microlitros
$\mu\text{m}$	Micrometro
mg	Miligramo
mM	Milimol
mL	Mililitro
$\text{mVs}^{-1}$	Velocidad de barrido
$\text{MO}_2$	Peso molecular del oxígeno molecular, $32 \text{ g mol}^{-1}$
nA	nano Amperes
$n$	Numero de electrones
®	Marca registrada
™	Marca comercial
$\Omega$	Ohm
$\rho$	densidad $\text{Kgm}^{-3}$
pH	Potencial de hidrogeno
$\pi$	Pi
$P_{\text{max}}$	Potencia maxima

ppm	partes por millón
$p$	Densidad de potencia (mW/m <sup>2</sup> )
%R	Porcentaje de remoción
$R_{ohm}$	Resistencia Óhmica ( $\Omega$ )
$R_{ct}$	Resistencia de la interfase ( $\Omega$ )
$R_{int}$	Resistencia interna ( $\Omega$ )
s	segundos
T	Temperatura °C
t	tiempo
V	Volt
$V_{an}$	es el volumen del líquido en la cámara anódica
W	Watts
W	Warburg ( $\Omega$ )

## RESUMEN

En la presente tesis se presenta el diseño, construcción y caracterización de una celda de combustible enfocada a la oxidación de excipientes de medicamentos, esto mediante una serie de análisis electroquímicos y fisicoquímicos, evaluando así el rendimiento y estabilidad de la celda en la obtención de energía.

El principal objetivo de la tesis fue el aprovechar los azúcares complejos y biopolímeros presentes en los excipientes de medicamentos como combustible y única fuente de carbón de las celdas de combustible microbianas, para la generación energía eléctrica como resultado del proceso de oxidación de los sustratos.

Mediante el uso de simulación en COMSOL se optimizaron las condiciones de operación de las celdas para proponer el prototipo más óptimo a implementar. El sistema propuesto consistió en celdas de combustible microbianas con un volumen de 200 mL, usando platino como cátodo y fieltro de carbón como ánodo, el sistema fue monitoreado de forma constante respecto a su temperatura y voltaje mediante un sistema de control y adquisición de datos, basado en la tarjeta programable Arduino.

Los resultados indican que las celdas son poco estables a lo largo del tiempo, sin embargo las potencias obtenidas y los porcentajes de remoción de contaminantes obtenidos a 22°C, son comparables a los resultados obtenidos en investigaciones similares, con parámetros por optimizar se espera mejorar el desempeño de las celdas en futuras investigaciones.

### **Palabras clave:**

Celdas microbianas de combustible, energías renovables, degradación de residuos.

## ABSTRACT

The present thesis shows the design, construction and characterization of a microbial fuel cell focused on the oxidation of drug excipients. Through a series of electrochemical and physicochemical analyzes, the performance and stability of the cell to obtain energy were evaluated

The main objective of this work was the using of complex sugars and biopolymers present in drug excipients as fuel and only carbon source in microbial fuel cells, in order to generate electrical energy as a result of the oxidation process of the substrates.

Through the use of simulation in COMSOL, the operating conditions of the cells were optimized to propose an optimal biocell prototype. The proposed system consisted of an arrange of microbial fuel cells with a volume of 200 mL, using platinum as the cathode and carbon felt as the anod. The system was continuously monitored with respect to its temperature and voltage through an Arduino based control and data acquisition system.

The results obtained indicate that the cells are not very stable over time, however the power and percentages of removal of pollutants obtained at 22 °C were comparable to those results obtained in other reported works. In future researches, the improving and optimization of parameters is required in order to increase the performance of biocells.

Keywords:

Microbial fuel cells, renewable energy, waste degradation.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha surgido un especial interés por encontrar fuentes alternativas de energía, las cuales presenten menores o nulas emisiones de Gases de Efecto Invernadero en comparación con a las fuentes convencionales, esto ha permitido que se empiece a presentar atención a fuentes de energía basadas en métodos electroquímicos y biomasa, como lo son las celdas de combustible biológicas, y en este caso en particular celdas microbianas de combustible.

Como una tecnología emergente y con gran potencial en el área del tratamiento de residuos y la producción de energía, las celdas de combustible microbianas (CCM) son dispositivos bioelectroquímicos que permiten convertir la energía química de los sustratos en energía eléctrica, contando una gran gama de compuestos que se pueden utilizar como sustratos las CCM son una opción que permitirían degradar los excipientes e implementarlos como únicas fuentes de carbón, obteniendo al mismo tiempo una ganancia energética en forma de electricidad y, adicionalmente degradando los compuestos activos de los fármacos.

La amplia variedad de sustratos que pueden ser tratados en las CCM presentan una interesante ventana de oportunidad de aprovechamiento en el tratamiento de residuos de la industria farmacéutica, ya que ésta utiliza cerca de 4 000 ingredientes activos y más de 2000 tipos de excipientes a través de medicamentos con prescripción, medicamentos sin prescripción y medicamentos veterinarios <sup>1,2</sup>

Los ingredientes activos así como los excipientes usados en estos abarcan una amplia variedad de productos químicos sintéticos fabricados por empresas farmacéuticas a un ritmo de más de 100 000 toneladas anuales, siendo los excipientes el componente que representa la mayor parte del volumen de los medicamentos comercializados mundialmente, estos generalmente son, polímeros y azúcares de cadena larga<sup>3</sup>, los cuales pueden ser utilizados por los microorganismos presentes en las CCM como fuente de carbón durante el proceso de tratamiento de residuos y generación de energía.



## **ANTECEDENTES**

### **2.1 La salud en México.**

A medida que el tiempo avanza las condiciones sociales, económicas y de salud cambian en una población, teniendo un efecto directo en la esperanza de vida y las enfermedades que aqueja a una población en específico. En México estos cambios han sido beneficiosos para la sociedad y a partir de la creación programas de salud pública y la generación de nuevos medicamentos se ha logrado un incremento en las condiciones, calidad y esperanza de vida del mexicano. Simultáneamente, se ha visto un cambio paulatino en las enfermedades y padecimientos más comunes que aquejan a la sociedad mexicana, lo que ha significado un cambio en los medicamentos para atender a las necesidades médicas de la sociedad.

#### **2.1.1 Principales enfermedades y padecimientos en México**

Desde principios del siglo XX, en México se han manifestado cambios trascendentes en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades, esto aunado a los cambios ambientales, demográficos, económicos, sociales, culturales y los avances en el campo de la atención a la salud que han ido transformando las características del país y han influenciado el perfil epidemiológico, así como las características relacionadas con la presencia de enfermedad o muerte en la población mexicana<sup>4</sup>.

Como se puede observar en el Tabla 1, en 1922 las primeras causas de mortalidad correspondían a enfermedades infecciosas o transmisibles y este patrón se conservó hasta los años cincuenta, es a partir de esta fecha que se comenzó a observar una transición en las causas de muerte, ya que las enfermedades crónicas o no transmisibles comenzaron a posicionarse en los primeros lugares, situación que ocurre hasta la fecha <sup>5,6</sup>.

**Tabla 1. Principales causas de muerte en México** <sup>5-9</sup>

	<b>1922</b>	<b>1950</b>	<b>1970</b>	<b>1990</b>	<b>2000</b>	<b>2013</b>
1	Neumonía, influenza	Gastroenteritis, colitis	Neumonía, influenza	Enfermedades del corazón	Diabetes mellitus	Diabetes mellitus
2	Diarreas, enteritis	Gripe y neumonía	Enteritis y otras enfermedades	Tumores malignos	Enfermedades del corazón	Enfermedades isquémicas del corazón
3	Fiebre y caquexia palúdica	Enfermedades perinatales	Enfermedades del corazón	Accidentes	Cirrosis y otras enfermedades del hígado	Tumores malignos
4	Tos ferina	Accidentes, envenenamientos y violencia	Enfermedades perinatales	Diabetes mellitus	Enfermedades cerebrovasculares	Accidentes
5	Viruela	Paludismo	Tumores malignos	Enfermedades perinatales	Enfermedades perinatales	Enfermedades del hígado

En la Tabla 2 se observa que los primeros puestos los poseen afecciones consideradas como comunes, como las infecciones de intestino, vías respiratorias y urinarias, así como úlceras y gastritis, padecimientos para los cuales cada vez más personas recurren a la automedicación, en parte alentada por gobiernos y aseguradoras en salud como una forma de limitar las tasas de crecimiento del aporte financiero federal y de terceras partes en el cuidado de la salud <sup>10</sup>. De acuerdo a algunos estudios epidemiológicos realizados en México, la autoatención a la salud se manifiesta a través de la autoprescripción y la automedicación, principalmente <sup>11</sup>

**Tabla 2. Principales enfermedades en México <sup>9</sup>**

<b>Orden de importancia</b>	<b>Causas</b>	<b>Casos</b>	<b>Tasa por 1000 habitantes</b>
1	Infecciones respiratorias	27493239	228.7
2	Infecciones intestinales por otros organismos	4941427	41.3
3	Infección de vías urinarias	4244053	35.5
4	Úlceras, gastritis y duodenitis	1497802	12.5
5	Gingivitis y enfermedades periodontales	1119159	9.3
6	Otitis media aguda	639625	5.3
7	HAS	480332	4.0
8	Conjuntivitis	456283	3.8
9	Diabetes mellitus tipo 2	381099	3.2
10	Obesidad	356712	3.0
11	Vulvovaginitis aguda	355600	3.0
12	Asma y estado asmático	304480	2.5
13	Intoxicación por picadura de alacrán	300515	2.5
14	Amibiasis intestinal	299242	2.5
15	Candidiasis intestinal	234969	2.0
16	Síndrome febril	239913	2.0
17	varicela	239535	2.0
18	Otras helmintiasis	230001	1.9
19	Neumonía y bronconeumonías	174748	1.5
20	Faringitis y amigdalitis estreptococia	160506	1.3
	Total de 20 principales causas	44158240	368.9
	Otras causas	2037413	17.0
	Total	46195653	385.9

En la Tabla 3 se muestran los medicamentos más recetados para las 5 afecciones más comunes en México, los cuales se calificaron como viables o inviables para los propósitos de la investigación, descartando aquellos que pudieran afectar el correcto desempeño de las celdas por sus características antibióticas, así como medicamentos de venta restringidos, siendo solo el Paracetamol, Naproxeno, Omeprazol, Pantoprazol y Sales de Bismuto, los cuales no son medicamentos controlados o antibióticos.

**Tabla 3. Medicamentos recetados para las 5 afecciones más comunes en México.**

Orden	Causas	Tasa por 1000 habitantes	Tratamiento	Viable	
				Si	No
1	Infecciones respiratorias	228.7	Paracetamol <sup>12</sup>	X	
			Naproxeno <sup>12</sup>	X	
			Amoxiciclina <sup>13</sup>		X
			Cefalosporina <sup>13</sup>		X
			Cindacimina <sup>13</sup>		X
			Penicilina G Benzatinica <sup>13</sup>		X
			Eritromicina <sup>13</sup>		X
2	Infecciones intestinales por otros organismos	41.3	Ciprofloxacino <sup>14</sup>		X
			Trimetropin <sup>14</sup>		X
			Sulfametoxazol <sup>14</sup>		X
			Doxiciclina <sup>14</sup>		X
			Metronidazol <sup>14</sup>		X
			Lodoquinol <sup>14</sup>		
3	Infección de vías urinarias	35.5	Nitrofurantoina <sup>15</sup>		X
			citrofloxacina, <sup>15</sup>		X
			sulfametoxazol, <sup>15</sup>		X
			amoxicilina <sup>15</sup>		X
4	Úlceras, gastritis y duodenitis	12.5	Omeprazol <sup>16</sup>	X	
			Pantoprazol <sup>16</sup>	X	
			amoxicilina, <sup>16</sup>		X
			claritromicina, <sup>16</sup>		X
			sales de bismuto <sup>16</sup>	X	
5	Gingivitis y enfermedades periodontales	9.3	Amoxicilina, <sup>17</sup>		X
			Trimetropin, <sup>17</sup>		X
			sulfametoxazol <sup>17</sup>		X

El no exigir o retener recetas, a excepción de sustancias psicotrópicas o estupefacientes, el bajo control en la distribución de los medicamentos, así como una pobre educación en salud, que no considera el riesgo que representa la utilización de los fármacos, los cuales son distribuidos sin ningún control<sup>10</sup>, y son eliminados de igual forma en basureros o en alcantarillas, provoca que un gran flujo de medicamentos, de los cuales se desconocen sus impactos, se integren a cuerpos de agua y medio ambiente.

### 2.1.2 Impacto ambiental de los excipientes.

Los excipientes tienen diferentes funciones en los medicamentos, desde agregar color y sabor hasta el liberar de forma controlada algún ingrediente activo, los cuales son generalmente inertes y rara vez tienen efectos secundarios en el humano, la Tabla 4 muestra algunos de los excipientes multifuncionales más comunes en la industria, donde se pueden observar azúcares complejos como el almidón y la celulosa, compuestos que por sí solos no representan un riesgo ambiental, aun así se han realizado múltiples evaluaciones de riesgo que buscan determinar si los excipientes tienen o no un impacto negativo en el ambiente.

En la Figura 1 se muestran las estructuras de algunos de los excipientes que se presentan en la Tabla 4, donde puede apreciarse que la glucosa es el monosacárido que compone tanto al almidón, lactosa y celulosa, polisacáridos que como muestra la Tabla 1, son ampliamente usados en la industria farmacéutica como excipientes multifuncionales en varias formulaciones, al ser la glucosa el monómero principal de estos polisacáridos, comparten grupos funcionales y enlaces como grupo hidroxilo y enlaces diéster en los diferentes carbonos del anillo.

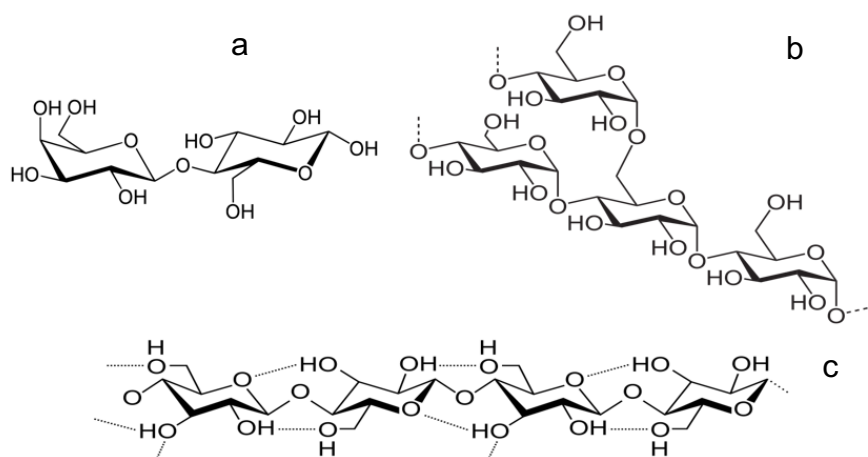


Figura 1. Estructura de algunos de los excipientes multifuncionales en el mercado a) Lactosa<sup>18</sup> b) Almidón<sup>19</sup> c) Celulosa microcristalina<sup>20</sup>.

**Tabla 4. Ejemplos de excipientes multifuncionales que se encuentran en el mercado<sup>21</sup>.**

Nombre comercial	Componentes	Beneficios
Ludipress®	Lactosa pvp	Baja higroscopicidad Buena capacidad de flujo, peso constante de la tableta, baja higroscopicidad, buena funcionalidad desintegrante.
F-MELT®	Sacáridos, agente desintegrante y excipientes inorgánicos.	sensación agradable en la boca, una ruta no complicada para desarrollar tabletas desintegrantes orales, buena propiedad de moldeo
Pharmatose® DCL40	β-lactosa Lactitol	Buena fluidez, alto potencial de dilución, baja absorción de agua a alta humedad, alta compresibilidad.
MCC SANAQ® Burst17	Celulosa microcristalina	Mayor compatibilidad, fluidez del polvo y desintegrabilidad.
FUJICALIN	fosfato de calcio dibásico anhidro	Excelentes propiedades de compresión, Facilita la mezcla / mejora la fluidez, Buenas propiedades de desintegración, Baja abrasión
StarAc	Almidón de maíz, goma de acacia,	Buena fluidez, utilizada en compresión directa de comprimidos.
MCC 102	Celulosa simple casle 1	Proporciona una alta resistencia de adhesión, se utiliza como relleno pero carece de multifuncionalidad.
UICEL XL	Clase 4 (modificación de celulosa reticulada)	Utilizado como relleno, ligante y buen carácter compatible.
Aerosil ®972	Silica coloidal hidrofóbica	Estabilizador para agua en emulsión de aceite, ajustador de viscosidad.
Syloid® FP	Geles de sílice amorfos sintéticos micronizados.	Agente humectante capilar para una mejor liberación y desintegración.
Polacrilin Potassium	Resina modificada	Gran capacidad de hinchamiento.
Orocell 200 & OroCell 400	Manitol modificada	Carpeta, relleno, portador en la formulación de ODT
TAP®	Pelets de ácido tartárico	Utilizado para formulaciones de pellets de liberación prolongada.

En 2006 Carina Carlson<sup>22</sup> y colaboradores realizaron una Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA) en 5 excipientes usados en la industria farmacéutica de Suecia, mostrando que no se presentan riesgos significativos por parte de estos excipientes, sin embargo, es señalado que el docusato de sodio presenta un posible riesgo para

los organismos presentes en los lechos y sedimentos de ríos y lago a los cuales estas sustancias puedan llegar. Demostrando que si bien es bajo el riesgo por la presencia de excipientes en ríos y lagos, el riesgo existe y debería de tomarse en cuenta.

En 2015 Catharina Wirz Kim y colaboradores<sup>23</sup> realizaron una ERA para 35 excipientes usados en las farmacéuticas Roche Basle y Roche Kaiseraugst, ambas en Suiza, concluyendo que ninguno de estos excipiente representaban un riesgo significativo para el ambiente puesto que casi la totalidad de estos productos eran eliminados por las Plantas Tratadoras de Aguas Residuales (PTARs).

Aurora Silva<sup>24</sup> realizó un estudio en donde comparó el efecto toxicológico de la Fluoroxitina en algas (*Chlorella vulgaris*), medicamento enfocado al tratamiento de la depresión principalmente, esto mediante 5 diferentes formulaciones, dos de patente y tres genéricas, encontrando que la concentración efectiva de inhibición al 50% (EC<sub>50</sub>) fue 100 veces más baja a la reportada para la Fluoroxitina sola, bajando de 15mg L<sup>-1</sup> a 0.25mg L<sup>-1</sup>, por lo que este decremento en la EC<sub>50</sub> es atribuida a la presencia de los excipientes empleados.

Chloe J. Yuan y Yusuke Marikawa<sup>25</sup> evaluaron los efectos toxicológicos en el desarrollo cuerpos embroides (CE) tras la exposición a 6 diferentes excipientes usados en medicamentos comerciales, tres agentes colorantes (rojo de alura, azul brillante y tartrazina) y tres conservantes (hidroxianisol butilado, metabisulfito y metilparabeno), realizando un análisis del nivel más bajo de efecto adverso observado (LOAEL). El análisis de exposición se determinó utilizando el modelo de morfogénesis in vitro basado en células madre (cuerpos embroides (CE)), finalmente el análisis LOAEL determinó las concentraciones en las cuales se da una alteración en la morfogénesis de los CE fue de 200 mM para metilparabeno, 400 mM para hidroxianisol butilado, 600 mM para rojo de alura y azul brillante, y 1000 mM para metabisulfito. Un análisis de la expresión génica de los CE tratados reveló que el hidroxianisol butilado y el metilparabeno alteraron significativamente los

perfiles de los reguladores del desarrollo involucrados en la elongación axial y el diseño del cuerpo.

### **2.1.3 Impacto ambiental de los fármacos**

Los fármacos son sustancias biológicamente activas que afectan a los mecanismos de control de organismos vivos de forma específica en busca de un efecto terapéutico, por ejemplo, regulando el metabolismo, influenciando el equilibrio hormonal o mitigando la transmisión intercelular de señales<sup>1</sup>. Cuando los fármacos se liberan en el medio ambiente, esta actividad biológica puede tener consecuencias negativas para la flora y la fauna, estos efectos son variados y pueden tener un gran impacto en la salud del ecosistema, mermando la población de alguna especie e incluso la tasa de natalidad de alguno de los sexos de las poblaciones<sup>1</sup>.

A finales de los años 90 y principios de los 2000 se reportó una disminución en la población de buitres de espalda blanca oriental (OWBV; *Gyps bengalensis*) en la India, entre 2000 y 2003, la alta mortalidad en adultos y subadultos fue de entre 5-86% y la disminución de la población resultante fue de entre un 34-95%, mermando su población y llevándolos al borde de la extinción, esto se debió a que los buitres se alimentaban de cadáveres de ganado tratado con diclofenaco, lo que provocó una insuficiencia renal y gota visceral, este efecto se replicó en buitres al exponerlos directamente con el antiinflamatorio diclofenaco <sup>26</sup>.

En 2006 R. Tribskorn y colaboradores<sup>27</sup> realizaron un estudio sobre el efecto del Diclofenaco, Carbamazepina, Ácido Clofíbrico, Metroprolol, en truchas arcoíris, donde se determinó que la exposición a estos medicamentos, en especial al diclofenaco provocaba una grave glomerulonefritis, el efecto citotóxico se llegó a presentar incluso con concentraciones de 1 µgL<sup>-1</sup>, la cual se considera como una concentración ambientalmente relevante<sup>27</sup>.

Como parte de los esfuerzos para colocar al diclofenaco como sustancia prioritaria en la Directiva marco del agua de EUA, Schwarz y colaboradores<sup>28</sup> evaluaron el efecto del diclofenaco en truchas marrones (*Salmo trutta f. fario*), exponiendo sus



embriones a 0.1, 0.5, 1, 10, 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de diclofenaco, a especímenes juvenes (6 meses de edad) a 0.1, 1, 10, 100, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de diclofenaco revelando daño en órganos como branquias hígado y riñón, así como un aumento en la mortalidad de especímenes mayores en concentraciones superiores a los 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , clasificando al diclofenaco como un microcontaminante que requiere atención especial.

Schmitz y colaboradores<sup>29</sup> realizaron un experimento donde expusieron a truchas arcoíris a una mezcla de fármacos (Paracetamol, Carbamazepina, Diclofenaco, lbersartan y Naproxeno) en concentraciones reales detectadas en aguas superficiales del río Meseu en Bélgica, así como a concentraciones 10 y 100 veces más altas de las reales, como resultado los niveles plasmáticos de hormonas sexuales, específicamente la 11-ketotestosterona, se vieron alterados incrementando su concentración, así como la sobre expresión de genes en ovarios a los 7 días de exposición, concluyendo que las concentraciones de estos medicamentos tienen un efecto disruptor en el sistema endocrino de las truchas.

#### **2.1.4 Tratamiento y disposición de los residuos de medicamentos en México.**

En México el organismo que se encarga de recolectar y disponer de los residuos de fármacos y fármacos caducos o dañados es el SINGREM (Sistema Nacional de Gestión de Residuos de Envases y Medicamentos), el cual mediante más de 4 600 contenedores especializados recolecta los medicamentos caducos y dañados de los hogares y farmacias mexicanas, estos medicamentos son trasladados a su sitio de disposición final, en donde junto con sus envases sometidos a procesos físicos de trituración y más tarde enviados a destino final por coprocesamiento en Hornos Cementeros. El concepto de coprocesamiento consiste en la destrucción térmica con ganancia de energía, esto es, que a la par que el material es destruido, la energía contenida en el mismo es aprovechada para otro fin<sup>30</sup>.

Sin embargo este organismo no trabaja con las farmacéuticas, por lo que dentro de estas los productos rechazados por control de calidad y los medicamentos caducos se manejan en forma diferente según las operaciones propias de cada industria. Los

productos rechazados por control de calidad que no pueden ser reciclados en el tren de producción normal, son triturados y moldeados en una especie de torta de filtración que se envía a relleno sanitario para su disposición final. También pueden ser incinerados *in situ*, molidos y disueltos en agua para ser tratados junto con las aguas residuales de la planta industrial a través de procesos biológicos.

Aunado a esto también existen otros métodos de tratamientos según el tipo de medicamentos que se quiera tratar, teniendo así 8 principales categorías de medicamentos (Vitamínicos, Biológicos, Analgésicos, Antibióticos, Amebicidas, Tranquilizantes, Ansiolíticos, Vaso dilatadores y Otros) los cuales pueden ser tratados mediante vías químicas, físicas, térmicas y biológicas. En la Tabla 5 se muestran los tratamientos sugeridos para los medicamentos de las diferentes categorías <sup>31</sup>.

**Tabla 5. Tratamiento recomendado para las diferentes categorías de medicamentos.**

Categoría	Tratamientos
Vitaminas	Biológico, lodos activados
Biológicos	Químicos, físicos y térmicos que aseguren la eliminación de los agentes biológicos
Analgésicos	Reacciones de N-dealquilación para analgésicos fuertes, como la morfina, y tratamientos biológicos para analgésicos débiles como el paracetamol aspirina.
Antibióticos	Térmicos e hidrólisis basadas en metales pesados, ácidos y bases
Amebicidas	Halogenación en medio ácido e hidrólisis acida o básica

Algo a resaltar sobre estos métodos de tratamiento es el que la mayoría de éstos son destructivos y carecen de alguna forma de aprovechamiento energético, por lo que en un mundo con una creciente demanda de energía es necesario el empezar a implementar métodos de tratamiento que tengan un potencial energético aunado. En este ámbito, las celdas de combustible microbianas representan una tecnología en desarrollo, las cuales potencialmente pueden emplear como combustible una

gran variedad de sustratos, mientras que se tiene una recuperación energética en forma de corriente eléctrica<sup>32</sup>.

## **2.2 Energías renovables**

La demanda de energía y de servicios, con miras al desarrollo social y económico y a la mejora del bienestar y la salud de las personas, va en aumento. Todas las sociedades necesitan de servicios energéticos para cubrir las necesidades humanas básicas (Alumbrado, cocina, ambientación, movilidad y comunicación), y para los procesos productivos <sup>33</sup>. Desde 1850, aproximadamente, la utilización de combustibles de origen fósil (carbón, petróleo y gas) en todo el mundo ha aumentado hasta convertirse en el suministro de energía predominante, situación que ha dado lugar a un rápido aumento de las emisiones del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

Las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) que genera la producción de energía, ha contribuido considerablemente al aumento de las concentraciones de los GEI en la atmósfera. En el Cuarto Informe de Evaluación (CIE) del Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC por sus siglas en inglés) se concluyó que, "la mayor parte del aumento observado en el promedio de las temperaturas desde mediados del siglo XX, se debe muy probablemente al incremento observado en las concentraciones de GEI antropogénicas" <sup>33</sup>.

Hay diversas opciones para disminuir las emisiones de GEI por parte del sector de producción de energía, sin dejar por ello de cubrir la demanda del recurso. Dentro de las alternativas se encuentran: el adoptar medidas de conservación y eficiencia energética, el reemplazo de combustibles de origen fósil, implementación más amplia de la energía nuclear, la captura y almacenamiento del CO<sub>2</sub> y las energías renovables <sup>33</sup>. Dentro de estas últimas se encuentran: la energía solar, eólica, hidráulica, undimotriz, mareomotriz, geotérmica y biomasa. Sin embargo, la mayoría de estas energías solo están disponibles en lugares específicos, como las costas, zonas geotérmicamente activas o cercanas a cuerpos de agua y son intermitentes.

Por otra parte, la biomasa es una fuente de energía a la que es más fácil acceder a ella dada su gran disponibilidad, ya que puede usarse casi cualquier material orgánico disponible, como madera, desechos agroindustriales, residuos urbanos de carácter orgánico, así como aguas residuales. En países desarrollados llega representar hasta un 35 % del suministro total de energía. La biomasa es una fuente de energía muy versátil, ya que es fácilmente almacenada y transformada en energía y calor, así como en biocombustibles o diversos productos químicos. Posee una capacidad de producción que va desde las escalas pequeñas hasta los Mega Watts <sup>34</sup>.

Dentro del aprovechamiento de la biomasa, la obtención de energía eléctrica representa una tecnología innovadora y atractiva, en la que la materia orgánica soluble genera una diferencia de potencial traduciéndose en una corriente eléctrica.

Las celdas de combustible microbianas (CCM) figuran como una tecnología emergente que posee un gran potencial para contribuir al desarrollo de la sociedad, principalmente por su capacidad de generar electricidad a partir de diversos sustratos orgánicos e inorgánicos, e incluso algunos compuestos recalcitrantes como celulosa y lignina, así como su capacidad de tratar residuos, ofreciendo al mismo tiempo beneficios energéticos y ambientales<sup>35</sup>.

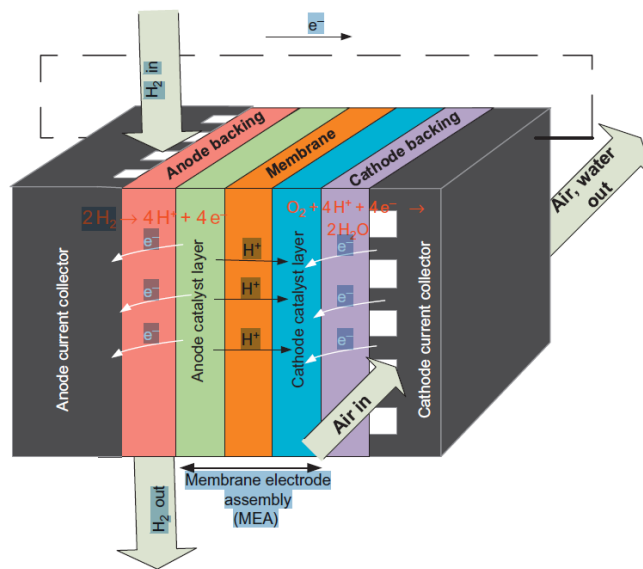
### **2.2.1 Celdas de combustible**

Las Celdas de combustible (CC) son dispositivos electroquímicos que convierten la energía química intrínseca de los combustibles directamente en energía eléctrica. Los pasos intermedios de producción de calor y trabajo mecánico de la mayoría de los métodos convencionales de generación de energía se evitan en las CC, por lo que estas no se ven afectadas por las limitaciones termodinámicas de los motores térmicos convencionales, definidos por la eficiencia de Carnot <sup>36</sup>.

Como tales, las CC prometen generar energía con una alta eficiencia y bajo impacto ambiental (es decir, contaminantes mínimos) ya que las CC pueden, en principio, procesar una amplia variedad de combustibles y oxidantes, aunque lo más

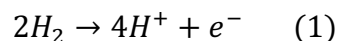
interesante en la actualidad son los combustibles comunes, como el gas natural (y derivados) o el hidrógeno, en los que se utiliza aire como oxidante <sup>37</sup>.

En una CC, el combustible se alimenta continuamente al ánodo (electrodo negativo) y un oxidante (a menudo oxígeno en el aire) se alimenta continuamente al cátodo (electrodo positivo). Las reacciones electroquímicas tienen lugar en los electrodos para producir una corriente eléctrica a través de un electrolito, mientras se conduce una corriente eléctrica complementaria que realiza el trabajo en la carga. En la Figura 2 se presenta una representación esquemática de un CC de hidrógeno y oxígeno (basado en un electrolito ácido) <sup>37</sup>.

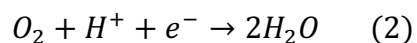


**Figura 2. Principio de operación de una CC basada en el intercambio de protones<sup>37</sup>.**

En el ánodo de la CC, el gas de hidrógeno se ioniza, liberando electrones que significan energía eléctrica y creando iones  $H^+$  (protones), como se ilustra en la ecuación 1.



En el cátodo, el oxígeno reacciona con protones y electrones tomados del ánodo para formar agua, como en la ecuación 2.

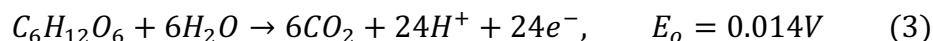


Los electrones (carga negativa) fluyen del ánodo al cátodo en el circuito externo y los iones  $H^+$  pasan a través del electrolito.

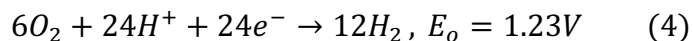
Es importante destacar que el electrolito solo permite la transferencia de protones (u otros iones en el caso de otros tipos de CC) y no la transferencia de electrones. De lo contrario, los electrones no pasarían por el circuito externo y, por lo tanto, “cortocircuitarían” a la celda y la función del CC se perdería. En teoría, cualquier sustancia capaz de oxidarse químicamente (el reductor) se puede suministrar de forma continua y puede usarse "galvánicamente" como combustible en el ánodo de una CC. De manera similar, el oxidante puede ser cualquier fluido que pueda reducirse a una velocidad suficiente. Por razones prácticas, el oxidante más común es el oxígeno gaseoso, que está fácilmente disponible en el aire. Además, debido a las limitaciones cinéticas en los catalizadores para la oxidación del combustible, los combustibles utilizados típicamente son los que tienen moléculas simples como el hidrógeno, el metano y el metanol. Es la limitación cinética en las químicas de las CC lo que ha ayudado a estimular un mayor interés en los CC biológicas para utilizar una gama más amplia de combustibles <sup>37</sup>.

### 2.2.2 Celdas de combustible biológicas

Las celdas de combustible biológicas (CCB) funcionan de manera similar a las CC alimentadas con hidrógeno con un suministro de combustible en el ánodo y un suministro de oxidante en el cátodo. Las CCB convierten la energía química de carbohidratos, lípidos y otros compuestos usados como combustibles. En el ánodo, un combustible (por ejemplo, glucosa) se oxida (asumiendo un electrolito ácido) de acuerdo con la reacción ilustrada en el ecuación 3 <sup>37</sup>.



En el cátodo, el oxidante se reduce sobre un catalizador (o enzima) específica para el oxidante (por ejemplo, oxígeno) ver 4:



La reacción electroquímica resultante crea una corriente a medida que los electrones y los protones se producen a partir de la oxidación del combustible. Los potenciales teóricos para tales reacciones son similares a los de las CC convencionales. La característica distintiva, fundamental para una CCB, es el uso de un organismo vivo. En general, una CCB funciona usando como biocatalizadores, enzimas o células enteras <sup>37</sup>.

1. El biocatalizador genera como resultado de su metabolismo un compuesto que sirve como combustible para la celda electroquímica. Así el biocatalizador no participa directamente en la transferencia de electrones.
2. El biocatalizador participa directamente en el proceso de generación de electrones catalizando la oxidación del sustrato y transfiriéndolos al ánodo.

En general, los microorganismos dentro de las celdas se pueden usar de cuatro diferentes maneras para producir energía eléctrica:

1. Producir sustancias electroquímicamente activas mediante fermentación o metabolismo. Los combustibles se producen en reactores separados y se bombean al ánodo de una CC convencional, para generar energía eléctrica. En esta configuración, el biorreactor microbiano se mantiene separado de la CC; El sistema no es completamente una CCB si no una celda CC asistida por microorganismos.
2. El proceso de fermentación microbiológica se realiza directamente en el compartimento anódico de la CCB.
3. Ya sea por mediadores añadidos, o los sintetizados por el mismo microorganismo, los mediadores aceptan electrones de la cadena de transporte de electrones de los microorganismos y los suministran al ánodo de la CCB.

4. Bacterias reductoras de metales, con citocromos en la membrana externa pueden comunicarse directamente con la superficie del electrodo en una CCB sin mediadores.

El interés en las CCB se debe a su capacidad para operar en condiciones de reacción moderadas (es decir, temperatura y presión ambientales) y, por lo general, emplean electrolitos neutros y catalizadores de bajo costo (por ejemplo, microorganismos). Hay dos tipos básicos de CCB; Las celdas de combustible enzimáticas (CCE) y las celdas de combustible microbianas (CCM) <sup>37</sup>.

### **2.2.3 Celdas de combustible microbianas**

Las celdas de combustible microbianas (CCM) son un nuevo enfoque en las tecnologías para la generación de electricidad por medio de bacterias <sup>38</sup>. Las CCM son dispositivos bioelectroquímicos que permiten convertir la energía química almacenada en compuestos orgánicos e inorgánicos en energía eléctrica a través de reacciones catalizadas por microorganismos bajo condiciones anóxicas <sup>39</sup>. Las CCM destacan por su flexibilidad al momento de usar sustratos, ya que estas pueden usar como sustrato desde compuestos puros, mezclas y residuos recalcitrantes, por lo que se ha empezado a investigar su aplicación en el área del tratamiento de aguas residuales y otros residuos, puesto que su implementación no solo permitiría el tratar un residuo si no también el obtener una ganancia energética, convirtiéndola en una tecnología con un gran potencial.

Una de las principales limitaciones electroquímicas en el desempeño de las CCM es su resistencia interna ( $R_{int}$ ), la cual es el resultado de las limitaciones óhmicas (resistencia de los electrolitos), cinéticas (resistencia a la transferencia de carga), y de transporte (difusión). Debido a que existe una correlación entre la producción de electricidad y la  $R_{int}$ , por ende se busca reducir la  $R_{int}$  mediante la optimización en la configuración del reactor. La  $R_{int}$  es una de las características esenciales de una CCM <sup>40</sup>.



En una CCM los microorganismos degradan (oxidan) la materia orgánica (Figura 3), durante este proceso hay una generación de electrones que se transportan a través de una serie de enzimas respiratorias para que la célula genere su propia energía en forma de adenosin trifosfato (ATP). Los electrones son llevados hasta un Aceptor Final de Electrones (AFE) el cual se reduce al aceptar los electrones. Por ejemplo, el oxígeno puede ser reducido para producir agua mediante la reacción catalizada de los electrones y protones resultantes de la oxidación de la materia orgánica dentro de la celda. Existen múltiples AFEs como el oxígeno, nitratos, sulfatos, entre otros; los cuales deben difundirse dentro de la célula para poder aceptar los electrones formando productos que después deben de ser expulsados de las mismas. Se sabe que existen bacterias que pueden transferir los electrones fuera de la célula a un AFE, estas bacterias se denominan exoelectrogénicas y son las bacterias que pueden ser utilizadas para producir energía en las CCM <sup>41,38</sup>.

El oxígeno dentro de la cámara anódica puede inhibir la generación de electricidad, por lo que el sistema se debe aislar del oxígeno, esto se logra al colocar una membrana entre la cámara anódica y la catódica. La cámara anódica es donde las bacterias crecen y la catódica donde los electrones reaccionan con un AFE mediante un catalizador que se soporta sobre el cátodo. El AFE puede llegar al cátodo de dos formas: de forma activa, mediante bombas y dispersores de burbujas; o de forma pasiva, por difusión natural <sup>38</sup>.

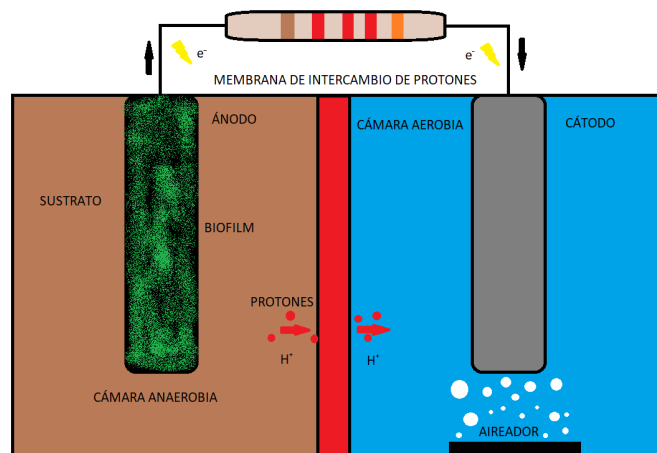


Figura 3. Esquema general de una celda de combustible microbiana.

### 2.2.3.1 Microorganismos utilizados en las CCM

La composición de las comunidades que pueden estar presentes en una CCM es variada, ya que existe un gran número de bacterias que pueden ser electroactivas, ya sea por ellas mismas formando relaciones simbióticas con otras bacterias. Es sabido dentro de la comunidad dedicada al estudio de las CCM y sus aplicaciones que *Geobacter*<sup>42</sup> y *Shewanella*<sup>38</sup> son dos de las especies que predominan en las comunidades dentro de las CCM. Sin embargo, como menciona Jung Kim<sup>43</sup> al realizar un análisis de las comunidades de microorganismos en la biopelícula formada, en el ánodo, no se han encontrado resultados que indique la presencia de una sola bacteria, sino consorcios, lo que sugiere que existen diversas bacterias las que llevan el proceso de oxidación de la materia degradable. En la Tabla 6 se presenta una recopilación de los diferentes cultivos, sustratos y tipos de celdas usados en CCM.

Tabla 6. Cultivos, sustratos y tipos de celdas usados en CCM.

Sustrato	Inóculo	Tipo de CCM	Especie dominante
<b>Acetato</b>	Aguas residuales domésticas	Una Cámara	<i>No determinada</i> <sup>44</sup>
<b>Etanol</b>	Lodos de digestor anaerobio	Dos cámaras	<i>Proteobacterium Core-1 (33 %)</i> <sup>43</sup>
<b>Glicerina</b>	Suelo	Una cámara	<i>Bacillus subtilis</i> <sup>45</sup>
<b>Fenol</b>	Lodos de digestor anaerobio	Una cámara	<i>No determinada</i> <sup>46</sup>
<b>Mezcla de solventes</b>	Sulfato reductor	Paralelepípeda	<i>Clostridia (42 %) o Proteobacteria (16 %)</i> <sup>47</sup>
<b>Mezcla de solventes</b>	Enriquecido	Paralelepípeda	<i>Deferribacteres</i> <sup>47</sup>

### 2.2.3.2 CCM en el tratamiento de residuos

Como se mencionó, una gran parte de las investigaciones en el campo de las CCM se están enfocando en el tratamiento de diferentes residuos y aguas residuales, mediante diferentes arquitecturas, inóculos y condiciones de operación para las CCM, reportando diversos parámetros como la eficiencia coulombimétrica (EC), tasa de eliminación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y los efectos de la concentración de sustrato sobre la salida de voltaje máximo y la densidad de potencia ( $p$ )<sup>48</sup>. A continuación se presenta un resumen de algunas de las investigaciones referentes al tratamiento de residuos mediante CCM. En la Tabla 7 se muestran diferentes residuos tratados en CCM, así como su tasa de remoción de DQO, cátodo, tipo de celda, inóculo y potencia máxima obtenida.

Muthukumar<sup>49</sup> evaluó la eficiencia de una CCM de doble cámara con puente salino, en el tratamiento de aguas residuales del procesamiento de alimentos, obteniendo una  $p_{Max}$  de  $123.8 \text{ mW m}^{-2}$ , una densidad de corriente de  $54.3 \text{ mA m}^{-2}$  con una eliminación del 98.9 % de la DQO.

Se evaluó el tratamiento del suero de queso, mediante una CCM con ánodos preincubados en suero de un mes de edad, se logró remover 88.3 % de DQO, obteniendo potencias máximas de  $29.1 \text{ mW m}^{-2}$ , mientras que con un ánodo preincubado en suero de tres meses de edad, se logró remover un 92.8 % de DQO y potencias de  $1800 \text{ mW m}^{-2}$ <sup>50</sup>.

Alrededor del 27 % de los residuos sólidos Urbanos municipales totales (RSU) se compone de residuos de alimentos. La viabilidad de los residuos vegetales fue evaluada en una CCM de cámara simple y cátodo aireado por Venkata y colaboradores. La CCM obtuvo una potencia máxima de  $57.38 \text{ mWm}^{-2}$  con una reducción del 62.86 % de DQO<sup>51</sup>.

Para determinar la eficiencia de una celda, tanto fisicoquímica como electroquímicamente es necesario caracterizar la celda mediante diferentes técnicas, las cuales permitan visualizar el comportamiento de la celda en diferentes

ámbitos, como lo son el porcentaje de degradación de los contaminantes, la potencia máxima obtenible de la celda; así como otros parámetros importantes como su estabilidad a lo largo del tiempo o su eficiencia coulombimétrica.

**Tabla 7. CCM para el tratamiento de residuos.**

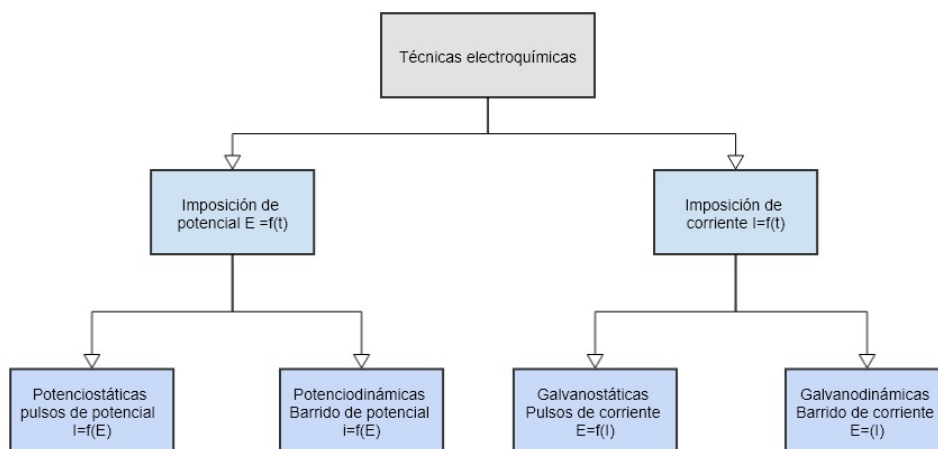
Residuo	Inóculo	Tipo de CCM	Ánodo	Cátodo	% R DQO	$p_{max}$ (mWm <sup>-2</sup> )
ARB	ARD	Una cámara	Cepillo de carbón	Cepillo de carbón	90	2110 <sup>52</sup>
Suero de queso	Lodos anaerobios	Dos cámaras	Papel carbón	Cepillo de carbón	94	46 <sup>53</sup>
Glicerina cruda	Lodos activados	Dos cámaras	Plato de grafito	Plato de grafito	90.46	621.1 <sup>54</sup>
Aguas residuales de la producción de Penicilina sintética	Bacterias de una CCM anterior	Una cámara	Filtro de carbón	Cepillo de carbón con 0.8 mgcm <sup>-2</sup> Pt	76.5	1012 <sup>55</sup>
Efluentes de la industria de los esteroides	Lodos anaeróbicos	Una cámara	Cepillo de carbón	Cepillo de carbón con 0.8 mgcm <sup>-2</sup> Pt	82	223 <sup>56</sup>
Pesticidas	Suelo y lodos activados	Una cámara	Carbón activado granular	Cepillo de carbón	71.15	77.5 <sup>57</sup>
Aguas residuales con fármacos	Cultivos enriquecidos anaerobios	Una cámara	Plato de grafito	Plato de grafito	75	205.6 <sup>58</sup>

ND, no disponible. % R DQO, porcentaje de remoción de DQO. ARB, Aguas residuales de biodiesel. ARD, Aguas residuales domésticas

### 2.3 Técnicas de caracterización electroquímicas

Las técnicas electroquímicas empleadas para la caracterización son flexibles varias pueden implementarse para evaluar diferentes aspectos de las celdas. Las técnicas electroquímicas pueden dividirse de acuerdo a la manera en que se realizan

mediciones, y la perturbación del sistema de acuerdo al diagrama mostrado en la Figura 4.



**Figura 4. Clasificación de las técnicas electroquímicas.**

### 2.3.1 Voltamperometría cíclica

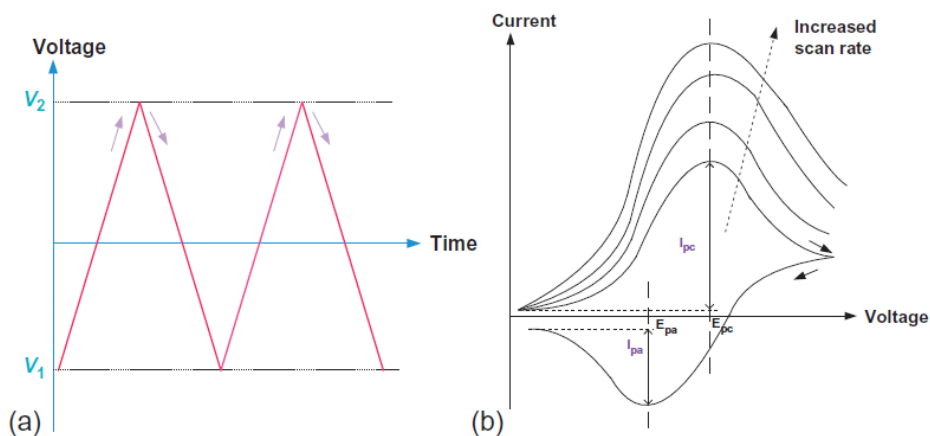
En una voltamperometría cíclica (VC) el potencial del electrodo de trabajo se incrementa linealmente en función del tiempo, entre dos potenciales seleccionados. Cuando la exploración alcanza un potencial establecido, el potencial de barrido del electrodo de trabajo se invierte; es decir, el potencial se incrementa en la dirección opuesta hasta que alcanza el potencial de inicio. Esta inversión se puede aplicar varias veces durante un solo experimento. La corriente en el electrodo de trabajo se representa en función del voltaje aplicado para obtener el voltamperograma cíclico.

El escaneo en un determinado sentido puede producir un pico de corriente para cualquier especie que pueda reducirse (u oxidarse, dependiendo de la dirección de escaneo inicial) a través del rango del potencial escaneado (Figura 5). La corriente aumentará a medida que el potencial alcance el potencial de óxido-reducción de la especie, pero luego disminuirá a medida que la concentración de la especie se agote cerca de la superficie del electrodo. Si el par redox es reversible, cuando se invierte el potencial aplicado, alcanzará el potencial que reoxidará el producto

formado en la primera reacción de reducción, y producirá una corriente de polaridad inversa desde la exploración hacia adelante. Este pico de oxidación generalmente tendrá una forma similar al pico de reducción.

La utilidad de la VC depende en gran medida de las especies reaccionantes que se están estudiando. Incluso los pares reversibles contienen un sobrepotencial de polarización. Este sobrepotencial surge de una combinación de velocidades de difusión de especies y la barrera de activación intrínseca de la transferencia de electrones de un electrodo a la especie <sup>37,59</sup>.

Como resultado, se obtiene información sobre el potencial redox y las velocidades de reacción electroquímica de los compuestos, en el caso preciso de las celdas de combustible y el cómo se implementaran en la caracterización electroquímica, las VC permiten observar picos referentes a la oxidación y reducción de excipientes y, como se modifica el área superficial de los electrodos conforme se genera la biopelícula.



**Figura 5. Voltamperometria cíclica, a) Dirección del barrido del voltaje, b) Gráfico corriente voltaje<sup>53</sup>**

Esta técnica fue utilizada para detectar picos de oxidación y reducción, y los potenciales a los que se presentan, de los diferentes excipientes en las

formulaciones farmacéuticas a evaluar, lo que permitió elegir aquellos con los cuales se obtuvo un mejor desempeño electroquímico

### **2.3.2 Voltamperometría de barrido lineal**

La voltamperometría de barrido lineal (VL) pertenece a las técnicas de barrido de potencial, en ella se hace un barrido de un voltaje a otro en una sola dirección, obteniendo una curva de corriente-potencial ( $i$ - $E$ ) en la cual el potencial varía linealmente con el tiempo, obteniendo así una respuesta en corriente<sup>59</sup>, con este tipo de experimentos se evalúa una reacción electroquímica en una sola dirección, ya sea oxidación o reducción. Adicionalmente este tipo de análisis puede utilizarse para construir curvas de polarización de las CCM, para ello es necesario utilizar velocidades de barrido muy bajas, de entre 0.05 a 1 mVs<sup>-1</sup>, con el fin de dar tiempo a los MOs dentro de las celdas para que respondan a los potenciales que se les exigen y alcanzar condiciones de estado estacionario<sup>60</sup>.

Las curvas de polarización permiten caracterizar las CCM obteniendo la corriente resultante en función del voltaje, lo que permite encontrar el punto en el cual se obtienen la corriente y voltajes óptimos para obtener la mayor cantidad de potencia posible<sup>38</sup>. Las curvas de polarización también permiten evaluar la resistencia global interna de las CCM, que es el resultado de la suma de varias resistencias que impiden que las CCM alcancen su voltaje ideal termodinámico de salida. Estas resistencias generalmente están asociadas con pérdidas de corriente debidas a: la activación, caídas óhmicas y sobrepotenciales debidos al transporte de masa<sup>60</sup>.

Estas pérdidas son definidas como el sobre-voltaje requerido para compensar la corriente perdida debido a las reacciones electroquímicas, en el transporte de carga y los procesos de transferencia de masa que suceden en las cámaras anódicas y catódicas. La caída o resistencia óhmica es el principal componente de la resistencia interna de una celda<sup>60</sup>.

Estas curvas se pueden obtener mediante diferentes métodos: a) medición de la descarga debido a la aplicación de una resistencia constante, mediante la conexión

de diferentes resistencias a la CCM y la medición de las corrientes y voltajes resultantes; b) polarización potenciodinámica, es decir, VL donde la corriente se mide mediante una velocidad de barrido baja; c) descarga galvanostática, donde se controla la corriente y se miden los voltajes resultantes; y, d) descarga potencioestática, donde se controla el voltaje y se miden las corrientes resultantes <sup>61</sup>.

### **2.3.3 Espectroscopía de impedancia electroquímica**

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS por sus siglas en inglés) es ampliamente utilizada para la caracterización de materiales, en electroquímica, y más precisamente en la caracterización de CCM esta es utilizada para profundizar en el análisis del sistema electroquímico, pues permite estudiar los fenómenos químicos y físicos ocurridos en la solución, interfaces y electrodos <sup>37</sup>, determinando así el aporte de cada uno de los componentes del sistema en la resistencia interna de la celda. De esta forma es posible centrar los esfuerzos en optimizar el desempeño de aquel elemento que presenta el mayor aporte en la resistencia interna del sistema, mejorando así el desempeño global del sistema <sup>62</sup>.

El uso de la EIS en la caracterización electroquímica del sistema se basa en el hecho de que la imposición de una señal de voltaje de corriente alterna de baja amplitud, permite obtener la correspondiente señal de corriente alterna que a su vez permite la evaluación de la impedancia del sistema en función de la frecuencia de la señal utilizada. La Figura 6 ilustra el modelo de la interfase electrificada en donde las diferentes partes de un sistema electroquímico en el cuál se efectúa una reacción redox. Las partes del sistema, se pueden aproximar a elementos eléctricos como resistores, capacitores e inductores; formando un circuito eléctrico equivalente, siendo al más sencillo de todos el circuito de Randles<sup>62</sup>.



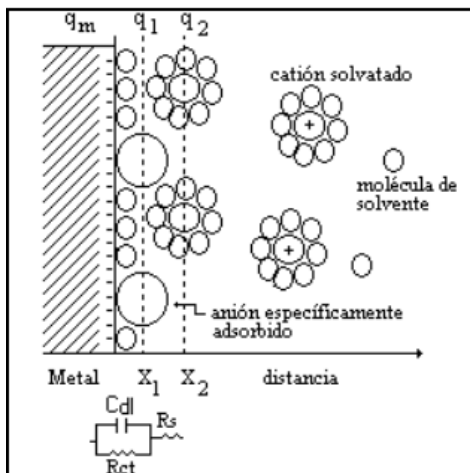


Figura 6. Similitud de la interfase electrificada con un circuito eléctrico equivalente <sup>62</sup>.

Para un sistema con un circuito de Randles (Figura 7) la resistencia  $R_{ohm}$  corresponde a la resistencia que presenta la solución, mientras que los elementos  $R_{ct}$  y  $C_{dl}$  representan a la interfase entre la solución y el electrodo, donde el primer término es la resistencia de la transferencia de carga debido al proceso de óxido-reducción, mientras que el término capacitivo corresponde a la estructura de la doble capa formada en la interfase. El término  $R_{ct}$  está relacionado directamente con la velocidad de reacción y es indicativo de la velocidad de transferencia de carga <sup>62</sup>.

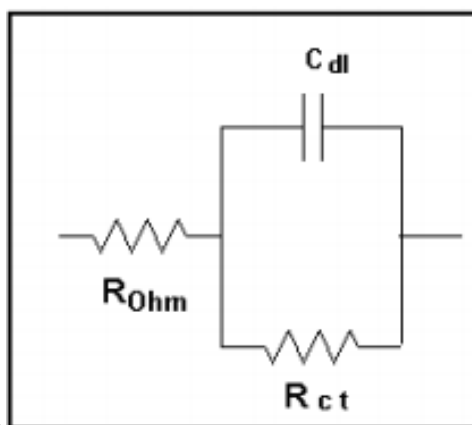
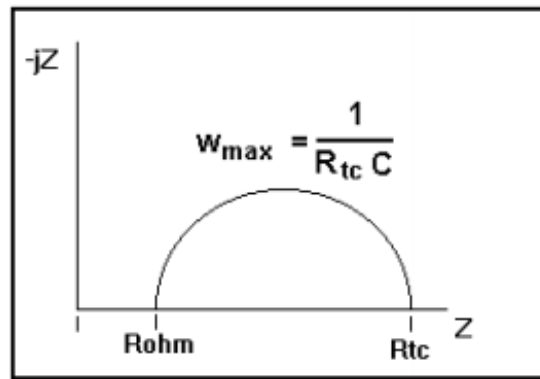


Figura 7. Circuito de Randles <sup>62</sup>.

El circuito de Randles tiene validez sólo si se conoce  $R_{tc}$  y  $C_{dl}$  como elementos lineales. En la Figura 8 se muestra el diagrama de Nyquist de un resistor y un capacitor que se comportan de manera lineal. Cuando se aplican frecuencias de orden de KHz, la onda de tiempo senoidal es tan rápida que circula a través de un medio como si estuviese en corto circuito, obteniéndose solo la contribución de la  $R_{ohm}$  de la solución, cuando la frecuencia baja al orden de los él capacitor actúa como si estuviera abierto y se obtiene  $R_{ohm}$  y  $R_{tc}$ . La capacidad de la doble capa corresponde al término  $C_{dl}$  y puede ser calculada considerando el valor de la frecuencia en el punto más alto del semicírculo <sup>62</sup>.



**Figura 8. Diagrama de Nyquist de un sistema controlado por activación.** <sup>62</sup>

Lo anterior solo es válido para sistemas controlados por activación. En sistemas controlados por difusión se introduce un elemento llamado impedancia de Warburg (W), cuyo valor describe la impedancia que ofrece el sistema por la difusión de especies a la interfase. Este término solo se manifiesta a bajas frecuencias. El circuito equivalente que incluye W se muestra en la Figura 9 a), y el diagrama de Nyquist de este elemento se representa como una línea recta a 45° (Figura 9 b)). De esta forma se puede conocer la aportación de cada elemento del sistema bioelectroquímico de las CCM en la resistencia interna de la celda <sup>62</sup>.

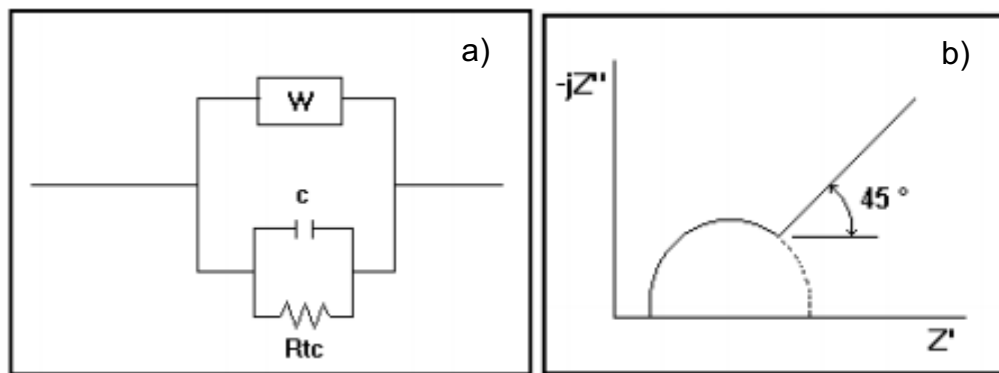


Figura 9. Sistema controlado por difusión a) Diagrama de Nyquist, b) Circuito equivalente.<sup>62</sup>

En celdas de combustible esta técnica permite observar con precisión las aportaciones de cada uno de los elementos a la resistencia interna del sistema, lo que permite tomar decisiones en busca de eficientar el diseño y el desempeño de estas.

### 2.3.4 Cronoamperometría

Dentro de las diferentes técnicas de análisis electroquímico se encuentran los análisis por perturbaciones transitorias, que se basan en una alteración de alguna condición eléctrica en el sistema (voltaje o corriente) para observar su respuesta, y dependiendo del tipo de alteración se tendrá una respuesta diferente. Al imponer una diferencia de potencial se obtendrá una corriente de electrólisis, en cambio si se impone una corriente constante, la respuesta se manifestará por medio de un cambio de potencial en la interfase conductor-disolución.

La cronoamperometría (CA) es una herramienta útil para determinar coeficientes de difusión. En CA, el potencial del electrodo de trabajo se incrementa y la corriente resultante de los procesos de faradicos en el electrodo se registra en función del tiempo. Se puede obtener información limitada sobre la identidad de las especies electrolizadas a partir de la relación de la corriente de oxidación máxima frente a la corriente de reducción máxima. Sin embargo, como con todas las técnicas de pulsos, la CA genera altas corrientes de carga, que decaen exponencialmente con el tiempo como en cualquier circuito de resistencia-capacitancia. La corriente

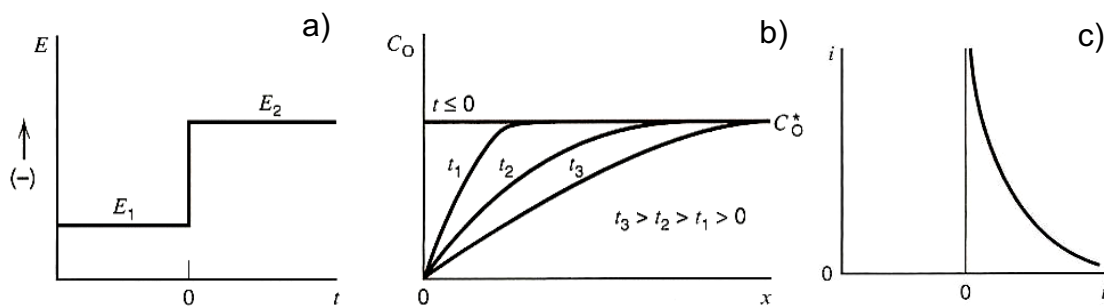
farádica, que se debe a los procesos de transferencia de electrones, es a menudo el componente de interés actual y decae según lo descrito por la ecuación de Cottrell Ecuación 5.

$$i = \frac{nFAD^{0.5}C_b}{(\pi t)^{0.5}} \quad (5)$$

Donde:

- $D$  es el coeficiente de difusión,
- $A$  es el área del electrodo,
- $C_b$  es la concentración en masa y  $t$  es el tiempo.

La Figura 10 muestra una forma de onda de excitación de potencial típica y la respuesta en corriente resultante. Esta respuesta se aplica a la difusión lineal semi-infinita; es decir, con una solución no agitada y difusión lineal al electrodo plano y que no existan otras reacciones implícitas. En la ecuación de Cottrell se muestra que la corriente es proporcional a  $t^{1/2}$  y que una gráfica  $i$  vs  $t^{1/2}$  produce una línea vertical que se deforma en sus extremos. La parte lineal del gráfico correspondiente a la ecuación de Cottrell permite el cálculo del coeficiente de difusión. En el estudio de las celdas esta técnica permite ver la estabilidad de la celda, al determinar durante cuánto tiempo la celda puede mantener una determinada salida de corriente a un potencial establecido<sup>37,59</sup>.



**Figura 10. Técnica de cronoamperometría, a) Programa de intensidad, b) Perfil de concentración, c) Respuesta<sup>53</sup>**

### 2.3.5 Eficiencia coulombimetrica

La eficiencia coulombimetrica (EC) se define como la relación entre el total de carga eléctrica realmente transferida desde el sustrato, y el máximo posible de carga obtenible si todo el sustrato consumido produjese corriente. El total de coulombs transferidos, se determina al integrar la corriente respecto al tiempo, así, la EC para una CCM funcionando en un sistema Batch, evaluada en un lapso de tiempo  $t$  se calcula de acuerdo a la Ecuación <sup>32</sup>.

$$EC = \frac{M * \int_0^t Idt}{Fbv_{an}\Delta DQO} \quad (6)$$

Donde:

- $M= 32 \text{ g mol}^{-1}$ , correspondiente al peso molecular del oxígeno molecular
- $F=$  Constante de Faraday=  $96845.33 \text{ Cmol}^{-1}$
- $b= 4$ , número de electrones que reaccionan por cada mol de oxígeno
- $V_{an}=$  es el volumen del líquido en la cámara anódica
- $\Delta DQO=$  es la remoción de DQO en el tiempo  $t$

La EC decae si las bacterias emplean aceptores de electrones alternos al ánodo, ósea que se encuentren en el medio, o que se difundan a través de la membrana, como el oxígeno. Otros factores que reducen la EC son los procesos competitivos y el crecimiento bacteriano. Las bacterias que son incapaces de utilizar el electrodo como aceptor final de electrones, probablemente empleen el sustrato para fermentación o metanogénesis<sup>32</sup>. La importancia de este parámetro decae en conocer cuál es el porcentaje de energía que realmente se recupera de la total producida por la celda.

## **2.4 Técnicas de caracterización fisicoquímicas**

Las técnicas de caracterización fisicoquímicas están enfocadas principalmente en conocer cuál es la eficiencia de las celdas en el tratamiento de los residuos a tratar, analizando los efluentes de las CCM y comparándolos con parámetros de calidad del agua, esto permite determinar cuan eficiente es una CCM en retirar un contaminante del agua.

### **2.4.1 Cromatografía líquida de alta eficiencia**

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés) es una técnica avanzada de la cromatografía, técnica desarrollada por M. Tswett en 1903, cuando colocó un extracto de pigmentos naturales sobre una columna de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) agregando éter al final con lo que pudo observar como el pigmento se descomponía en diversas bandas coloridas a diferentes velocidades.

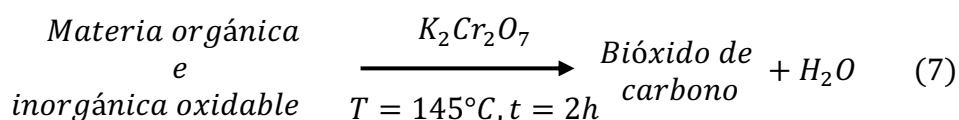
En la actualidad se trata de una técnica bastante versátil que permite analizar e identificar cerca del 90% de las sustancias conocidas por el hombre<sup>63</sup>. Los diferentes tipos de cromatografía líquida se pueden clasificar de diferentes manera, pero la forma más habitual de clasificación es la realizada en base a la naturaleza de la fase estacionaria, ya que esta es la que impone los mecanismos de separación de los compuestos en la fase móvil (Tabla 8). Esta técnica es útil al momento de identificar la concentración de un medicamento y como esta disminuye después del tratamiento, así como visualizar posibles metabolitos resultantes. Esta técnica se usó para determinar los porcentajes de remoción de fármacos por parte de las CCM.

**Tabla 8. Clasificación de los métodos de HPLC <sup>63</sup>.**

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
Cromatografía de líquidos	Líquido-líquido, o reparto	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida	Distribución entre líquidos inmiscibles
	Líquido-sólido, o adsorción	Sólido	Adsorción
	Intercambio de iones	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un polímero polimérico	Distribución-exclusión
	Afinidad	Grupo de líquidos específicos unidos a una superficie sólida	Distribución entre el líquido de la superficie y el líquido móvil

#### 2.4.2 Demanda Química de Oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro químico, que representa una medida de toda la materia orgánica e inorgánica presente en disolución y/o suspendida que puede ser químicamente oxidada, por la acción de agentes oxidantes, bajo condiciones ácidas y se mide como miligramos de “oxígeno” equivalentes a la fracción orgánica disuelta y/o suspendida por litro de disolución (agua residual). En esta determinación la materia orgánica es oxidada a bióxido de carbono y agua (Ecuación 7):



La DQO es un parámetro importante para determinar el grado de contaminación del agua y es usada para determinar la eficiencia de un método de tratamiento de aguas residuales. Aunado a lo anterior la determinación de DQO es parte fundamental para el cálculo de la EC de las CCM.

## JUSTIFICACIÓN

Los estudios previamente expuestos indican que los excipientes de formulaciones farmacéuticas no representan un riesgo ambiental latente, mientras que en conjunto con los medicamentos podrían representar un riesgo potencial al ambiente. Sin embargo, dada la dificultad de separar el compuesto activo del excipiente, se plantea el utilizar las formulaciones completas excipiente-fármaco como principal fuente de carbón para el crecimiento de las bacterias y la producción de electricidad en una CCM, simultáneamente se pretende degradar el principio activo durante el proceso de oxidación en una celda de combustible microbiana.

El proponer una celda de combustible microbiana como método de tratamiento para los excipientes farmacéuticos, responde a la necesidad de implementar un método de tratamiento que sea capaz de aprovechar los excipientes como forma combustible y fuente de carbón, sin tener que implementar múltiples tratamientos o procesos para el crecimiento bacterial. El uso de una celda de combustible permitiría adicionalmente al degradar los sistemas excipiente-principio activo de medicamentos.

## HIPÓTESIS

La aplicación de un sistema de celdas de combustible microbianas (CCM) permite oxidar más del 90% de la concentración inicial DQO de los excipientes de medicamentos, mientras se usan estos como combustible para obtener una ganancia energética en forma de electricidad, superando los  $100 \text{ mWm}^{-2}$  de potencia a una diferencia de potencial de 0.7V por celda.



## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Diseñar y construir una celda de combustible microbiana capaz de oxidar los excipientes presentes en diferentes formulaciones de medicamentos haciendo uso de estos como combustible y única fuente de carbón.

### Objetivos específicos

- Determinar el potencial oxidativo de ánodos modificados con biopelículas bacterianas en media celda para diversos medicamentos.
- Simular mediante COMSOL las condiciones ideales para la construcción de las CCM.
- Diseñar una CCM para el tratamiento de los excipientes de medicamentos.
- Diseñar un sistema de adquisición de datos y control automático para las CCM.
- Caracterizar electroquímicamente la CCM empleada para la degradación de los medicamentos.
- Caracterizar fisicoquímicamente la CCM empleada para la degradación de los medicamentos.
- Determinar el porcentaje de remoción de los principios activos ibuprofeno y carbamazepina.

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación se describe la metodología experimental llevada a cabo para la fabricación de las celdas y los experimentos realizados para su caracterización.

### 6.1. Formación de biopelículas y evaluación electroquímica en media celda para diversos medicamentos

#### 6.1.1 Selección de medicamentos

Como estudio preliminar, se realizó una elección de medicamentos a evaluar. Para esto se identificaron medicamentos comúnmente recetados para las 5 principales enfermedades del país, usando como base las Guías de Prácticas Clínicas (GPC) en su versión de “Guía de referencia rápida” del sector salud para las enfermedades más comunes<sup>12,15,17</sup>.

Los medicamentos seleccionados se molieron y se diluyeron en una solución buffer de fosfatos ajustando a una concentración de  $1 \text{ gL}^{-1}$  de medicamento. Esta solución se utilizó como electrolito soporte en las pruebas electroquímicas para la determinación del inóculo y medicamento que se describirán más adelante.

#### 6.1.2 Preparación de los bioelectrodos.

Se empleó como electrodo de trabajo papel Toray ( $1\text{cm} \times 0.4\text{cm}$ , previamente tratados con una flama de propano), sobre el cuál se formó una biopelícula de los inóculos. Los inóculos empleados fueron seleccionados en función de la mejor actividad electroactiva, los inóculos que se emplearon para las pruebas de actividad electroquímica fueron:

- Lodos anaerobios industriales, provenientes de la planta anaerobia de aguas residuales de una planta industrial (**Bio I**).
- Lodos aerobios domésticos, provenientes de la planta aerobia de tratamiento de aguas residuales Osiris ubicada en Guadalupe Zacatecas, (**Bio D**).

- Suelo común de los jardines de la Universidad Autónoma de Zacatecas, Campus Universitario Siglo XXI. **(Bio S)**.

Se realizaron cultivos de cada una de las fuentes ( $20 \text{ mL}^{-1}$  para inóculos líquidos y  $20 \text{ gL}^{-1}$  para inóculos sólidos) en los cuales se sumergieron las tiras de papel Toray, a un pH de 7 y agregando una solución nutritiva de glucosa en buffer de fosfatos (2g de glucosa, 8.6 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.2g NaOH, disueltos en un litro de agua destilada)<sup>64</sup>. Las biopelículas fueron crecidas durante dos semanas en una incubadora a  $36^\circ\text{C}$ . Dichos inóculos fueron evaluados por voltamperometría cíclica en media celda para cada uno de los medicamentos mencionados

### **6.1.3 Evaluación en media celda de los bioánodos formados usando como sustrato los medicamentos.**

El sistema usado constó de un electrodo de trabajo (papel Toray, Bio I, Bio D y Bio S), malla de platino como contraelectrodo y un electrodo de Calomel saturado  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  (244 mV vs ENH) como electrodo de referencia. Como electrolito soporte se empleó la solución buffer de fosfatos anteriormente descrita (Figura 11). Los voltamperogramas fueron obtenidos en una ventana de potencial de -0.2 a 0.6 V con una velocidad de barrido de  $30 \text{ mVs}^{-1}$ , ajustando posteriormente la ventana de medición entre los picos de evolución de hidrógeno y oxígeno. Primero se evaluaron las VC de electrodos de papel Toray limpios como blancos, posteriormente se evaluaron los bioánodos para conocer la ventana de potencial de cada uno, identificando en cada uno los posibles picos de oxidación y reducción de los medicamentos, adicionando  $300 \mu\text{L}^{-1}$  de sus diluciones.

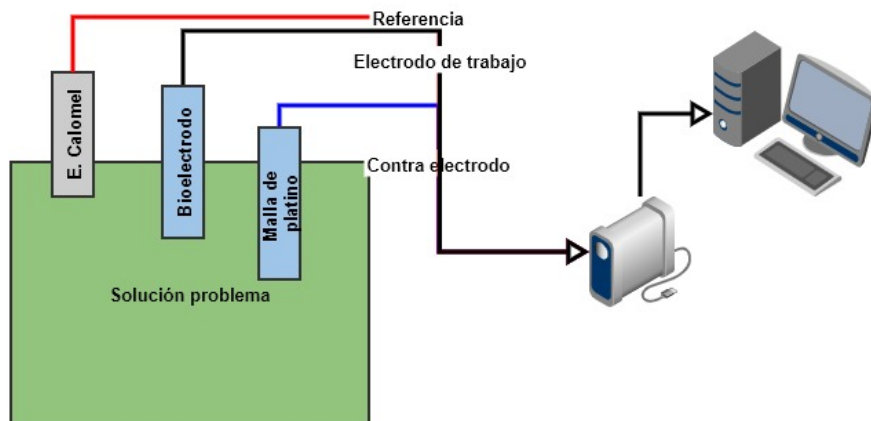


Figura 11. Conexiones en la celda para la realización de las VC.

#### 6.1.4 Fotografías de la biopelícula

Una vez terminadas las evaluaciones de voltamperometría cíclica, se tomó una muestra cada uno de los bioelectrodos y un blanco (Papel Toray solo), se colocaron sobre un portaobjetos limpio, se fijó la muestra dejando secar los electrodos y flameándolos levemente, posteriormente se colocó un cubreobjetos y se selló usando esmalte acrílico.

Las muestras se observaron en un microscopio óptico Nikon Eclipse 80i para posteriormente tomarles fotografías usando los aumentos de 10X, 20X, 40X y 60X mediante el software de captura NIS-Elements F 3.2.

#### 6.1.5 Acondicionamiento del inóculo

Una vez que se determinó el cultivo que se usó en las celdas, fue necesario llevar a cabo una etapa de adaptación a la solución problema y a las condiciones de operación de la CCM, con el propósito de que los microorganismos se adaptasen mejor adaptados a las condiciones de trabajo. El que procedimiento permitió reducir los tiempos de tratamiento, aumentar la salida de potencia y aumentar la eficiencia de degradación de sustratos. El proceso de adaptación también llamado “añejamiento” del inóculo se refiere a pre incubar el inóculo inicial junto con

concentraciones moderadas del sustrato a tratar<sup>53,65</sup>. Se preincubó el inoculo inicial junto con el medicamento y excipiente elegidos, de forma que los MOs tuvieran el tiempo necesario para adaptarse a su nueva fuente de carbón, generando las enzimas y mecanismos necesarios para poder oxidar el excipiente. Se preincubaron 200gr de suelo con 200 ml de una mezcla de solución problema (1gr de medicamento por litro de buffer de fosfatos), aun pH de 7 y una temperatura de 36°C durante un mes, renovando la concentración de fármaco cada dos semanas <sup>53,65</sup>, Los sistemas obtenidos se denominaron Inóculos de Suelo Acondicionados (ISA: Loratadina ISAL; Naproxeno ISAN; Pantoprazol ISAP. Ver Figura 12)

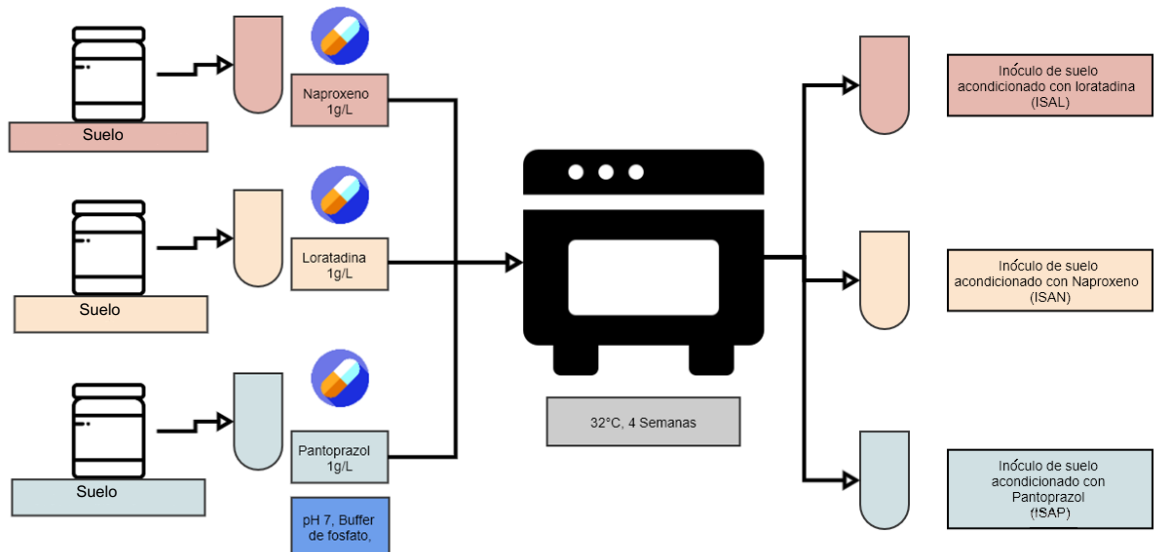


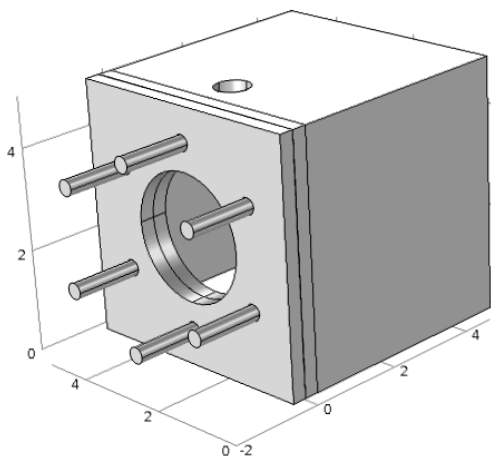
Figura 12. Inóculos de Suelo Acondicionados.

## 6.2. Simulación y construcción de prototipos de CCM

El diseño de los prototipos pasó por varias etapas, comenzando con un modelo inicial y modificándose a medida que se daban los resultados de las simulaciones y pruebas preliminares. El proceso completo de diseño y modificación de los prototipos se presentara en la sección de resultados, a continuación se describirá el proceso de construcción de las celdas usadas en las pruebas preliminares y las celdas del prototipo final.

### 6.2.1 Prototipo 1

La celda prototipo 1 fue usada para las pruebas preliminares, consta de una estructura cúbica de 5 cm de lado, contando con un volumen final de 75 cm<sup>3</sup>. Cuatro de los paneles fueron de vidrio para darle rigidez estructural, mientras que los dos paneles perforados y la tapa son de plexiglás. Todas las caras fueron unidas usando resina epoxica y silicón. Los paneles, soporte y la tapa poseen 6 tornillos y tuercas de Nylon M2 que permiten sellar la celda (Figura 13).



**Figura 13. Prototipo 1, celda usada en pruebas preliminares**

### 6.2.2 Prototipo 2

Para el prototipo final se usó un tubo de acrílico de 2 in (5 cm) de diámetro, con un largo de 10cm con un volumen de 200 cm<sup>3</sup>, sellado en un extremo con una placa de acrílico circular sobre la cual se fijó un termopar sumergible DS18B20, mientras que por en el otro extremo se colocó otro un sello tipo brida perforado como soporte del MEA, sellando herméticamente el sistema (Figura 14).



**Figura 14. Ensamble de prototipo 2**

Se construyó un módulo rectangular de calefacción de 28\*10\*9 cm de vidrio y plexiglás, en el cual se montaron 3 celdas con una separación de 5 cm entre cada celda, se realizaron perforaciones en la parte posterior y frontal del módulo en donde se montaron las celdas y se sellaron con silicón. Se realizaron dos perforaciones más en los paneles, arriba y debajo de cada celda, donde se colocaron tubos de entrada y salida del agua de calefacción, contando con 6 entradas y 6 salidas, dos por cada celda, esto para garantizar el mismo contacto con el agua de calefacción y evitar variaciones de temperatura entre las celdas.

### **6.2.3 Construcción del MEA**

El Ensamble Membrana electrodos (MEA por sus siglas en inglés) está constituido por un cátodo de tela de carbón con platino en una carga de 0.5 mgm<sup>-2</sup>, una membrana de intercambio de protones de Nafion<sup>®</sup> y un ánodo de fieltro de carbón. La tela de carbón fue cortada a medida de las tapas, posteriormente se colocaba la membrana de Nafion<sup>®</sup> y finalmente un empaque de silicón.

### **6.2.3.1 Activación e hidratación de la membrana de NAFION®**

Como membrana de intercambio de protones se utilizó una membrana de Nafion 115, la cual se acondicionó por ebullición durante 1 h en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% en peso, posteriormente se enjuagó con agua desionizada, luego se enjuagó durante 1 h en HNO<sub>3</sub> al 50% en volumen, se enjuagó de nuevo con agua desionizada, se hirvió durante 1 h en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> y finalmente se enjuagó con agua desionizada. La membrana se secó a 80°C durante 4 y se almacenó en agua desionizada hasta su utilización<sup>66</sup>.

### **6.2.3.2 Ánodo**

Con el fin de incrementar el área superficial del fieltro de carbón a usar en las CCM se realizó un pretratamiento consistente en sumergir el fieltro de carbón en una mezcla 1:1 de HNO<sub>3</sub> 16 mol L<sup>-1</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 8.8 mol L<sup>-1</sup>, bajo sonicación durante 0.5 h y posteriormente se secó en una mufla a 480°C. El fieltro una vez seco se lavó con agua desionizada hasta el que el pH se neutralizó, finalmente las muestras se secaron a 60°C durante una noche<sup>67</sup>.

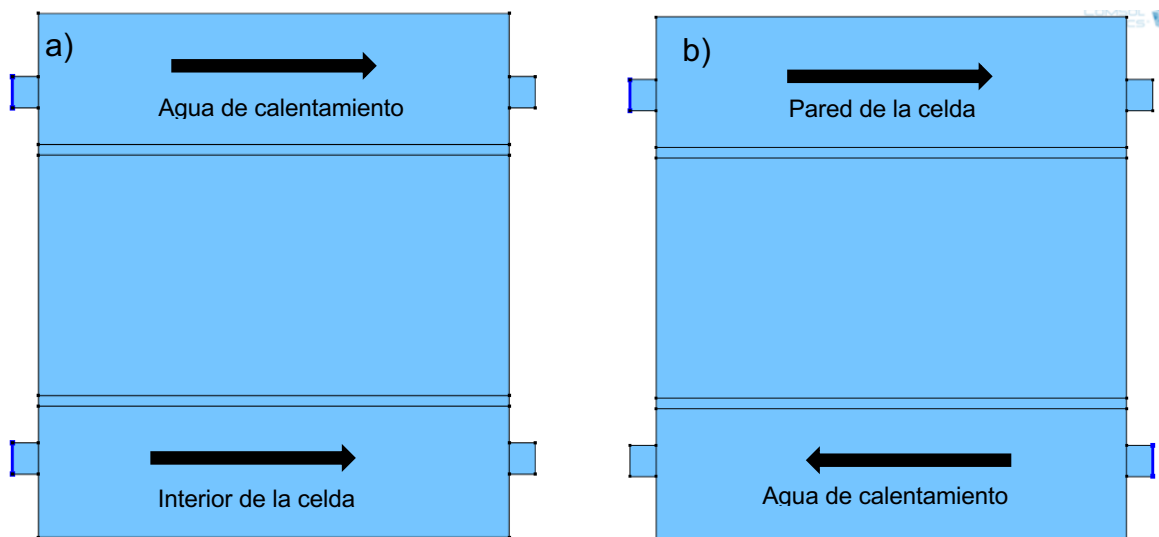
Ya tratado, el ánodo se cortó en círculos de 2 cm de diámetro con una pequeña pestaña de 3mm de lado, por la cual se hizo un corte al interior del fieltro y se rellenó con pasta conductora y tela de acero inoxidable para facilitar el contacto eléctrico entre el ánodo y el colector de corriente. El contacto final empleó un soporte usando cables de acero inoxidable, el colector de corriente se sacó de la CCM mediante un orificio que funge como puerto de muestreo.

## **6.3 Simulación en COMSOL Multiphysics®**

El diseño original del sistema de celdas se sometió a un proceso de simulación de flujo y transporte de calor a través del sistema, empleando COMSOL Multiphysics®, con el objeto de optimizar la conducción de calor, teniendo como variables la temperatura, velocidad y dirección del flujo de agua de calefacción.



Se inició con una simulación en 2D de un corte transversal del sistema a la mitad de una de las celdas, para analizar la entrada y salida del agua de calentamiento, así como la transferencia de calor a través de la pared de la celda y su efecto en la temperatura interna. La velocidad de entrada del agua se definió usando el flujo nominal de dos bombas ( 120 y 90 ms<sup>-1</sup>), a 25, 32 y 36°C, las condiciones iniciales del sistema fueron 17°C (temperatura promedio del estado de Zacatecas<sup>68</sup>). Se simularon 2 escenarios: a) flujo paralelo, y b) flujo cruzado (Ver Figura 15) así como la implementación de un sistema de división del flujo de 6, 12 y 18 entradas.



**Figura 15. Modelo 2D para la simulación de transferencia de calor a) flujo paralelo, b) flujo cruzado.**

Las propiedades térmicas y cinéticas del agua fueron tomadas de la base de datos de materiales del programa, mientras que las propiedades térmicas de las paredes de acrílico se tomaron de fichas técnicas de tubos de acrílico comerciales ( $C_p= 1465.73 \text{ JKg}^{-1}\text{m}^{-3}$ ,  $\rho= 1200 \text{ Kgm}^{-3}$ ,  $k= 0.18 \text{ Wm}^{-1}\text{k}^{-1}$ )<sup>69</sup>

#### **6.4 Construcción del sistema control y adquisición de datos.**

Para el registro de temperaturas y voltajes del sistema se programó y construyó un sistema de captura electrónica, con la capacidad de almacenar los valores de forma confiable el cual se describe a continuación:

### **6.4.1 Placa de control**

La temperatura y voltaje de cada celda durante su funcionamiento, fueron monitoreadas empleando un microcontrolador, mediante una placa de desarrollo Arduino Mega, el cual permite procesar señales eléctricas asociadas a los parámetros que se miden.

Con el fin de monitorear los dos parámetros principales de control: la temperatura de las celdas y el voltaje se usó una placa de desarrollo Arduino Mega. La placa de desarrollo Arduino, es un sistema basado en un microcontrolador que permite procesar las señales eléctricas de elementos de control de acuerdo a las necesidades específicas. El sistema Arduino fue seleccionado ya que incluye todo lo necesario para el procesamiento de señales a través de un sistema de programación simplificado, de código abierto y fácil utilización (el código completo se presenta en el ANEXO I).

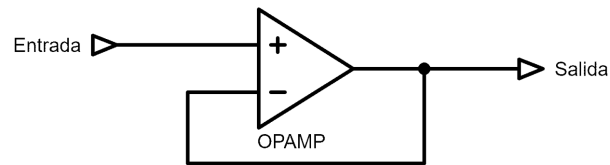
### **6.4.2 Medición de temperatura:**

Para el control necesario de la temperatura en el sistema, que incluye el uso de líquidos, se emplearon termopares sumergibles del tipo DS18B20, con un rango de temperaturas de funcionamiento de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $85^{\circ}\text{C}$  el cual se encuentra perfectamente dentro de las temperaturas esperadas.

### **6.4.3 Medición de voltajes de las celdas:**

Para realizar la medición de los voltajes en las celdas la placa Arduino requiere conectarse directamente a las terminales positiva y negativa de la celda, sin embargo, por el funcionamiento interno de la placa resulta necesario tener un pequeño y constante consumo de corriente, para evitar afectar las celdas y así mismo reducir la interacción eléctrica directa. En este caso se implementó un sistema seguidor de voltaje (buffer, Low Input Bias Currents: 100 nA Maximum, LM324A)<sup>70</sup> basado en un amplificador operacional como se muestra en la Figura

16. El sistema presentó impedancias del orden de los  $G\Omega$ , minimizando así el impacto del sistema de monitoreo en el voltaje y corriente de las CCM.



**Figura 16. Buffer seguidor de voltaje.**

Este sistema toma a su entrada el voltaje de la celda y lo copia directamente a la salida, realizando únicamente una comparación de sus valores y evitando el consumo de corriente de la celda, evitando una interacción de voltaje obteniendo medidas más confiables y precisas sin ser afectado por cada medición. El uso de este sistema se repitió para cada una de las celdas.

#### **6.4.4 Almacenamiento de datos**

Para almacenar los datos generados, se implementó de un medio de almacenamiento robusto consistente en un módulo de memoria SD compatible con Arduino. Este sistema permitió el almacenamiento en la memoria de la información para su posterior extracción procesamiento en una computadora para facilitar el procesamiento y simplificar el guardado del archivo correspondiente, los datos se almacenaron como valores separados por comas, (CSV por sus siglas en inglés) como se puede observar en la siguiente imagen 17.

```
Registro iniciado en 01-01-2020 16:59:05
Fecha,hora,T1,V1,T2,V2,T3,V3,T4,V4,T5,V5,T6,V6,T7,V7,T8,V8,T9,V9
01-01-2020,17:00:00,15.50,273.44,0.00,830.08,0.00,1015.63,0.00,1118
```

**Figura 17. Fragmento de código para el almacenamiento de datos**

Los valores separados por comas pueden ser fácilmente separados y procesados por software de hojas de cálculo, así como leídos por algún otro programa de ser

necesario. Adicionalmente al almacenamiento de los datos, fueron registradas la hora y fecha de obtención, a través de un módulo de reloj.

## 6.5 Pruebas preliminares de los prototipos de las CCM.

### 6.5.1 Soporte del MEA

Se realizaron pruebas con el prototipo 1 para determinar el mejor soporte del MEA, estos soportes fueron: Sin soporte, perforaciones pequeñas, en X, perforaciones grandes y pilares (Figura 18). Para su evaluación se empleó EIS obteniendo espectros en el rango de frecuencias de 10 MHz a 0.1 Hz, con una amplitud de onda sinusoidal de 10mV, a partir de los espectros obtenidos, se determinó la resistencia global del sistema.

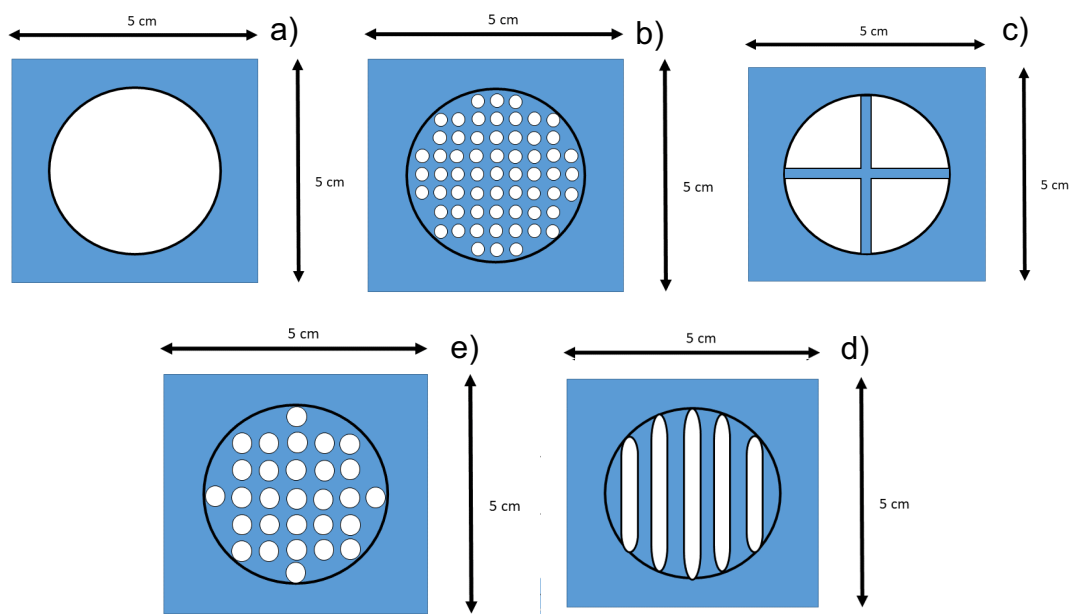


Figura 18, Soportes para el prototipo 1. a) Sin soporte, b) Perforaciones pequeñas, c) tipo X, d) perforaciones grandes, e) pilares.

### 6.5.2 Determinación del ciclo de degradación

Con un soporte determinado se realizaron pruebas preliminares de degradabilidad de medicamentos en el primer prototipo de celda, para determinar los tiempos de degradación, voltajes y corrientes esperados. Para lo anterior, se montaron tres

sistemas, para degradar cada uno de los medicamentos a tratar. Las condiciones empleadas fueron, pH 7, concentración de medicamento = 1 g L<sup>-1</sup>, concentración de inóculo = 10 g L<sup>-1</sup> y temperatura ambiente.

## **6.6 Condiciones de operación de las CCM**

El sistema operó en ciclos batch, con un tiempo operación por ciclo de 3 semanas de duración cada uno. Dado que cada contenedor trabajó con 3 celdas al mismo tiempo, se evaluaron tres medicamentos diferentes simultáneamente, de forma tal que cada una de las celdas en ese contenedor se operó en igualdad de condiciones.

Para operar las CCM se utilizó una solución buffer similar a la usada en etapas anteriores. La concentración del inóculo se estableció en 10 g L<sup>-1</sup> de suelo en solución buffer, la concentración del medicamento cambió según el ciclo experimental. Con el fin de acondicionar la señal obtenida, se incorporó una resistencia de 100 Ω entre el cátodo y el sistema de adquisición de datos. La incorporación de esta resistencia favorece el crecimiento y la actividad de los microorganismos exoelectrógenicos, reduciendo las vías fermentativas y evitando los excesos de energía <sup>71-74</sup>. En la Tabla 9 se muestran las condiciones experimentales que se emplearon en cada etapa.

Con fines comparativos, se agregaron Ibuprofeno y Carbamazepina en forma pura a la lista de medicamentos a evaluar. En este caso se emplearon a un máximo de concentración de 50 ppm, para lo cual se preparó una solución madre de 1000 ppm, de la cuales se tomaron alícuotas (11.5 ml) para ajustar a una concentración requerida en el volumen de las celdas construidas.

**Tabla 9. Condiciones experimentales empleadas en las CCM.**

Etapa	Celda	Medicamento	Concentración	Temperatura	Inóculo
1	A	Naproxeno	1 g L <sup>-1</sup>	25°C	ISAN
	B	Pantoprazol	1 g L <sup>-1</sup>		ISAP
	C	Loratadina	1 g L <sup>-1</sup>		ISAL
	D	Ibuprofeno	50 ppm	25°C	Suelo
	E	Carbamazepina	50 ppm		Suelo
2	A	Naproxeno	0.5 g L <sup>-1</sup>	25°C	ISAN
	B	Pantoprazol	0.5 g L <sup>-1</sup>		ISAP
	C	Loratadina	0.5 g L <sup>-1</sup>		ISAL
3	A	Naproxeno	1 g L <sup>-1</sup>	32°C	ISAN
	B	Pantoprazol	1 g L <sup>-1</sup>		ISAP
	C	Loratadina	1 g L <sup>-1</sup>		ISAL

Todos los experimentos se realizaron con un pH de 7

## **6.7 Caracterización electroquímica del prototipo de CCM.**

### **6.7.1 Determinación del ciclo de degradación y registro del VCA**

Para poder realizar la mayoría de los experimentos fue necesario saber en qué momento las CCM entraban en estado estacionario, para ello se conectaron tanto ánodo como cátodo al sistema de adquisición de datos, colocando una resistencia de 100Ω entre el cátodo y el sistema de adquisición de datos, el sistema registro cada hora el voltaje a circuito abierto del sistema, si bien esto permite un muestreo continuo y confiable de la evolución del VCA de las CCM, los datos no pueden ser extraídos hasta que se concluye el experimento, por ello, de manera simultánea se midió el voltaje de forma manual con un multímetro, de forma que se pudiera observar la evolución de los voltajes y así determinar en qué momento las CCM entraban en estado estacionario.

### **6.7.2 Voltamperometría de barrido lineal**

Para la elaboración de las curvas de polarización de las CCM se realizaron VL en celda completa una vez que el registro de VCA mostró que las CCM habían alcanzado el estado estacionario, usando como electrodo de referencia un electrodo de Calomel saturado Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/KCl sat (244 mV vs ENH), mientras que el ánodo

se conectó como contra electrodo y finalmente el cátodo se conectó como electrodo de trabajo (Figura 19). Las VL se iniciaron en el potencial a circuito abierto y terminaron en 50mV, este límite se empleó como un factor de seguridad para las bacterias de la biopelícula, a una velocidad de barrido de  $0.1 \text{ mVs}^{-1}$ .<sup>37</sup> y un tiempo de acondicionamiento de 30s. Estos datos permitieron crear las curvas de corriente / potencial y de potencia.

### 6.7.3 Espectroscopia de impedancia electroquímica

Las CCM se analizaron mediante espectroscopia de impedancia electroquímica para profundizar en el comportamiento de cada uno de sus componentes. Se obtuvieron espectros de impedancia de la celda completa en estado estacionario, después de obtener las curvas de polarización. Un esquema del sistema experimental ilustra en la Figura 19. Se realizaron barridos de frecuencias de  $10^6$  a  $10^{-1}$  Hz, con una señal de voltaje sinusoidal de amplitud de 10mV superpuesta a un potencial a un potencial de CD correspondiente al circuito abierto

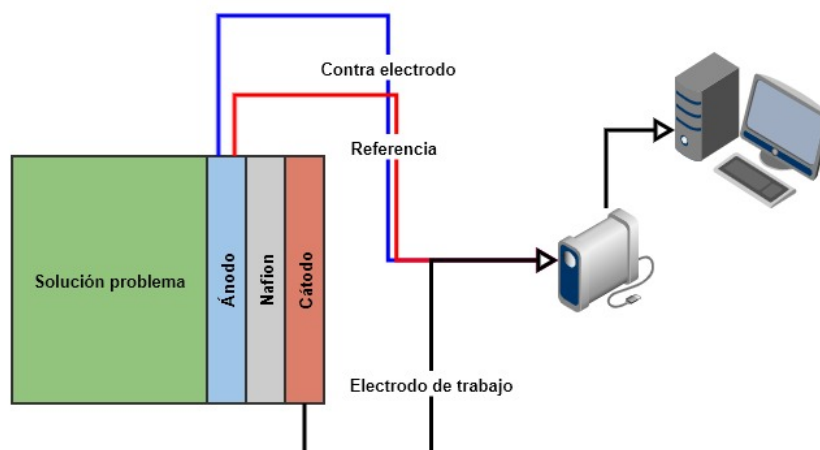


Figura 19. Conexiones en la celda para la realización de las VBL y EIE.

### 6.7.4 Cronoamperometría

Para analizar la estabilidad del sistema se realizó una cronoamperometria en celda completa usando como electrodo de referencia y contraelectrodo el cátodo de la celda, y como electrodo de trabajo el ánodo de la celda (Figura 20), fijando un tiempo de acondicionamiento de 60s a VCA, posteriormente se fijó el potencial al potencial de la  $p_{max}$  por un tiempo de 1800s.

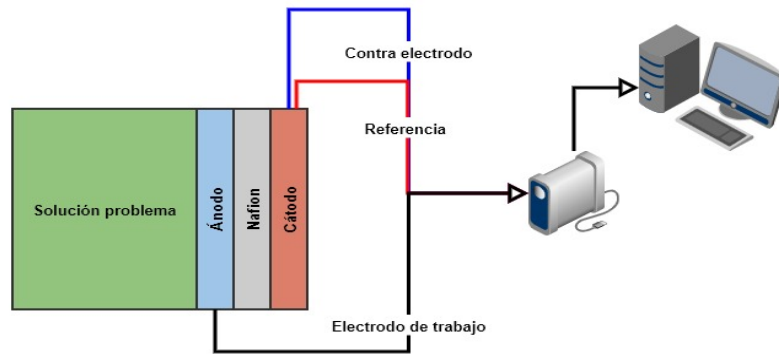


Figura 20. Conexiones en la celda para la realización de cronoamperometrias,

### 6.7.5 Cálculo de la eficiencia coulombimetrica (EC)

Para el cálculo de la  $EC$  se siguió la metodología propuesta por Logan y colaboradores<sup>32</sup>;

$$EC = \frac{\text{Coulombs recuperado}}{\text{Total de coulombs en el sustrato}} \quad (8)$$

Donde:

$$\text{Coulombs recuperados} = \int_0^t I dt \quad (9)$$

$$\text{Total de coulombs en el sustrato} = F * \frac{b_{es} * V_{an} * \Delta C_{sub}}{M_s} \quad (10)$$



Para sustratos complejos, desconocidos o aguas residuales, es conveniente usar la DQO como medida de la concentración del sustrato. Para un ciclo Batch, se tiene la ecuación 11.

$$EC = \frac{8 \int_0^t I dt}{F V_{an} \Delta DQO} \quad (11)$$

Donde:

- $EC$  = Eficiencia Coulombimétrica de la CCM
- $\mathcal{G}$  = Es una constante utilizada para la DQO. Basada en  $MO_2/b_{es}$ , donde
- $MO_2$  = Peso molecular del oxígeno molecular,  $32 \text{ g mol}^{-1}$
- $b_{es}$  = Número de electrones intercambiados por mol de oxígeno,  $4 e^-$
- $t$  = tiempo de operación s
- $F$  = Constante de Faraday,  $96485.34 \text{ C mol}^{-1} e^{-1}$
- $V_{an}$  = Volumen de la cámara anódica
- $\Delta DQO$  = Cambio en la concentración de DQO del sustrato

## 6.8 Caracterización fisicoquímica

La eficiencia del sistema de tratamiento está determinada por el porcentaje de remoción materia orgánica en el agua. Para ello se plantean una serie de análisis estándar en el análisis de aguas, la mayoría de ellos descritos y validados por la normatividad mexicana aplicable y a continuación se describen brevemente.

### 6.8.1 Determinación de DQO

La determinación de DQO se lleva a cabo siguiendo la metodología planteada en la NMX-AA-030-SCFI-2001<sup>75</sup> (DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA), donde se coloca 1.5 mL de solución catalizadora (15g de Sulfato de Plata en 1L de ácido sulfúrico concentrado), 2.5 mL de las muestras en tubos de ensayo con 3.5 mL de solución digestora A (10.216 g de dicromato de

potasio, 167 mL de ácido sulfúrico concentrado, 33.3 g de sulfato mercuríco y se aforar a 1 L con agua), para las determinaciones iniciales y finales se usa la solución digestora A, usando como blanco agua destilada, las mezclas se dejan en digestión durante dos horas dentro de un horno a 150 °C, posteriormente se dejan enfriar los tubos a temperatura ambiente, y finalmente se mide la absorbancia en un espectrofotómetro GENESYS 10S UV-Vis, en una longitud de onda de 600 nm en luz visible <sup>75</sup> (La curva de calibración se presenta en el ANEXO II).

### **6.8.2 Determinación del porcentaje de degradación de medicamentos.**

La degradación de medicamentos fue evaluada empleando HPLC. Para la curva de calibración correspondiente a la degradación de ibuprofeno, se prepararon soluciones con 5, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm de ibuprofeno en agua desionizada, usando una columna Symmetry C18 (5 µm, 150 x 4,6 mm), con una fase móvil de acetonitrilo y ácido acético (1% peso) con un flujo de 0.5 mLmin<sup>-1</sup> (30% acetonitrilo y 70% ácido acético), empleando un cromatógrafo y un detector 2998 PDA, ajustando a 265 nm (la curva de calibración se presenta en el ANEXO III).

Para la determinación de la degradación de ibuprofeno mediante HPLC se tomaron muestras al principio y final del ciclo de tratamiento, de las cuales se tomaron alícuotas de 200µL aforando 1mL las cuales se refrigeraron hasta el momento de su utilización. Las alícuotas se filtraron con una membrana de MF-Millipore, TypeHawp de 45µm, posteriormente se vertieron en viales ámbar de 1.5ml para HPLC, los cuales se colocaron en el analizador automático,

Las muestras se leyeron usando la misma columna y condiciones de la curva de calibración, y se leyeron a la misma longitud de onda, posteriormente se realizó una interpolación con la curva de calibración para determinar la concentración de ibuprofeno restante y usando la Ecuación 11 se determinó el porcentaje de remoción del medicamento.

$$\%R = \frac{(C_i - C_f)}{C_f} * 100 \quad (12)$$

Donde:

- $\%R$ = Porcentaje de remoción
- $C_i$ = concentración inicial
- $C_f$ = Concentración final.

## ANALISIS Y RESULTADOS

En la Tabla 10 se muestran el peso y proporciones de los medicamentos seleccionados como viables de la tabla 4, al pesar los diferentes comprimidos de los medicamentos previamente mencionados se observó que el porcentaje en peso de excipiente en paracetamol y naproxeno era menor al esperado para esta investigación, motivo por el cual se decidió ampliar el número de medicamentos a evaluar a otros medicamentos disponibles no antibióticos destinados a tratar otras afecciones comunes. Agregando así a la lista de medicamentos a evaluar Loratadina (alergias varias) Celecoxib (artritis y problemas de articulaciones) Hidroclorantiazida y Metoprolol (hipertensión) Benzonatato (enfermedades de vías respiratorias) y Pantoprazol (gastritis). Destacando Loratadina, Pantoprazol e Hidroclorantiazida por su contenido en excipientes superior al 75%

Tabla 10. Peso y proporción de excipientes en los medicamentos a evaluar

Medicamento	Presentación (mg)	Peso del comprimido (mg)	Peso del excipiente (mg)	% en peso del excipiente
Benzonatato	100	220	120	54.55
Celecoxib	100	330	230	69.70
Hidroclorantiazida	25	100	75	75
Loratadina	10	135	125	92.59
Metoprolol	100	322	222	68.94
Naproxeno	250	350	100	28.57
Paracetamol	500	556	56	10.07
Pantoprazol	40	170	130	76.47

## 7.2 Elección del inóculo y medicamentos.

La evaluación de los inóculos (Bio S, Bio D y Bio I) se muestra en la Figura 21, donde se puede observar que cada bioelectrodo se comporta de forma diferente, Bio S y Bio D se muestran menos resistivos que Bio I, presentando ambos una disminución de  $3\mu\text{A}$  en la corriente correspondiente a la pseudocapacitancia evidenciando una reducción considerable en el área electroactiva, probablemente por la obstrucción de poros ocasionada por bacterias y sustancias extramembranales que conforman la biopelícula (en la sección de micrografías se profundiza al respecto) sin embargo Bio D muestra un incremento considerable en la corriente de reducción a partir de  $-150\text{mV}$ , mientras que Bio S muestra actividad de reducción cerca de  $-350\text{mV}$ , Bio I es el que muestra una ventana de potencial más amplia, es el más resistivo de los tres bioelectrodos dada la inclinación de su curva en comparación con las demás, también es la que presenta mayores corrientes de reducción a potenciales negativos entre los  $-200\text{mV}$  y los  $-800\text{mV}$ <sup>76</sup>.

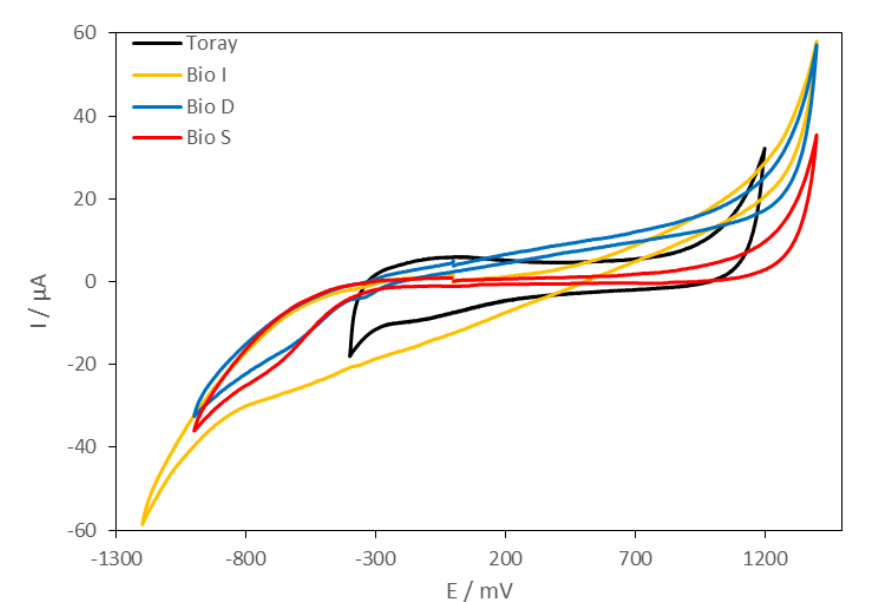
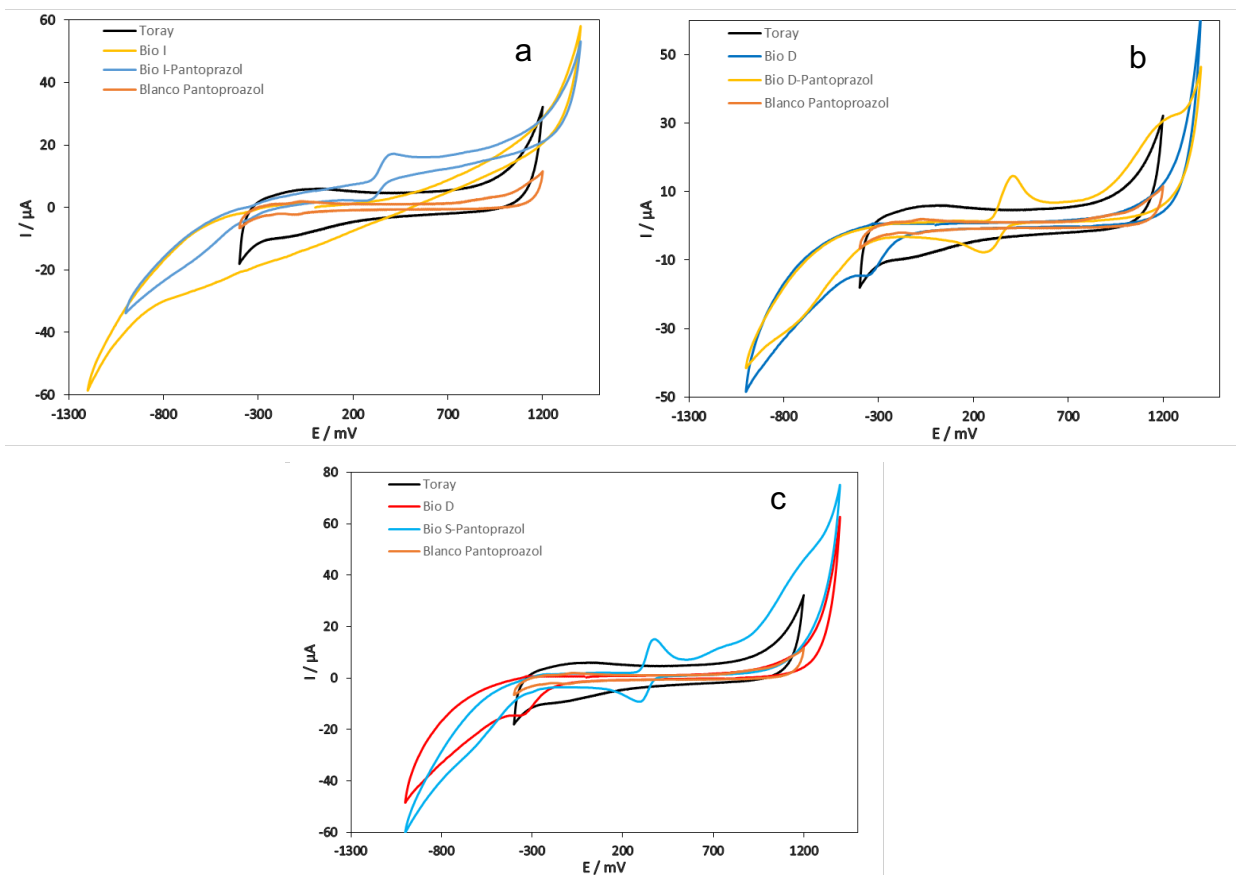


Figura 21. Voltamperometrías cíclicas de los bioelectrodos comparados con papel Toray.

En la Figura 22 se muestra el comportamiento de los distintos bioelectrodos en presencia de Pantoprazol (las VC con todos los medicamentos a evaluar se presentan en el ANEXO IV). Donde se observa que en se percibe actividad en los tres electrodos, siendo BIO S el que presento la mayor actividad de los tres bioelectrodos evaluados, también se puede destacar la presencia de picos de oxidación en medicamentos como Hidroclorantiazida y Pantoprazol en todos los electrodos.

El bioelectrodo Bio I presenta la menor cantidad de picos mostrando ser el electrodo menos activo, en las curvas no se visualiza un incremento en su respuesta en corriente, así como la ausencia de los incrementos de corriente cerca de los 700 mV y 1000 mV, incrementos que si presentan en los otros dos electrodos (picos muy probablemente relacionados a la oxidación de los excipientes), esto podría ser un indicador de que la presencia de medicamentos en este inoculo propicia solo un incremento en la resistividad del mismo electrodo como parte de un mecanismo de protección del propio inoculo ante la presencia de los medicamentos.

Bio D incrementa su actividad en presencia de medicamentos, se observa en el incremento de corriente a partir de los 500 mV, este comportamiento solo no es observado cuando se adiciona Benzonatato, teniendo los mayores incrementos cerca de los 700 y 1000 mV. En Bio S, presenta un comportamiento similar al observado en Bio D, con un incremento en la corriente a partir de los 500mV, sin embargo, el incremento es más marcado, llegando a superar las corrientes alcanzadas por el blanco de papel Toray, mostrando así que este bioelectrodo es más activo que el resto de los bioelectrodos.



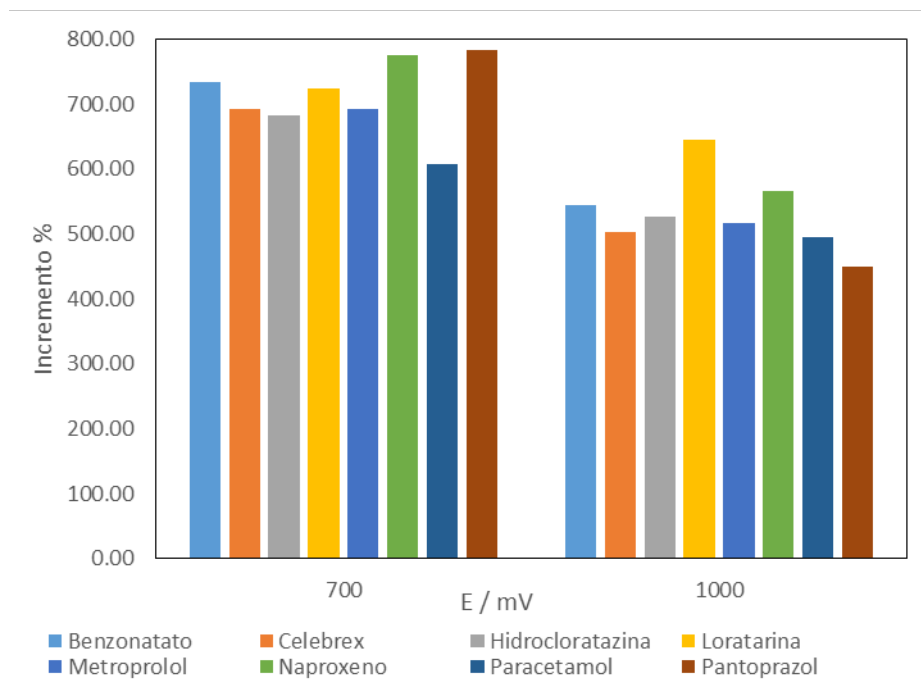
**Figura 22. Comparación de las VC realizadas a los bioelectrodos en presencia de Pantoprazol. a) Bio I. b) Bio D, c) Bio S**

En la Tabla 11, se comparan los incrementos porcentuales en las corrientes obtenidas por los diferentes electrodos a 700 mV y 1000 mV con respecto a la curva blanco de cada electrodo (voltajes donde la mayoría de los bioelectrodos muestran mayor actividad según la ANEXO IV), de forma que se pueda determinar cuál es la combinación electrodo-medicamento que ofrece la mayor ganancia porcentual de corriente. El incremento porcentual fue calculado dividiendo el  $\Delta_i$  en el voltaje seleccionado y dividiéndolo entre la corriente en el punto de la curva blanco. En dicha tabla se puede observar como en cada caso, Bio S es el que presenta los incrementos porcentuales de corriente más altos en comparación con los otros dos electrodos (Superiores al 500% en Bio S, mientras que Bio I y Bio D no llegan al 500%), por lo que se determinó seguir trabajando con este inóculo para la formación de las biopelículas en las celdas de combustible microbianas.

**Tabla 11. Incremento porcentual de corriente por electrodo**

<b>Medicamento</b>	<b>E de evaluación (mV)</b>	<b>Bio S</b>	<b>Bio I</b>	<b>Bio D</b>
Benzonatato	700	733.33	206.82	105.88
	1000	545.45	108.24	91.30
Celebrex	700	691.67	136.36	170.59
	1000	502.27	57.14	208.70
Hidroclorantiazida	700	683.33	69.32	88.24
	1000	527.27	32.42	256.52
Loratadina	700	725.00	100.00	58.82
	1000	645.45	37.36	132.61
Metroprolol	700	691.67	106.82	100.00
	1000	515.91	41.76	243.48
Naproxeno	700	775.00	188.64	147.06
	1000	565.91	87.91	243.48
Paracetamol	700	608.33	48.86	105.88
	1000	495.45	-42.86	260.87
Pantoprazol	700	783.33	88.64	317.65
	1000	450.00	15.93	256.52

Al centrarse en los resultados obtenidos por Bio S, puede observarse que a un potencial de 700 mV los medicamentos en los que se obtuvieron mayores incrementos de corriente fueron Pantoprazol, Naproxeno y Benzonatato con 783.33, 775, y 733% de incremento respectivamente, mientras que a un potencial de 1000mV los medicamentos que presentaron el mayor porcentaje de incremento de corriente fueron Loratadina, Naproxeno, e Hidroclorantiazida con 645.45, 564.91 y 527.27% de incremento respectivamente, como se observa en la Figura 23.



**Figura 23. Representación gráfica del incremento porcentual de corriente en Bio S**

Según la Tabla 10 Los porcentajes en peso de excipiente en Benzonatato, Hidroclorantiazida, Loratadina, Naproxeno y Pantoprazol son, 54.55, 75, 92.59, 28.57 y 76.47% respectivamente, siendo la Loratadina Pantoprazol y Naproxeno los medicamentos que presentan los mayores incrementos de corriente los que presentan el mayor porcentaje en peso de excipiente, lo que posiblemente sea este alto porcentaje en peso de excipiente lo que haga que presente dicha condición, siendo los medicamentos seleccionado para su evaluación en el proyecto.

### 7.2.3 Comparación de comportamiento electroquímico del bioelectrodo con los medicamentos elegido

#### 7.2.3.1 Benzonatato:

Al revisar el estado del arte referente a la eletroxidacion de este medicamento, no se encontró ningún reporte que indique su previa evaluación mediante este tipo de técnicas, por lo que los picos mostrados en los voltamperogramas en los que este se ve involucrado no se tiene certeza si estos se tratan de picos referentes a su



oxidación o a la oxidación de alguno de sus excipientes, algo que sustenta eso último es el hecho de que los picos que en este Voltamperograma se presentan (700 y 1000 mV) también son visibles en la gran mayoría de las evaluaciones (Figura 24).

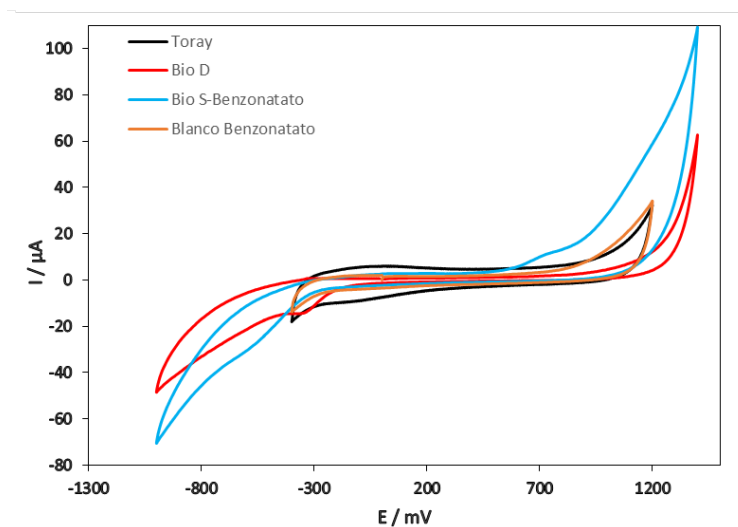


Figura 24. Voltamperograma cíclico de Bio S en presencia de Benzonatato.

### 7.2.3.2 Celecoxib (Celebrex):

Los picos de corriente relacionados a la degradación del Celebrex corresponden a picos catódicos a los -1100 mV (Figura 25 a)), esto lo demuestra Rkan<sup>77</sup>, en un artículo enfocado a la determinación de Celebrex sobre electrodos modificados con nanoparticulas de oro. Contrario a lo observado en los voltamperogramas Bio I y Bio S más Celebrex, los picos observados son picos anódicos, a los 700 y 1000 mV (Figura 25 b)), mientras que a el voltaje reportado por Rkan no se logra observar algún pico que indique la reducción del medicamento, esto refuerza la idea de que estos picos observados estén relacionados con la oxidación de alguno de los excipientes que acompañan al fármaco.

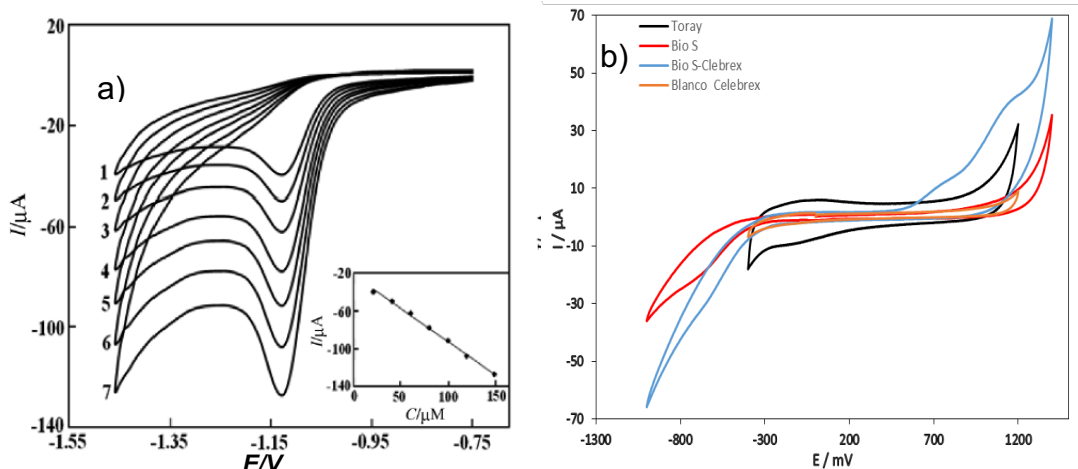
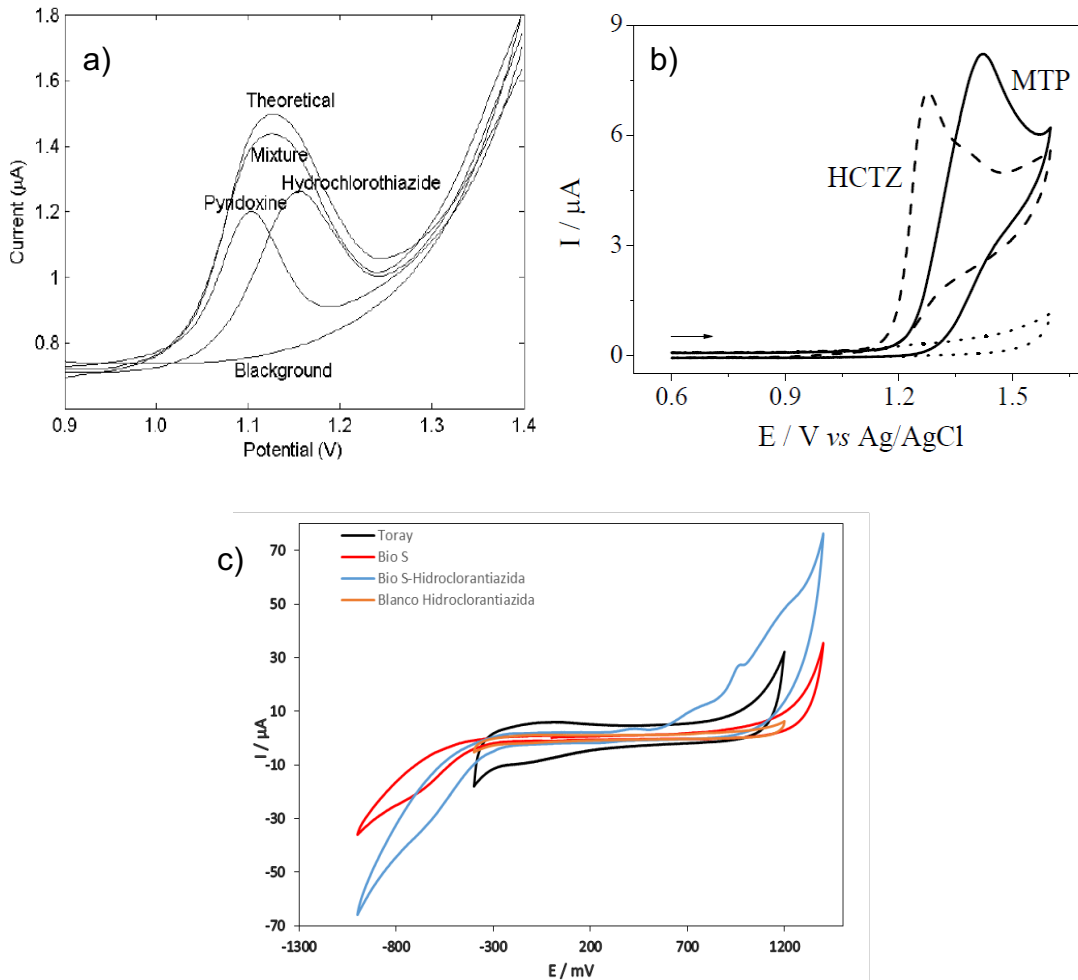


Figura 25. Voltamperogramas en presencia de Celecoxib a) Nanopartículas de oro<sup>77</sup>, b) Bio S

### 7.2.3.3 Hidroclorantiazida:

Los trabajos realizados por Yue Zhang<sup>78</sup> y Carlos Rossi<sup>79</sup>, muestran que la Hidroclorantiazida presenta un pico de oxidación cerca de los 1110 mV y 1280 mV (Figura 26 a) y b)), en la Figura 26 c se muestra un pico a este voltaje, sin embargo es el mismo pico que se presenta junto con el otro pico a los 700 mV y es atribuible a la oxidación de excipientes, sin embargo se presenta un tercer pico a los 980mV, este pico se podría atribuir a la oxidación de la Hidroclorantiazida, a pesar de verse desplazado de 130 a 200 mV con respecto a los valores reportados por la bibliografía.

Alguna de las razones de que el pico se moviera de potencial podría obedecer a la diferencia de pH entre ambas evaluaciones, mientras que en el trabajo de Yue Zhang los experimentos se llevaron a cabo a un pH de 3.4, y los de Carlos Rossi a un pH de 4 en un buffer de lactato, los experimentos realizados para esta evaluación se llevaron a cabo a un pH de 7, esto aunado a el cambio de electrodo de trabajo, de un electrodo de carbón a un bioelectrodo pudieron ser las razones de este desplazamiento en el potencial de oxidación.



**Figura 26. Picos de oxidación de la Hidroclorantiazida y metoprolol a) carbón a pH 3.4 <sup>78</sup>, b) Carlos Rossi<sup>79</sup>, c) Bio S**

### 7.2.3.4 Metroprolol:

Siendo el metoprolol y la Hidroclorantiazida, medicamentos recetados principalmente para el control de la presión arterial Carlos Rossi<sup>79</sup> (Figuras 26 b) y Duan Hong<sup>80</sup> (Figura 27 a)), como en el caso anterior también se presenta una discrepancia entre los valores a los cuales se presentan los picos de oxidación siendo de 1420 mV y 1100mV respectivamente. En la Figura 27 b se muestran los voltamperogramas obtenidos con el bioelectrodo Bio S, donde se aprecian además de los picos de 700 y 1000 mV un tercer pico, cerca del pico de evolución de oxígeno a 1320 mV, siendo un valor cercano al reportado por Carlos Rossi, este

desplazamiento en el potencial al igual que con la Hidroclorantiazida puede deberse a variaciones en las condiciones experimentales, como pH y el electrodo de trabajo que se implementó, por lo que es muy factible que este pico se deba a la oxidación del metroprolol, esto refuerza la idea de que los picos de 700 y 1000 mV se tratan de los picos de oxidación de los excipientes.

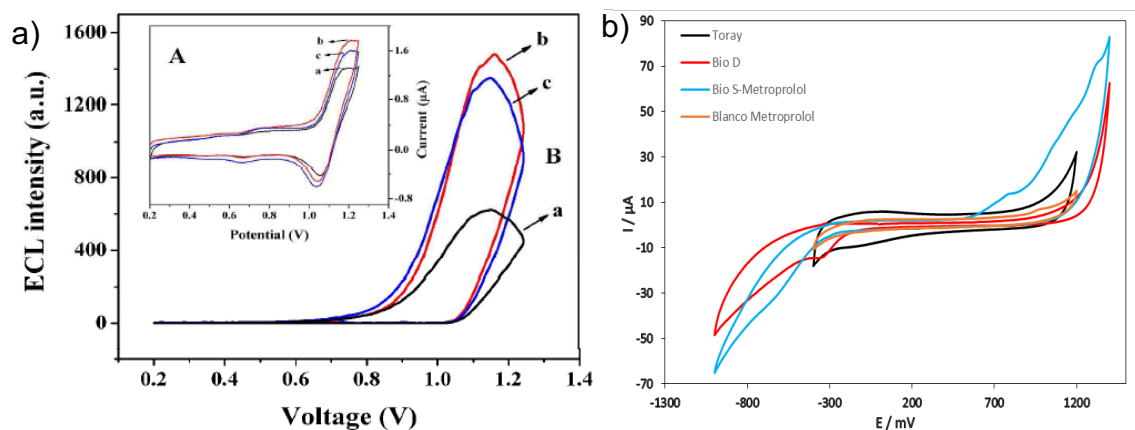


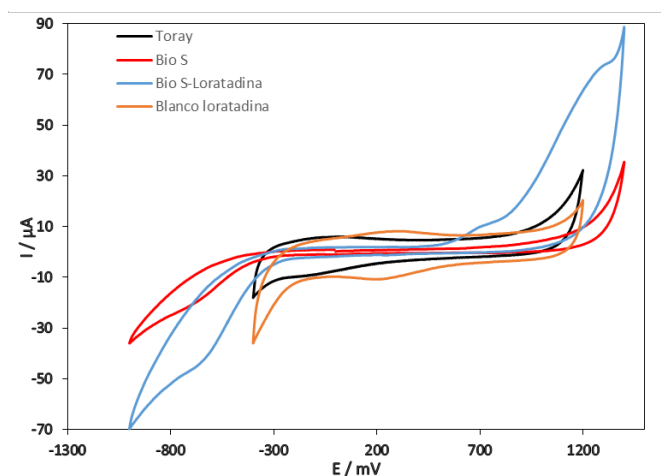
Figura 27. Picos de oxidación de metroprolol a) Duan Hong<sup>80</sup>, b) Bio S

### 7.2.3.5 Loratadina:

Eiselea Pires<sup>81</sup> determino Loratadina usando voltamperometria de onda cuadrada, en donde inicialmente al usar un electrodo de carbón vítreo no se encontró algún pico que mostrara la oxidación del medicamento, posteriormente usó un electrodo de diamante doptado con Boro donde logró observar un pico de oxidación a 1670 mV, sin embargo en los voltamperogramas de la Figura 28 solo se puede apreciar los picos de 700 y 1000mV que se atribuyen a la oxidación de excipientes, así como incremento considerable en la corriente a los 1300mV, este incremento podría ser atribuido a la oxidación de la Loratadina.

Esta discrepancia en los picos de oxidación mostrados por Pires y observado en este proyecto puede obseder a diferentes razones, la principal es el cambio de electrodos, ya que la Loratadina se muestra inerte ante el carbón es necesario implementar otro tipo de electrodo para obtener una respuesta, o en este caso modificar el electrodo con una biopelícula, la cual podrá oxidar la Loratadina y

obtener una corriente como resultado de ello, sin embargo en este caso particular, los comprimidos muestran tener un porcentaje en peso de excipientes ( 90 %) lo que sugiere que el pico no sea directamente resultado de la degradación del medicamento, sino una combinación de la corriente de oxidación del excipiente y medicamento.



**Figura 28. Voltamperograma cíclico de Bio S en presencia de Loratadina.**

### 7.2.3.6 Naproxeno:

Soltani<sup>82</sup> reporta un pico de oxidación de 932 mV para el naproxeno a un pH de 6 (Figura 29 a)), sin embargo en los voltamperogramas de la Figura 29 b) se observan los picos de 700 y 1000 mV, con un incremento considerable de 1000 mV, por otro lado este medicamento presenta porcentaje en peso de excipiente con menos de un 30%, por lo que este considerado incremento en las corrientes del pico a 1000mV se trate al igual que en el caso anterior una combinación de las corrientes resultantes de la oxidación del medicamento como de los excipientes.

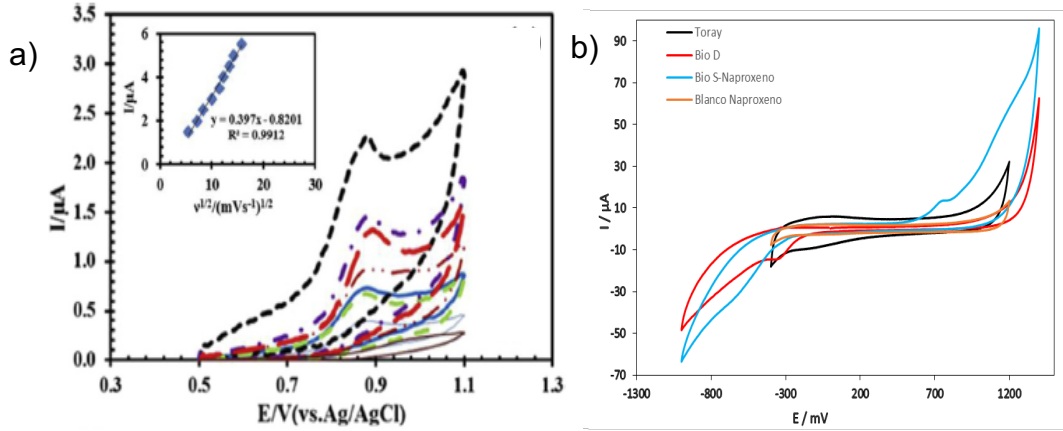


Figura 29. Voltamperometria cíclica en presencia de Naproxeno a) Soltani<sup>82</sup>, b) Bio S

### 7.2.3.8 Paracetamol:

Khoshhesab<sup>83</sup>, reporta un potencial de oxidación para el paracetamol que fluctúa entre los 1060 y 1440 mV dependiendo del pH, En la Figura 30 y al igual que en los otros casos se tiene la presencia de los picos a 700 y 1000 mV, con un incremento marcado en el pico de los 1000 mV cercano a uno de los valores reportados, sin embargo, el paracetamol es la formulación que presenta el menor porcentaje en peso de excipientes (solo un 10%),.

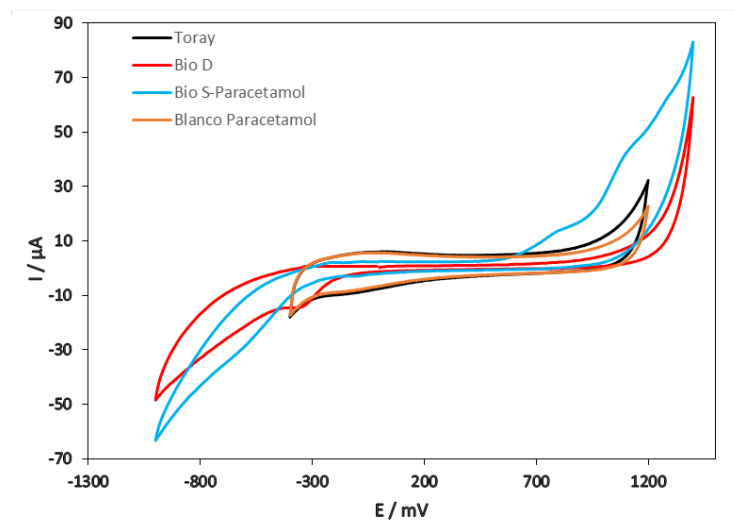
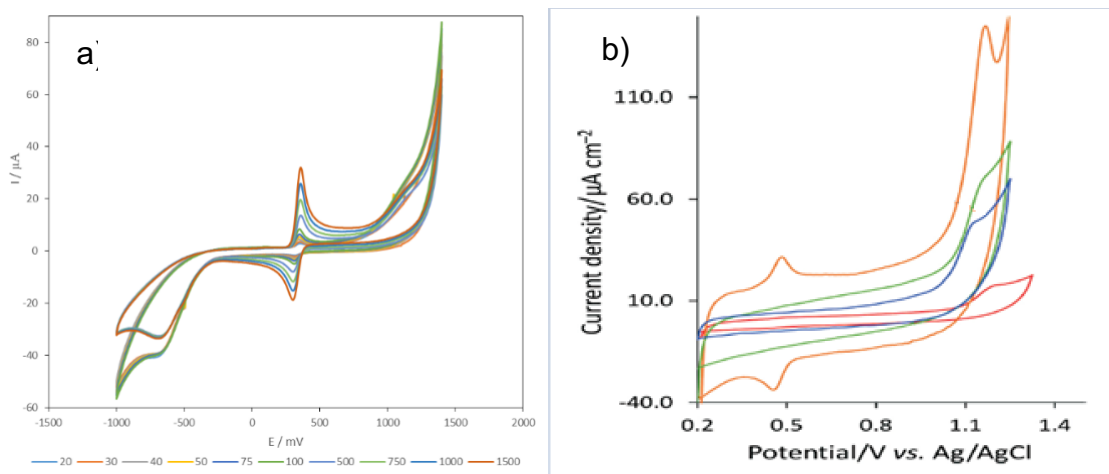


Figura 30. Voltamperometria cíclica en presencia de Paracetamol

### 7.2.3.8 Pantoprazol:

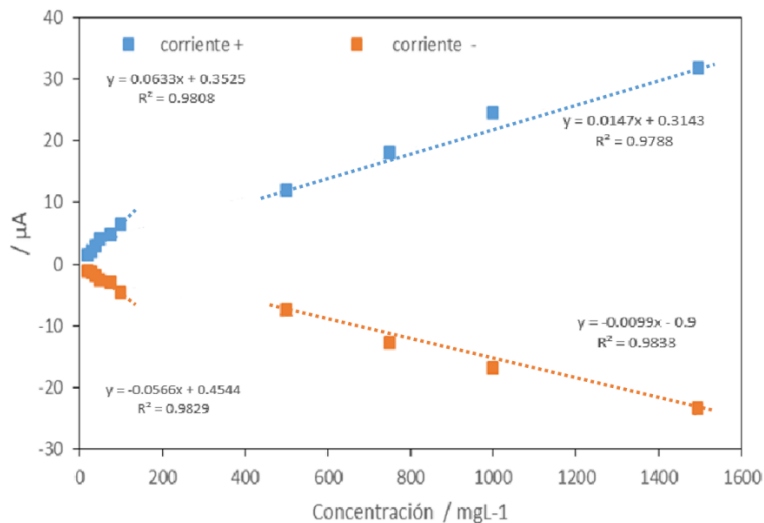
En la Figura 31 a, se muestran los voltamperogramas obtenidos del Pantoprazol a diferentes concentraciones, observando picos a 700 y 1000 mV que se atribuyen a los excipientes, también presenta un par redox entre los 300 y 380 mV, el mismo comportamiento fue reportado por Hadi<sup>84</sup> (Figura 31 b), donde el par redox es atribuido a la oxidación y reducción del Pantoprazol, en dicho trabajo también se demuestra que el Pantoprazol tiene un pico de oxidación cerca de los 1200 mV, el tercer pico de oxidación mostrado a 1200 podría asociarse a contribuciones de la oxidación tanto del medicamento como de los excipientes, siendo difícil definir cuál de los dos tiene una mayor contribución ya que el Pantoprazol tiene un porcentaje en peso de excipiente superior al 70%.



**Figura 31. Voltamperometria cíclica donde se muestran los picos de oxidación y reducción del Pantoprazol a ) Bio S, b) Hadi<sup>84</sup>.**

Adicionalmente fue posible visualizar que Bio S presentó sensibilidad al cambio en la concentración de dicho medicamento, lo que permitió graficar las corrientes observando una relación lineal entre la concentración y la corriente (Figura 32), donde se puede observar la presencia de dos zonas lineares, una para bajas concentraciones y una segunda para concentraciones altas, lo que abre la posibilidad de crear un biosensor para la detección de este medicamento en aguas

superficiales o tratadas, o bien implementar el par redox y el electrodo Bio S como una de las mitades de una celda de flujo redox biológica, ya que la distancia entre picos es de aproximadamente 80mV indicando un reacción parcialmente reversible.



**Figura 32. Relación corriente concentración de Pantoprazol**

### 7.2.3.9 Determinación de la composición de los excipientes

Según las fichas técnicas de los diferentes medicamentos analizados en esta sección: Benzonatato<sup>85</sup>, Celecoxib<sup>86</sup>, Hidroclorantiazida<sup>87</sup>, Loratadina<sup>88</sup>, Metroprolol<sup>89</sup>, Naproxeno<sup>90</sup>, Paracetamol<sup>91</sup>, Pantoprazol<sup>92</sup>, los excipientes más comúnmente implementados en sus formulaciones son Lactosa, Celulosa microcristalina y Almidón.

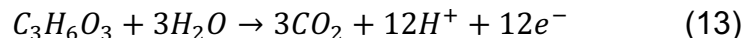
La literatura muestra que los picos de oxidación del almidón pueden variar dependiendo del origen del almidón (Maíz papa, Tapioca, trigo o plátano)<sup>93</sup> siendo un par redox situado entre -0.18V y -0.52<sup>94</sup>, uno de sus picos característicos, sin embargo, los almidones de maíz y tapioca también presentan picos de oxidación cerca de los 700 mv<sup>93</sup> como los observados en las voltamperometrías mostrados en la Figura 22, existiendo la posibilidad de que alguno de estos excipientes sean los implementados en las formulaciones de los medicamentos.



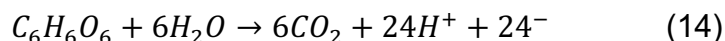
La electrooxidación de celulosa (sobre electrodos de oro) empieza a los 0.1V<sup>95</sup>, sin embargo también se muestra que se trata de un proceso lento por lo que al implementar bacterias como biocatalizador el proceso se vuelva aún más lento por lo que es posible que los voltamperogramas no aparezcan los picos ya que solo en los voltamperogramas de Loratadina se muestran picos de oxidación en voltajes cercanos a los 0.2mV pudiéndose tratar del pico de oxidación de la celulosa desplazado por las diferencias entre condiciones experimentales.

Los picos de oxidación lactosa sobre electrodos de platino se observan cerca de los 750 mV y 1100 mV<sup>96</sup>, los cuales concuerdan con uno de los picos observados en la mayoría de los voltamperogramas, por lo que existe una alta probabilidad de que el excipiente principal se trata de lactosa, en combinación de pequeñas cantidades de los otros almidón y/o celulosa en diferentes concentraciones.

La ecuación 13 podría representar la media reacción resultante de la oxidación de la lactosa.



En la ecuación 14 se muestra la media reacción y el número de electrones resultantes de la oxidación de glucosa y celulosa (tomando a la celulosa como un polímero cuyo monómero principal es la celulosa<sup>97</sup>)

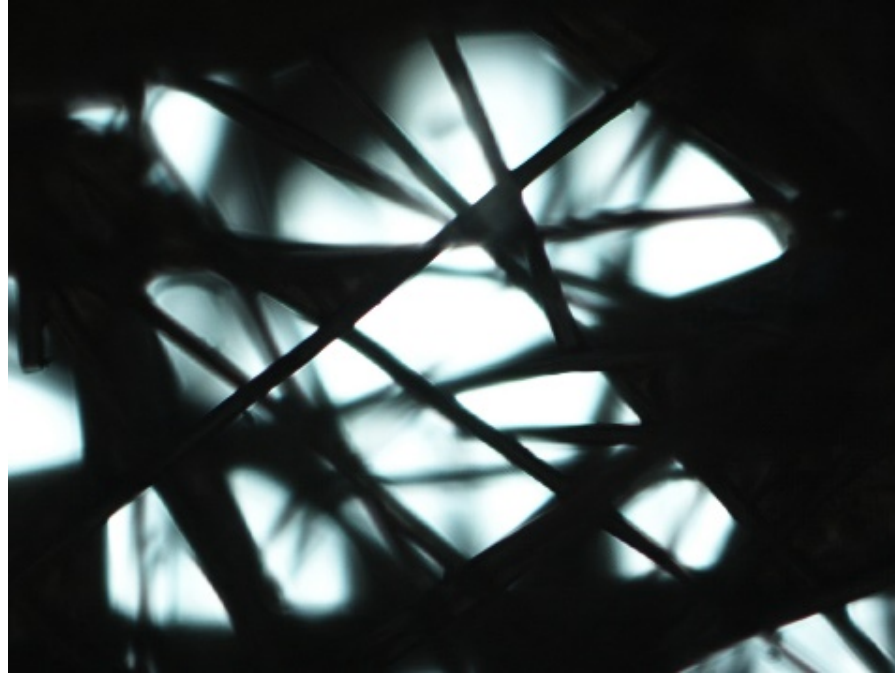


### **7.3 Análisis de formación de biopelículas por micrografías.**

La formación de la biopelícula fue analizada para cada una de los electrodos utilizados, que permitiera observar los cambios ocurridos sobre la superficie de éstos después de un periodo de incubación y formación de la biopelícula.

En la Figura 33 se muestran las Micrografías realizadas al papel Toray (blanco), en donde se pueden observar a las fibras de carbón, sin nada sobre su superficie, salvo en algunas partes en donde se puede distinguir una pequeña membrana, muy

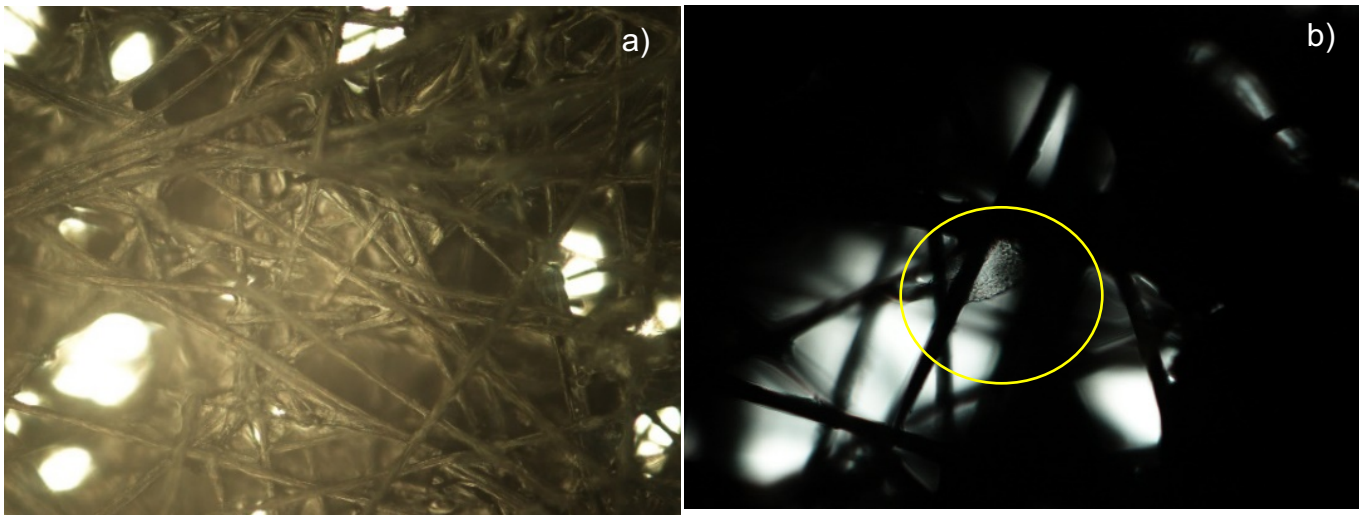
probablemente residuos de la capa hidrofóbica de teflón que el papel Toray suele tener en su superficie (En Anexo V se puede observar la serie de micrografías completa).



**Figura 33. Micrografías del electrodo de papel Toray 20X.**

En la Figura 34, se muestran las micrografías realizadas al electrodo Bio D, donde se puede observar algunas estructuras filamentosas, así como conglomerados de estructuras esféricas, sin embargo estas no se observan sobre la superficie de las fibras de carbón, si no entre las fibras, donde se distinguen algunas estructuras sobre lo que parece ser residuos de la capa de teflón del papel Toray, también se puede apreciar con más detalle las fibras de carbón, sobre las cuales no se distinguen alguna adición o depósito de algún tipo, esto debido a que las membranas no se observan en la totalidad del electrodo, solo en zonas puntuales, por lo que la biopelícula no se formó uniformemente en la superficie del electrodo, finalmente en la Figura 34 b), es posible observar con más detalle una de las estructuras presentes entre las fibras, compuesta principalmente de una pequeña membrana que se extiende entre algunas de las fibras sobre la cual se puede

apreciar algunas estructuras redondas las cuales probablemente sean los microorganismos (La micrografías completas se observan en el ANEXO VI)..

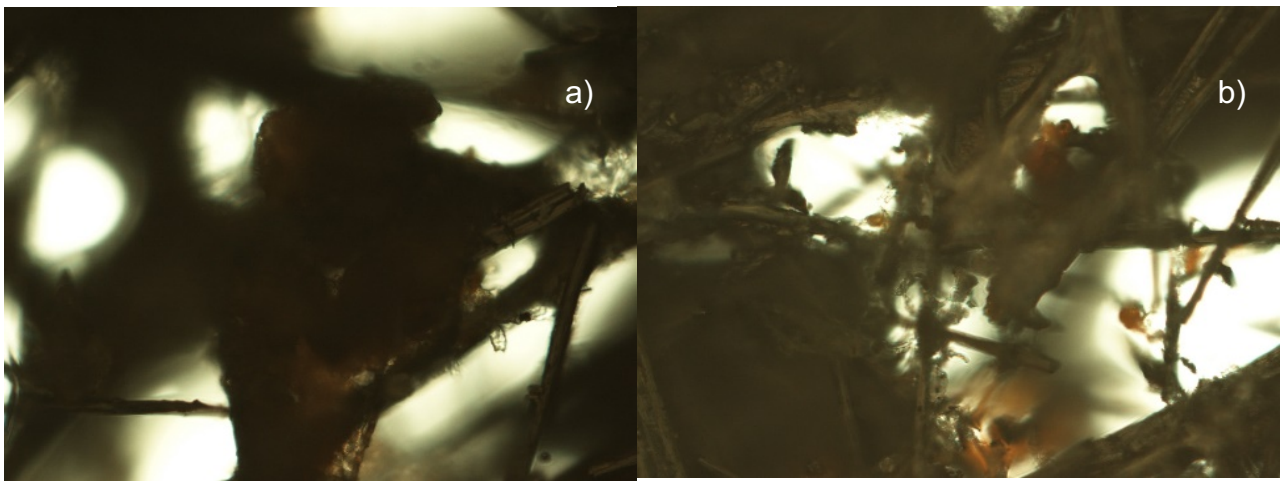


**Figura 34. Micrografías al bioelectrodo Bio D, a) aumento 20X, B) Aumento 40X.**

La Figura 35 muestra las micrografías realizadas al bioelectrodo Bio I, donde no se aprecia alguna adhesión a las fibras de carbón, sin embargo si es posible distinguir membranas interfibras, se observan zonas más oscuras posiblemente asociadas a la presencia de microorganismos sobre estas, e incluso se presentan círculos rojos entre las membranas y las fibras del papel Toray.

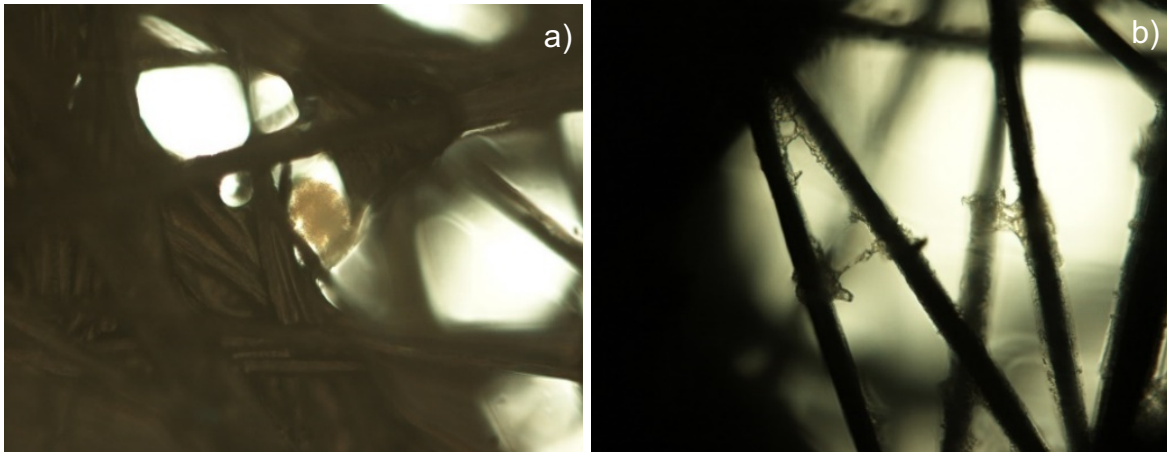
También se puede observar algunas de las estructuras formadas por los microorganismos, tendiendo forma y tamaños (probablemente cada una perteneciente a un diferente tipo de microorganismo) siendo las estructuras de color rojo las que crecen entre las fibras y las estructuras negras y pequeñas las que crecen sobre las fibras de carbón (La micrografías completas se observan en el ANEXO VII).

El bioelectrodo muestra el desarrollo de una biopelícula grande, lo que sugiere sea la razón de la alta resistencia en comparación con el resto de los bioelectrodos evaluados, ya que todas estas sustancias extramembranales segregadas para formar esta biopelícula pueden no ser conductoras, aumentando así la resistencia del electrodo. Lo que demuestra que si bien este inóculo presenta una gran actividad microbiana, la naturaleza de su biopelícula incrementa considerablemente la resistencia del electrodo, dejando de ser factible su implementación en celdas de combustible ya que esta resistencia aumentaría las pérdidas óhmicas del sistema.



**Figura 35. Micrografías del bioelectrodo Bio I a) aumento 40X, b) aumento 40X**

La Figura 36 muestra las Micrografías realizadas Bio S, donde se puede observar una capa transparente que se forma alrededor de las fibras de carbón y en menor medida la formación de una membrana entre fibras en zonas localizadas, también pueden observarse algunas estructuras esféricas grumosas, las cuales podrían tratarse de conglomerados bacterianos. Se puede observar como la capa transparente sobre las fibras posee un grosor uniforme a lo largo de las fibras, dentro de la cual pueden observarse pequeños puntos negros alargados, a su vez en las burbujas puede observarse sobre las cuales se tiene crecimiento bacteriano (Las micrografías completas se observan en el ANEXO VIII).



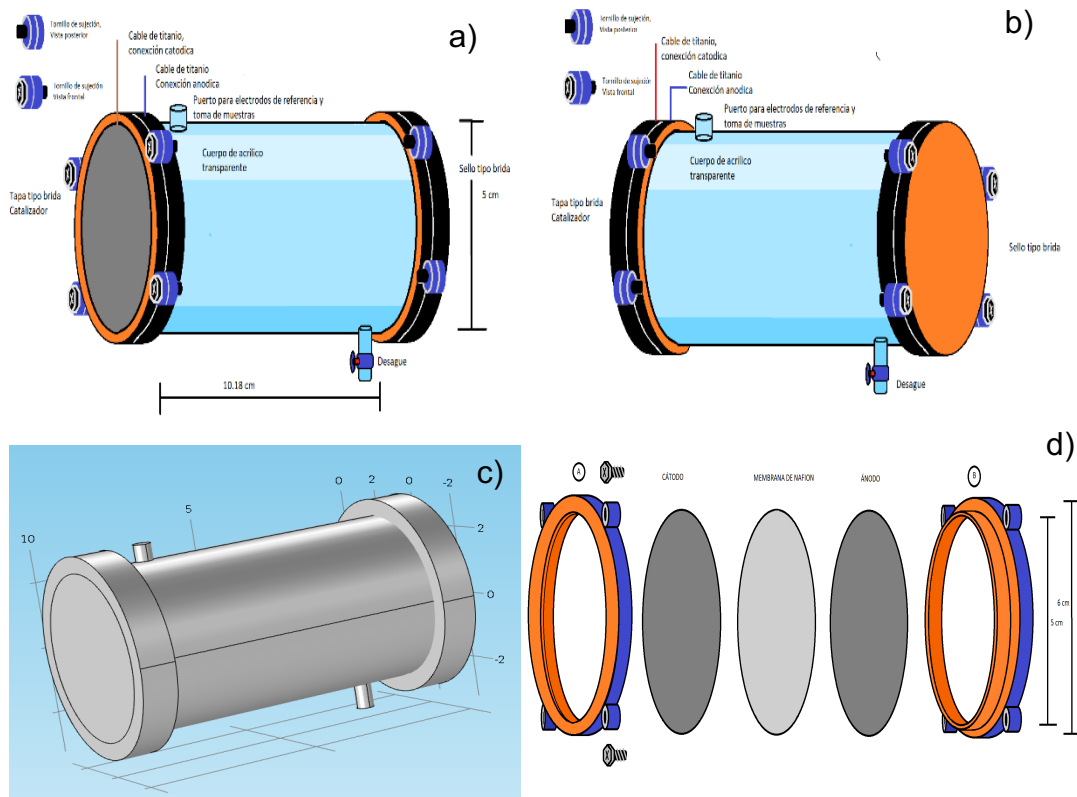
**Figura 36. Micrografías de Bio S. a) 60X, b) 60X,**

La presencia de una membrana intrafibril como en Bio I e Bio D, así como presentar un crecimiento sobre las fibras podrían ser uno de los motivos por los cuales Bio S presenta un mejor desempeño en la obtención de corriente, ya que como explica Logan<sup>38</sup>, existen tres principales mecanismos de transporte de electrones en bacterias exoelectrogenicas, nanocables, superficies conductoras y mediadores de electrones, para los primeros dos casos es necesario que las bacterias se presenten sobre la superficie del electrodo para poder transferir la carga, mientras que con el uso de mediadores no es necesario que las bacterias se encuentren sobre la superficie del electrodo, es por ello que al presentar un crecimiento sobre la superficie de las fibras de carbón se propicia el intercambio de electrones por nanocables o superficies conductoras, un mecanismo más directo y con menos interferencias, esto pone a Bio S como el mejor inoculo para el proyecto.

#### **7.4 Diseño de celdas**

El primer diseño presentado se basó en el uso de un tubo de acrílico de 2 in (5 cm) de diámetro, como base de la CCM, sellando un extremo con un sello tipo brida y un empaque, mientras que por el otro extremo se colocó otro sello tipo brida con el centro vacío de forma que hay se pueda colocar el sistema MEA, sellando herméticamente el sistema. Por la parte superior se coloca un pequeño tubo que sirve como puerto de muestreo o abastecimiento, así como puerto auxiliar para la

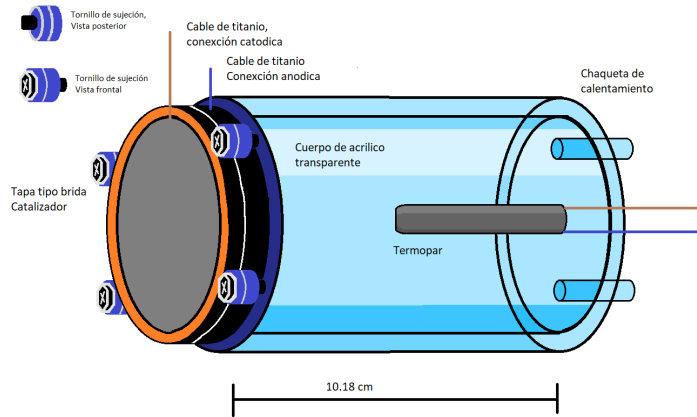
colocación de un electrodo de referencia, y en el fondo se coloca otro tubo que sirve como desagüe del sistema. Los cables colectores de corriente salen de las dos partes de los sellos tipo brida. La Figura 37 muestra el prototipo 1.



**Figura 37. Prototipo 2, a) Vista frontal de la CCM b) Vista posterior de la CCM c) Modelo 3D de la CCM d) Ensamble del tapón brida con el sistema MEA.**

Este diseño sirvió de base para la siguiente iteración del diseño, ya que se deseaba controlar la temperatura del sistema, se agregó una chaqueta de calefacción por la cual circulara agua caliente, para ello se realizaron modificaciones para poder reubicar el termopar en la celda, así como poder integrar la celda en el sistema de calefacción, moviendo las entradas y salidas del sistema así como el termopar a la parte trasera de la celda, eliminando así el sello brida trasero y sellando esta parte con una tapa de acrílico y resina epoxica (Figura 38).





**Figura 38. Modificación del prototipo de celda agregando una chaqueta de calentamiento.**

La chaqueta de calentamiento por fines prácticos se cambió por un módulo rectangular de 28X10X9 cm, que soportaría 3 celdas al mismo tiempo, lo que permitiría que estas tres celdas compartan condiciones de temperatura con un mínimo requerimiento de equipo obteniendo como prototipo final el mostrado en la Figura 39.



**Figura 39. Prototipo final de la CCM**

### **7.4.1 Análisis de flujos y temperaturas 2D a partir de la Simulación en Comsol**

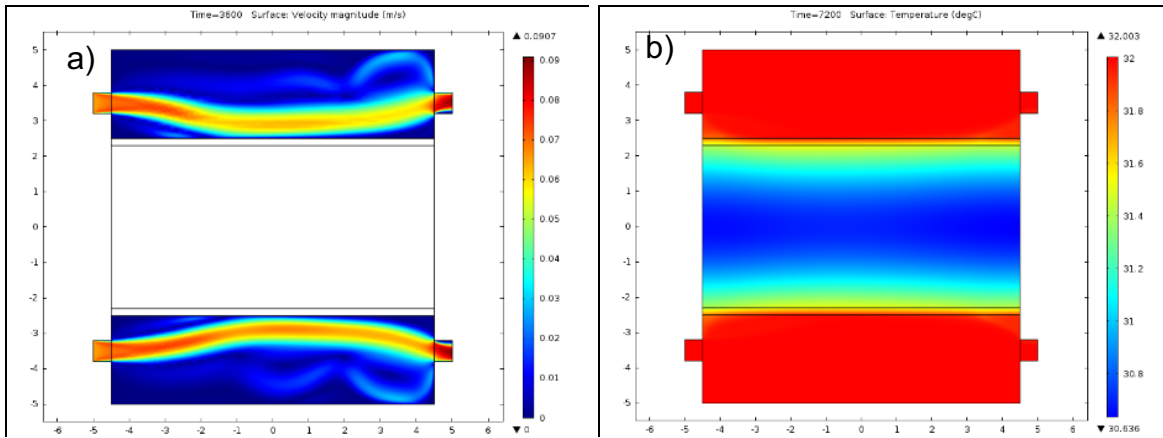
Como se mencionó anteriormente la simulación en 2D se basó en la modificación de la velocidad de flujo, temperatura y dirección del flujo para determinar las mejores condiciones para el sistema de calefacción.

#### **7.4.1.1 Comparación de dirección de flujos**

La dirección de flujo en la parte superior e inferior de la celda influyen considerablemente en los perfiles de temperatura dentro de la celda, creando diferentes perfiles de temperatura dependiente del tipo de flujo implementado, como se observa en la Figura 40 (los perfiles completos se muestran en el ANEXO IX), se puede observar como un flujo paralelo genera un perfil de temperatura que cambia a lo largo de la celda, creando zonas más frías y zonas más calientes, lo que crearía interferencias tanto con el bioánodo como con el termopar, de forma que a la entrada del flujo de calefacción se tendría una zona más caliente que del lado de la salida del flujo.

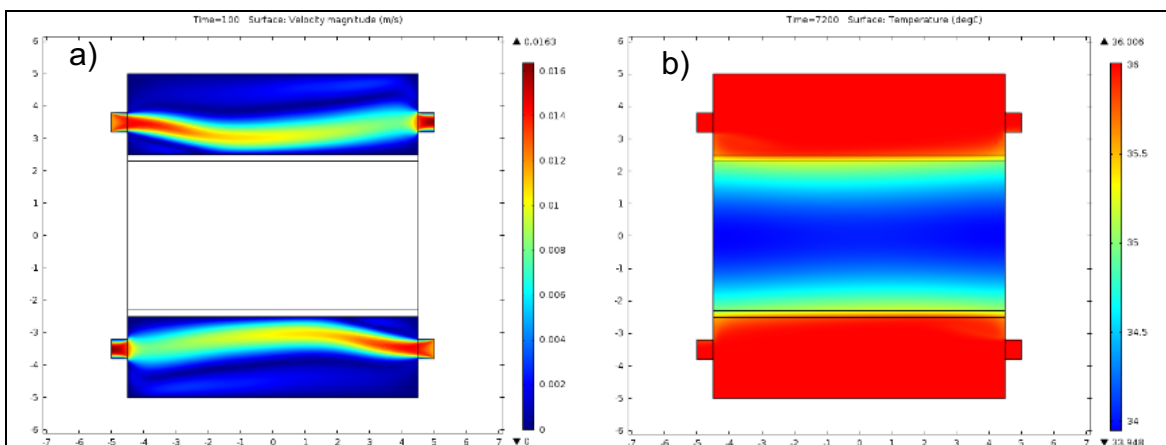
El principal problema con esta configuración de flujo es que si el biocátodo se coloca en la entrada del flujo y el termopar al final, cuando las temperaturas se empiezan a elevar el termopar captaría temperaturas inferiores a las que se tienen en el biocátodo, por lo que el control no sería el adecuado, incrementando demasiado la temperatura del sistema lo que perjudicaría a las bacterias, mientras si el biocátodo y termopar se colocaran en sentidos contrarios se tendría un efecto con temperaturas mayores en el biocátodo a las que se registran en el termopar.





**Figura 40. Calefacción en flujo paralelo, a) perfil de flujo, b) perfil de temperatura**

Al implementar una entrada de flujo de tipo cruzado (Figura 41, los perfiles completos se muestran en el Anexo X), los perfiles de temperatura cambian considerablemente en comparación con los flujos en paralelo, obteniendo perfiles de temperaturas uniformes a lo largo de la celda, con temperaturas iguales en la entrada como en la salida de la celda, por lo que ya no se tienen los problemas de posicionamiento del bioánodo y el termopar, facilitando así el control de temperaturas al interior de las celdas. Por lo que se decidió implementar un flujo cruzado en el módulo de calefacción de las celdas.



**Figura 41. Calefacción en flujo cruzado, a) perfil de flujo, b) perfil de temperatura**

### 7.4.1.2 Análisis de temperaturas:

Dado que como inóculo se empleó suelo común, en este se espera que las bacterias presentes sean de carácter mesófilo<sup>98</sup>, por lo que el rango de temperaturas de crecimiento está entre los 20 y 45 °C, con temperaturas óptimas entre los 25 y 40 °C, es por ello que las temperaturas de evaluación que se simularon fueron 25, 32 y 36 °C. En la figura 42 se observan las simulaciones de estas temperaturas a 3600s (simulaciones a 300s, 900s, 1800s y 3600s en el Anexo XI), con lo cual se puede determinar con que temperaturas se obtienen tiempos de respuesta menores, lo que permitiría tener un mejor control de la temperatura interna de las celdas.

En la Figura 42 se puede observar como a medida que la temperatura los tiempos de respuesta en que se llega a la temperatura deseada o cercana a ella disminuye, estabilizándose a los 15 minutos a las temperaturas de 25 y 32°C, a 32 °C las temperaturas se estabilizan hasta los 3600s, dada la velocidad de respuesta y ser la temperatura más cercana a la temperatura óptima de una gran variedad de microorganismos<sup>98</sup>, por lo que se determinó implementar una temperatura de calefacción en las celdas de 32°C

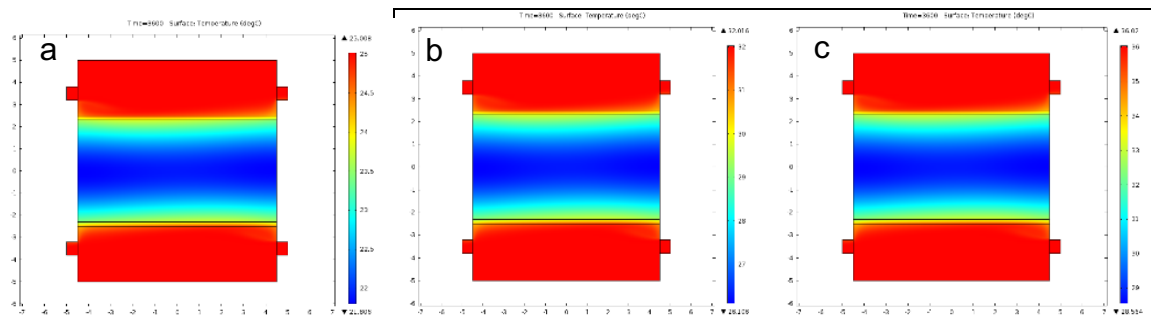


Figura 42. Perfiles de temperatura a contraflujo a diferentes tiempos y temperatura, a) 25°C, b) 32°C, c) 36°C

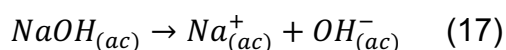
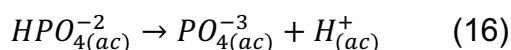
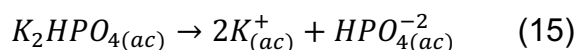
## 7.5 Condiciones de operación y optimización del diseño

### 7.5.1 Optimización del MEA

#### 7.5.1.1 Impedancia de soportes del MEA

En la Figura 43 se observan los diagramas de Nyquist y en la Figura 44 los diagramas de Bode de los soportes para el MEA utilizando la celda prototipo 1 (Figuras 14 y 19), exceptuando el soporte 1 (sin soporte) ya que de sus impedancias no se obtuvo información útil, mientras que en la Tabla 12 los valores de cada elemento de los circuitos equivalentes. Analizando el resto de los soportes por separado se puede observar que los cuatro diagramas de Nyquist se componen de un semicírculo casi completo cortándose al principio y al final conectándose con una recta.

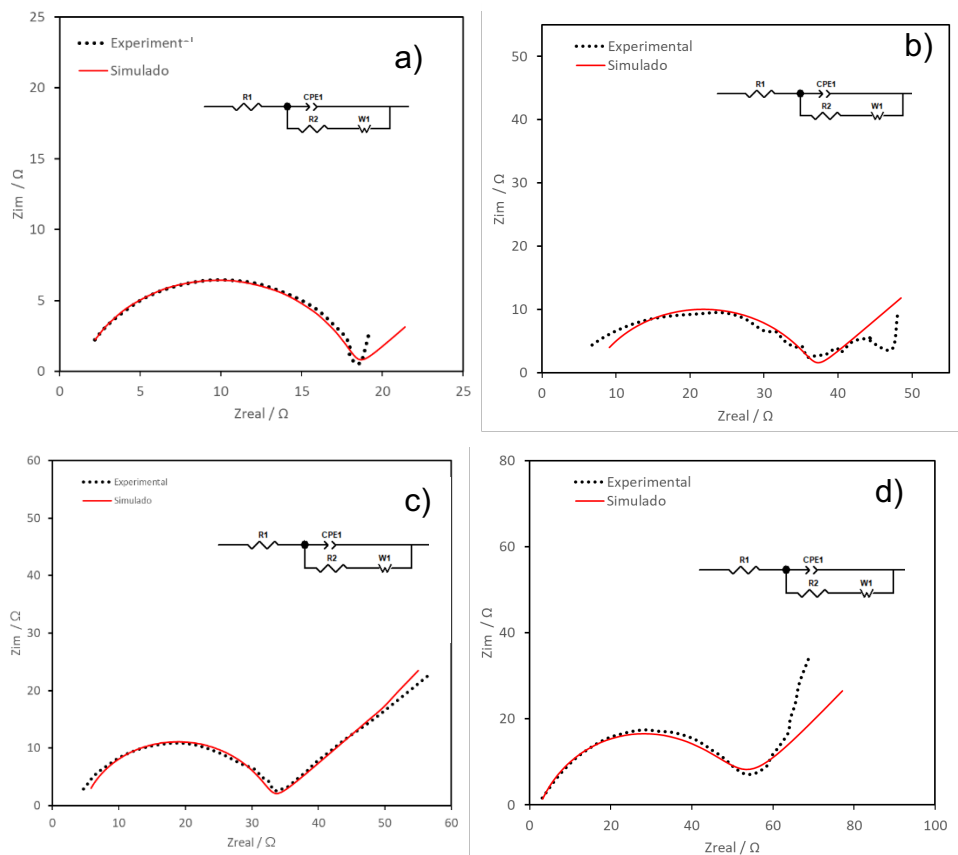
Israel Epelboin y Michel Keddam sugieren que de acuerdo a las impedancias presentadas, solo se presenta el fenómeno de difusión (En este caso solo se tienen el buffer de fosfatos), ocurre una descarga polarográfica de los iones presentes en el sistema de acuerdo a las ecuaciones 15, 16 y 17 presentadas<sup>99</sup>.



En este sistema la presencia de electrolitos de soporte (NaOH y K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) permite descartar todo acoplamiento entre la carga de la doble capa y la transferencia de carga. Por la misma razón, la migración de carga se debe únicamente a la difusión convectiva. Con lo que se concluyen que la capacitancia de la doble capa C<sub>d</sub> en paralelo con R<sub>t</sub> pueden generar una parte circular entre los 40 y 0.2 Hz como la que se observa en la Figura 43 b) y 43 d), es por ello que la impedancia de difusión Z<sub>d</sub> y la resistencia de transferencia R<sub>t</sub> tienen valores comparables<sup>99</sup>.

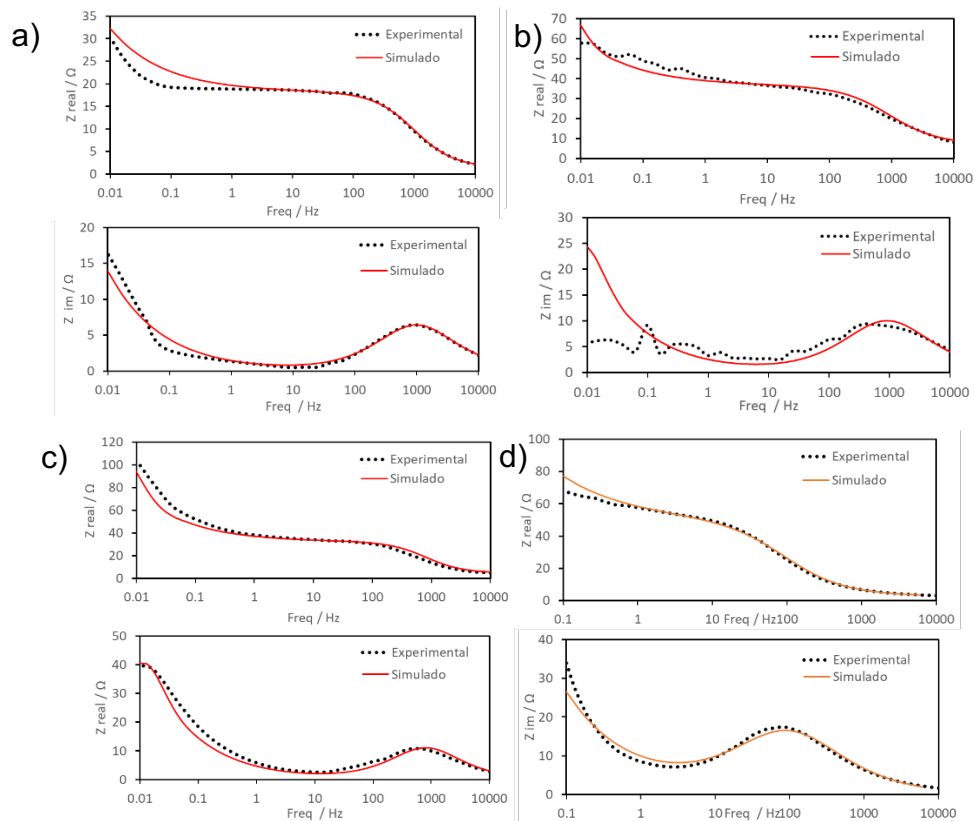
De los diagramas de Nyquist de la Figura 43, se obtuvo fácilmente los valores de  $R_1$ , correspondiente a  $R_{ohm}$ , esta resistencia representa a todas las pérdidas óhmicas del sistema por contacto eléctrico, resistencia de la solución y distancia entre los componentes, siendo la celda 2 (soporte con perforaciones pequeñas) el que presenta un menor valor de  $R_1$  ( $1.2 \Omega$ ) por lo que este soporte es el que se decidió implementar en las celdas.

La Figura 44 muestra los diagramas de Bode, donde se aprecia dos pendientes y una cresta, lo que indicaría la presencia dos resistencias y un capacitor, de los semicírculos con una recta que corta el semicírculo en un ángulo de  $45^\circ$  observados en la Figura 43, se sugiere el circuito equivalente de Randles, el cual se muestra en la esquina superior derecha de la Figura 43.



**Figura 43. Diagramas de Nyquist de los diferentes soportes del MEA, a) perforaciones pequeñas, b) Soporte tipo X, c) perforaciones grandes, d) pilares**

La Figura 44, muestra los diagramas de Bode, donde se aprecia dos pendientes y una cresta, lo que indicaría la presencia dos resistencias y un capacitor, de los semicírculos con una recta que corta el semicírculo en un ángulo de  $45^\circ$  observados en la Figura 43, se sugiere el circuito equivalente de Randles, el cual se muestra en la esquina superior derecha de la Figura 43.

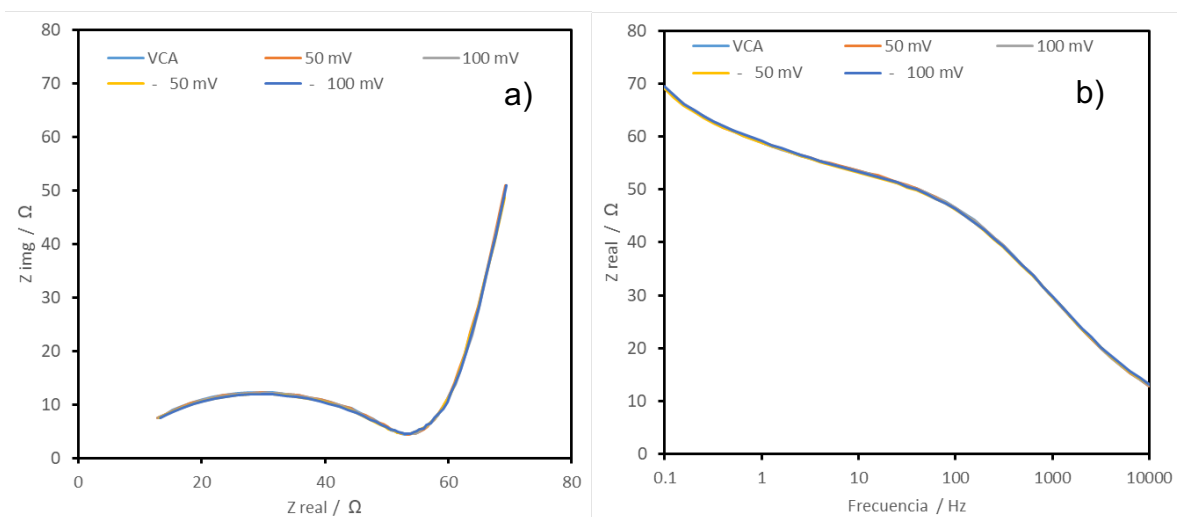


**Figura 44. Diagramas de Bode de los diferentes soportes del MEA a) perforaciones pequeñas, b) Soporte tipo X, c) perforaciones grandes, d) pilares**

**Tabla 12.** Simulación de espectros para los soportes.

Soporte	R1 ( $\Omega$ )	R2 ( $\Omega$ )	CPE1		W
			Cd ( $\mu$ F)	n	
Perforaciones pequeñas	1.2	17.1	45	0.82	3.5
Tipo X	3	30.368	80	0.745	14.6
Perforaciones grandes	2.7	34.94	151.8	0.622	7.909
Pilare	2.6	52	65	0.74	17.6

Por ello el semicírculo observado en estos análisis es atribuido a la presencia del buffer de fosfatos y la difusión de los iones del mismo, y no a la presencia de alguna reacción redox, apoyando esta afirmación se presenta la Figura 45, en donde se presentan la impedancia de celda completa del soporte de pilares, en el prototipo final a diferentes voltajes de referencia, (VCA, -50mV, -100 mV, 50 mV y 100 mV respecto al VCA) en donde se puede observar que el semicírculo no se modifica, como se esperaría cuando se trata con impedancias de procesos faradáicos correspondientes a reacciones redox, por la alteración en la velocidad de reacción y por ende en la transferencia de carga en el sistema<sup>100</sup>



**Figura 45.** Impedancia de soporte en barras a diferentes potenciales a) Diagramas de Nyquist, b) Diagramas de Bode.

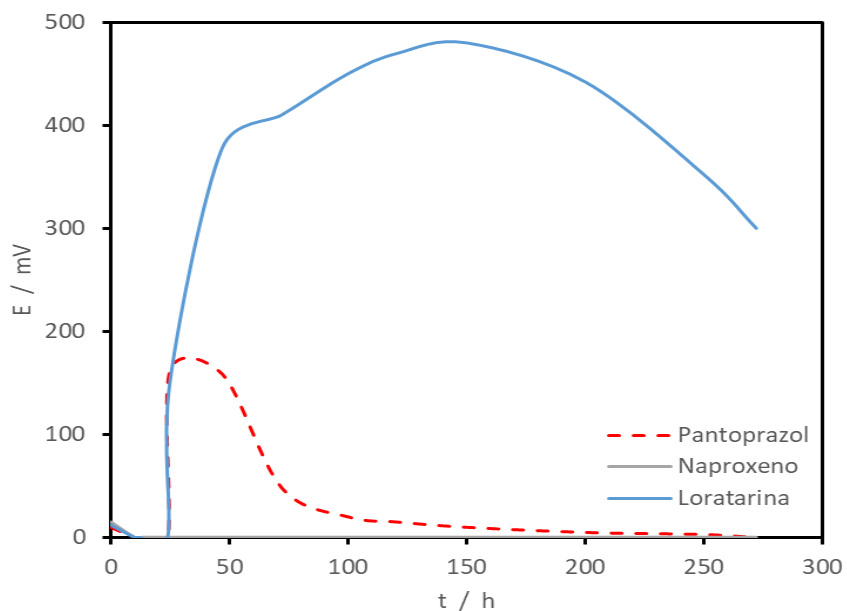
### **7.5.1.2 Evaluación del ciclo de degradación del excipiente de los medicamentos evaluados**

Usando las celdas prototipo 1 con una concentración inicial de  $1 \text{ gL}^{-1}$  de medicamentos, se obtuvieron los potenciales que se observan en la Figura 46, donde durante las primeras 24 horas no fue posible registrar potenciales en ninguna celda, por lo que se evaluaron distintas adecuaciones en el acomodo del ensamble de las celdas.

- El ánodo 1 (Pantoprazol), se preinoculó durante 24h en la misma solución de la celda.
- El ánodo 2 (Naproxeno) se reensambló sin cambio alguno.
- El ánodo 3 (Loratadina) se sumergió en el sistema (ánodo flotante).

EL ánodo que se colocó al interior de la celda de manera flotante, incrementó el voltaje de la celda de 0 a 194 mV en la primer hora, para posteriormente incrementar hasta un máximo de 478 mV, y finalmente reducir su VCA a 278 mV tras 288 horas de tratamiento, mostrando que el tiempo esperado de tratamiento estaría alrededor de 288 h (12 días) de tratamiento.

En contraste la celda 1 (Pantoprazol) muestra un incremento de 167 mV tras incubar de forma externa su ánodo y volverlo a colocar en su posición en el MEA, sin embargo tras otras 24 h se observó un significativo declive en su potencial, para posteriormente defender a 0V. Mientras que la celda 2 (Naproxeno) no mostro ningún incremento en el potencial de celda, estos diferentes resultados se atribuyeron a que el soporte para el MEA elegido, el cual poseía perforaciones muy pequeñas, en las cuales se quedaban burbujas de aire impidiendo el contacto de los ánodos con el sustrato , mermando su desempeño.



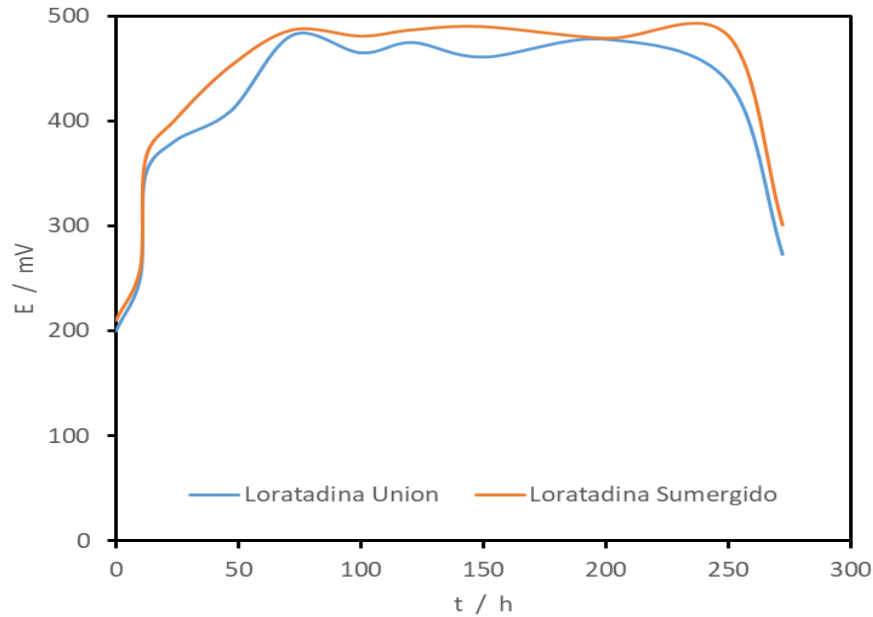
**Figura 46. Registro de VCA de la primer prueba de degradación**

Con los resultados obtenidos se prosiguió a repetir estos experimentos cambiando el soporte del MEA (Soporte tipo pilares, segunda menor resistencia en R1), y variando la posición de los ánodos, con un ánodo en el MEA (Tipo Unión), mientras que en el otro se dejó el ánodo sumergido en la cámara anódica (Tipo sumergido), y manteniendo el mismo medicamento en ambas celdas (Loratadina a  $1 \text{ gL}^{-1}$ ).

### **7.5.1.3 Efecto de la posición del ánodo den el desempeño de la celda**

En la Figura 47 se observa el registro de VCA de ambas celdas, mostrando que independientemente de la posición del ánodo ambas celdas mostraron un similar desempeño con potenciales cercanos a los 500 mV, por lo anterior se determinó que el soporte a emplear para el resto de los experimentos fue tipo pilares con un ánodo flotante.

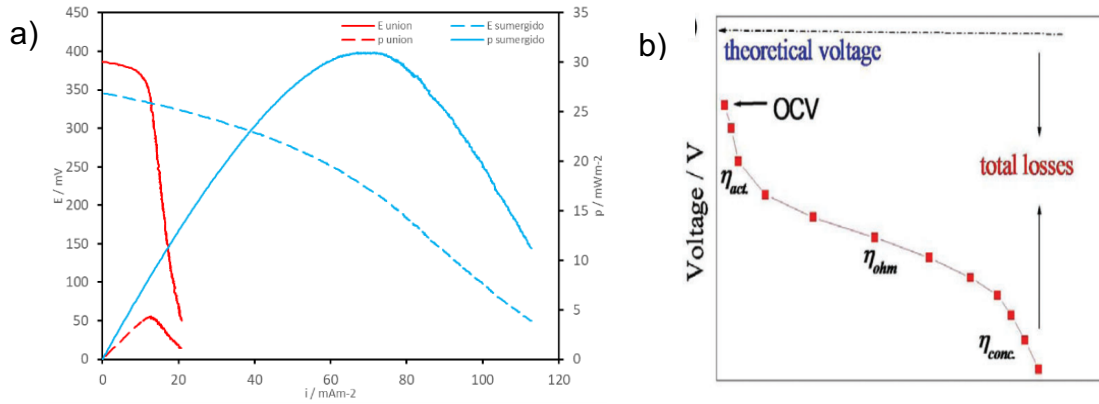




**Figura 47. Registro de VCA del efecto de la posición del ánodo en la CCM.**

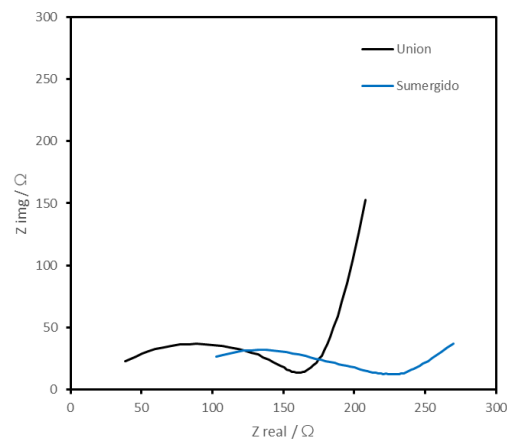
El efecto de variar la posición del ánodo se verificó con la obtención de la curva de polarización de ambas celdas (Figura 48 a), donde se observa que la celda con un ánodo sumergido presenta una mayor salida de corriente y potencia que la celda donde el ánodo se encuentra en unión, atribuido al aumento de área expuesta por parte del ánodo sumergido, aumentando el área disponible y facilitando el contacto del sustrato con la biopelícula para la biopelícula, así como facilitar el contacto.

En contraste la celda con un ensamble de unión presenta una curva corta de rápida caída, la cual se asocia principalmente a caídas por concentración<sup>61</sup>, (Figura 48 b)) lo que se puede traducir en problemas difusivos, por el pobre contacto del sustrato con la única cara expuesta del ánodo, la cual está detrás de una placa de acrílico, esto también se observa en los espectros de impedancia (Figura 49).



**Figura 48. Curva de polarización segunda prueba a) comparación de posición, b) Perdidas teóricas <sup>61</sup>.**

En Figura 49 se observan los diagramas de Nyquist de las dos celdas, donde se aprecia que la celda en unión tiene un arco más compacto y elevado, donde la extensión del semicírculo es bastante similar en ambos casos (205  $\Omega$  ánodo unión y 195  $\Omega$  ánodo sumergido), sin embargo, el valor de  $R_1$ , del en el ánodo en unión de 10  $\Omega$ , mientras que para el ánodo sumergido es de 61  $\Omega$ , por otro lado otra diferencia en las celdas es la resistencia por difusión, el cual en el ánodo en unión llega hasta los 150  $\Omega$ , mientras que en el ánodo sumergido se queda en 39  $\Omega$ , lo que en conjunto con las curvas de polarización evidencia los problemas difusionales que tienen esta configuración.



**Figura 49. Diagramas de Nyquist del efecto asociados a la posición del ánodo a) Unión b) sumergida**

### 7.5.1.4 Prototipo final

Como resultados de las últimas pruebas en el prototipo No 1 se modificó el diseño final del prototipo No 2, dejando finalmente un ensamble exterior compuesto por el cátodo y la membrana de Nafion® soportados entre los soportes de tipo pilar, mientras que en el interior de la celda se contó con ánodos sumergidos, los cuales se agruparon en grupos de tres dentro de las celdas, con un diámetro de 2cm separados por 1.5 cm de la tapa principal y del sensor de temperatura, con un espaciamiento entre ánodos de 1.5 cm interconectados a un mismo colector de corriente (Figura 50).

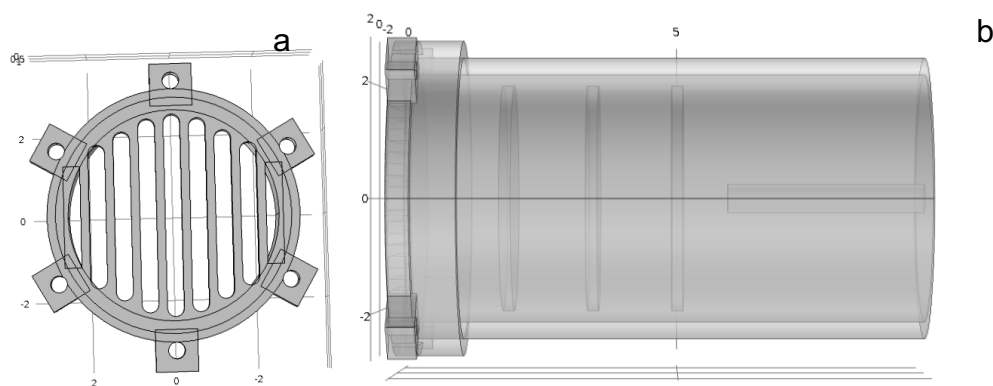


Figura 50. Diseño final del prototipo No 2. a) Tapa exterior y exterior, b) Prototipo completo de la CCM

## 7.6 Operación del sistema

### 7.6.1 Efecto de la temperatura en las CCM

La Figura 51, muestra el registro de voltajes de las celdas que operaron con la misma concentración de medicamentos ( $1\text{gL}^{-1}$ ) a diferentes temperaturas. Lo primero que resalta es la similitud en el VCA de las celdas, manteniéndose en un máximo de 700mV para Loratadina y Pantoprazol, mientras que Naproxeno se mantiene con un máximo de 500 mV.

La diferencia entre tiempos de tratamiento mostró que a 25°C los ciclos de tratamiento para los tres medicamentos es de 300 h, y a 32°C los ciclos de degradación se reducen a 150 h (Naproxeno y Loratadina) a 210 h (Pantoprazol), la reducción en los tiempos de tratamiento obedece a un incremento en la temperatura del medio, cercana a la temperatura óptima de crecimiento de las bacterias esperadas (mesófilas rango de temperatura de crecimiento de 10°C a 45°C, temperatura óptima 30°C<sup>101</sup>) alargando fase lag del crecimiento microbiano de las celdas a 25°C, ya que al desarrollarse a una temperatura menor a la óptima se redujo su metabolismo en comparación con las otras celdas, esto se observa en una fase lag de que se extiende sobre las 24h, para posteriormente pasar a una fase exponencial de 16 h más, alcanzando así la fase estacionaria tras 40h.

En cambio las celdas que operaron a 32°C, durante las primeras 14 horas la temperatura se mantuvo en 30°C para después descender y mantenerse en 28°C, lo que se refleja en una fase lag aparentemente inexistente pasando a la fase exponencial en la primera hora, llegando a la fase estacionaria en las primeras 24 horas, al estar en su temperatura óptima las bacterias en la biopelícula favorecieron su metabolismo reduciendo así los tiempos de tratamiento considerablemente.

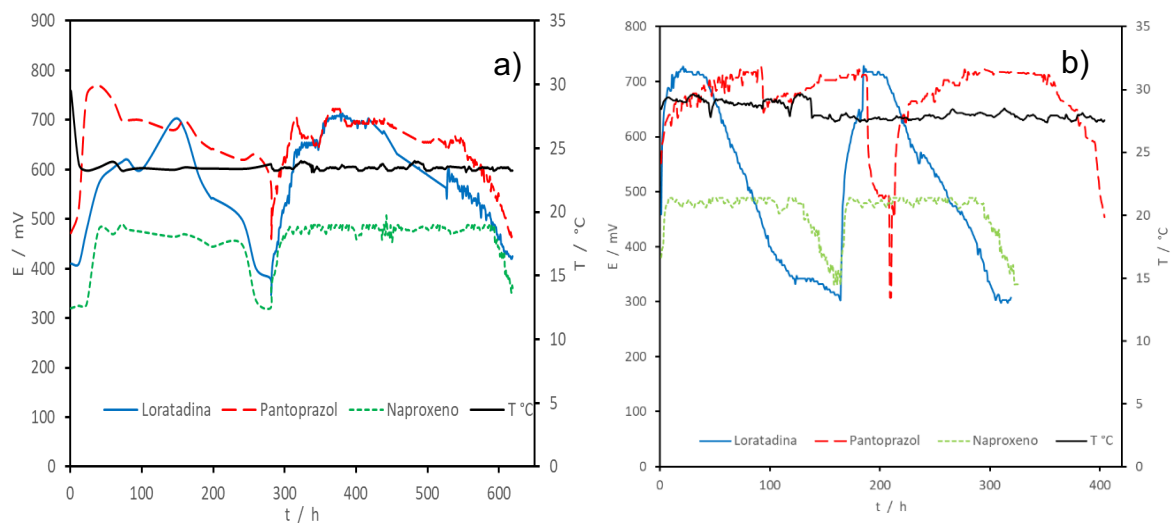


Figura 51. Registro de VCA a diferentes temperaturas a) 1 gL<sup>-1</sup> 25°C, b) 1gL<sup>-1</sup> T 32°C

### 7.6.1.1 Curvas de polarización de las CCM evaluadas a 25°C y 32°C

En la Figura 52 se muestran las curvas de polarización correspondientes a las celdas a 25°C y 32°C, en donde contrario a lo esperado, las celdas que operaron a 25°C registraron un mejor desempeño a las celdas que operaron a 32°C, dado que al estar en condiciones óptimas de crecimiento se esperaría más biopelícula y una mayor actividad bacteriana, lo que se traduciría en una mayor actividad electroquímica.

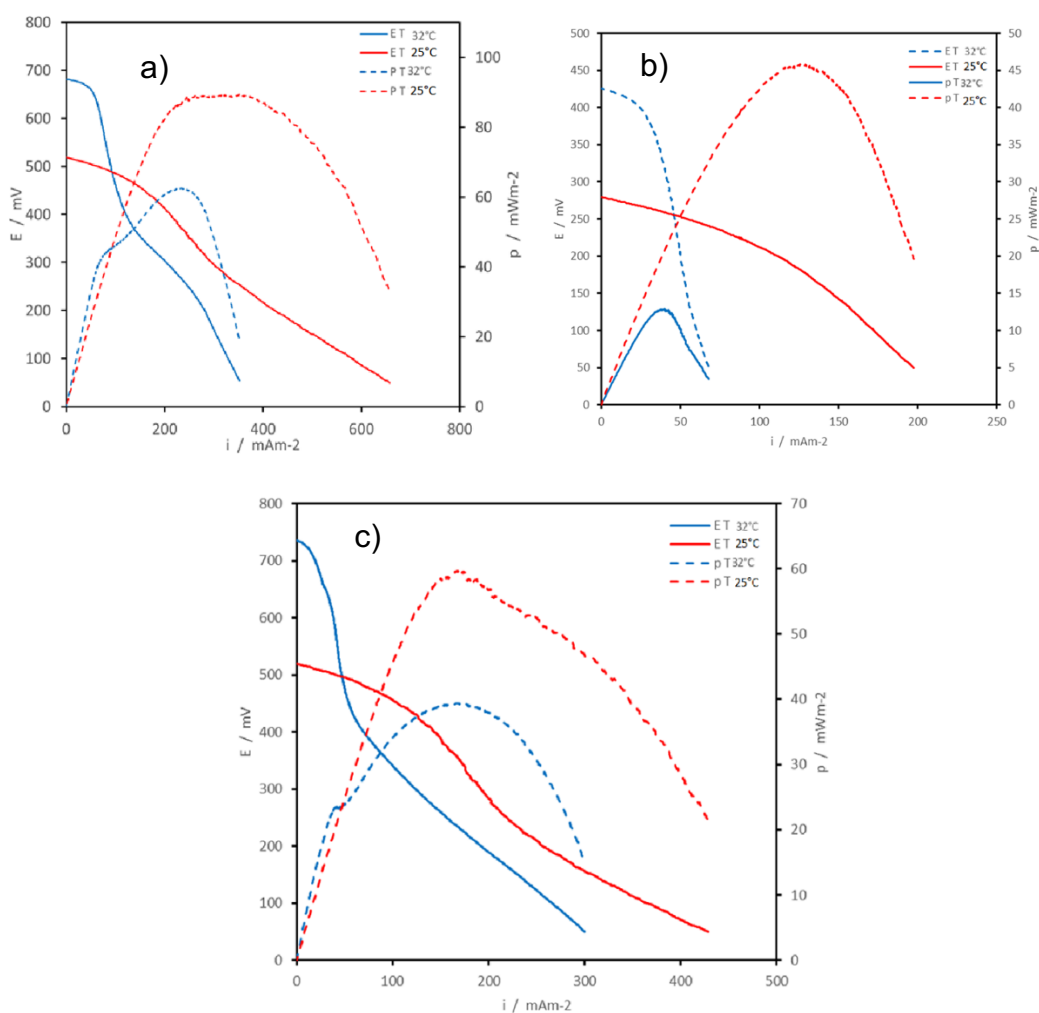
Las celdas 32°C muestran inicialmente un mejor desempeño, con pérdidas por activación mínimas en comparación con las celdas a 25°C, manteniendo un mejor desempeño durante los primeros 100mV, posteriormente la corriente tiene una caída considerable, esto puede obedecer a varios factores, sin embargo la explicación más posible a este fenómeno son los problemas disfuncionales derivados de un mayor crecimiento y envejecimiento de la biopelícula.

González-Brambila y López-Isunza<sup>102</sup>, explican el intercambio de materia y las zonas reactivas de una biopelícula a lo largo que esta envejece, ya que en un principio se tienen dos principales zonas reactivas, siendo la principal la posicionada a mitad de la biopelícula y otra menos reactiva en la interfaz líquido-biopelícula, debido a los gradientes de concentración. Posteriormente a lo largo que la biopelícula crece y se hace más gruesa por el crecimiento celular y la constante secreción de biopolímeros extracelulares, se crean y burbujas de agua dentro de la biopelícula, esto conlleva varios cambios en la biopelícula y en cómo se distribuye el sustrato y reacciona en la biopelícula, creando zonas reactivas y otras que no, dado las diferentes velocidades de reacción y difusión que se crean dentro de la biopelícula por su intrincado crecimiento y competencia entre tipos de bacterias.

En este contexto el comportamiento de las curvas de polarización muestra que la biopelícula de las celdas 25°C estaría menos desarrollada, ya que la fase lag evidencia que las bacterias tardaron en adaptarse a las condiciones de su medio<sup>101</sup>, y el ciclo de degradación está asociado a la baja actividad bacteriana y con ello un

bajo desarrollo de la biopelícula, manteniendo así zonas reactivas y una biopelícula menos intrincada y, en consecuencia menores problemas disfuncionales.

En comparación las celdas que operaron a 32°C mostraron un ciclo de crecimiento más corto evidenciando un rápido crecimiento y acelerado metabolismo en comparación con las celda que operaron a 25°C, lo que sugiere una biopelícula más extensa y compleja, lo que generaría un envejecimiento de biopelícula superior al de las celdas que operaron a temperatura ambiente, por lo cual tendrían zonas con un menor desempeño dado el grosor y envejecimiento de la biopelícula.



**Figura 52. Curva de polarización de las celdas evaluadas a diferentes temperaturas a) Loratadina b) Naproxeno c) Pantoprazol.**

### 7.6.1.2 Evaluación de las CCM por Espectroscopía de impedancia Electroquímica a condiciones de temperatura ambiente y controlada

En la Figura 53 se presenta el circuito equivalente propuesto, derivado de los diagramas de Nyquist (Figura 54), con una curva redondeada y alargada no simétrica, así como la presencia de dos picos en los diagramas de Bode (Figura 55), sugiere la presencia de dos circuitos en serie de resistor y capacitor en paralelo, así mismo dado que el mecanismo de intercambio de carga entre la biopelícula y el fieltro de grafito es por contacto directo (según sugiere el crecimiento de biopelícula en las micrografías), permite eliminar el elemento de Warburg del segundo Randles (representando así el intercambio directo de carga entre las bacterias y las fibras de grafito), quedando el circuito equivalente como  $R_1(CPE_1(R_2W_1))(CPE_2R_3)^{100}$ .

Al analizar los espectros de impedancia de las celdas se obtiene el circuito equivalente se presenta en la Figura 53, lo primero a resaltar es el aporte de  $R_1$  ( $R_{ohm}$  asociado a la resistencia en todos los contactos eléctricos y la resistencia de la solución dada la separación de los electrodos con la membrana de Nafion®), a la resistencia interna de la celda, generando un área de oportunidad en el diseño que minimicen estas resistencias.

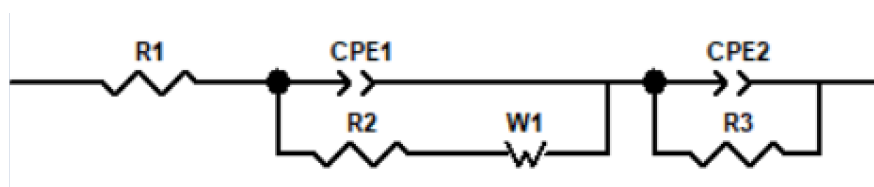


Figura 53. Circuito equivalente propuesto

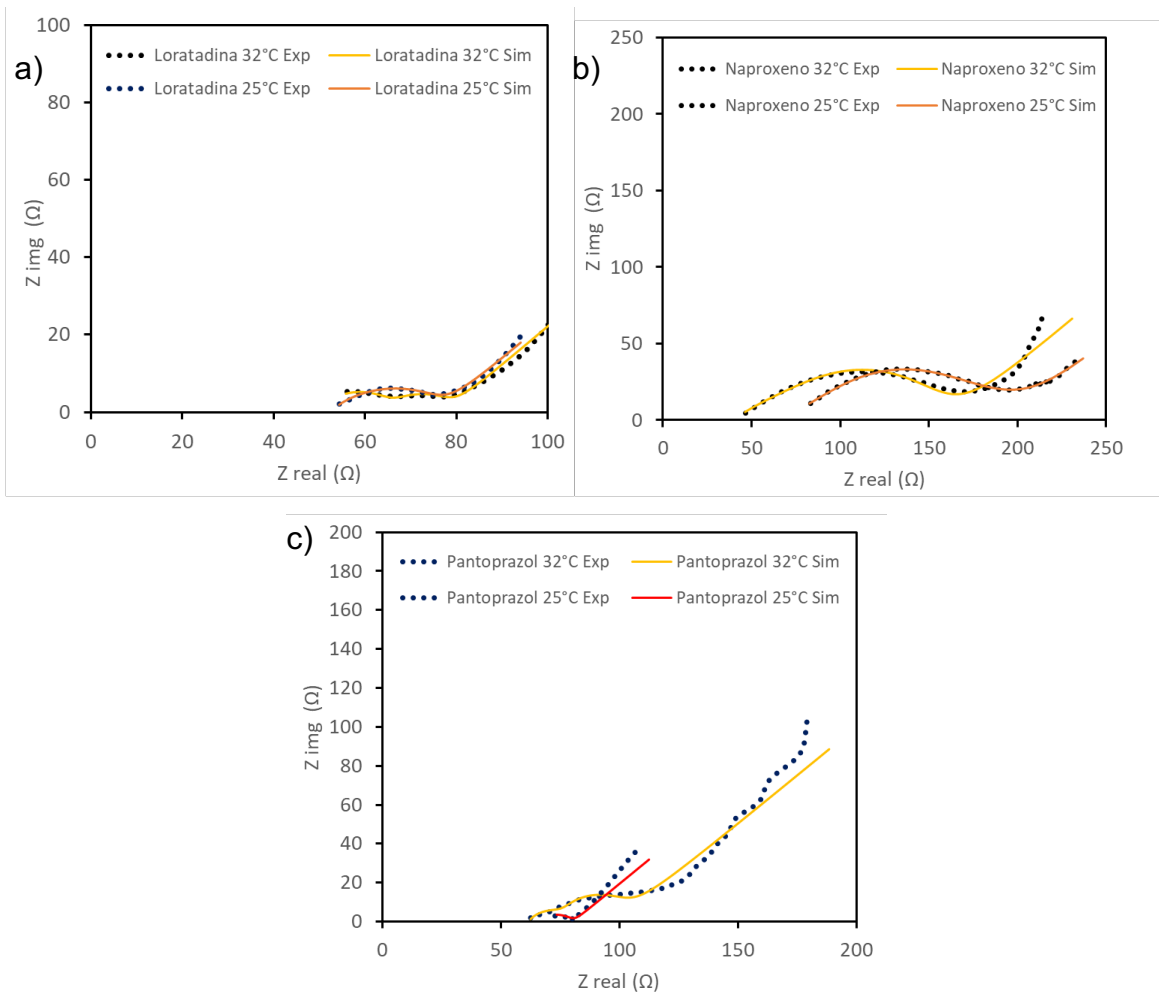
El valor de  $R_1$  en las celdas se mantuvo dentro de los  $200 \Omega$ , mostrando en su mayoría una  $R_{total}$  menor a los valores reportado por Yu Zhao<sup>67</sup>, de quien se toma el pretratamiento oxidativo enfocado en CCM, quien reporta  $R_{total}$  superiores a los  $150 \Omega$  en la oxidación de glucosa, usando lodos anaerobios de una planta de tratamiento como inóculo.

En la Tabla 13 se muestran las simulaciones del circuito equivalente, inicialmente en las celdas que operaron con Loratadina (Figura 54a) se aprecia que la resistencia a la transferencia de carga es similar en ambos casos ( $23 \Omega$  y  $27 \Omega$  para la celda a  $25^{\circ}\text{C}$  y la celda a  $32^{\circ}\text{C}$  respectivamente) mientras que la capacitancia del sistema es un orden de magnitud menor en el caso de la celda que operó a temperatura controlada, lo que en el mismo orden de ideas de la sección anterior sería evidencia de la formación de la biopelícula, aumentando su extensión y grosor.

La celda con Pantoprazol (Figura 54c), a  $32^{\circ}\text{C}$  muestra valores de resistencia a la transferencia de carga casi del doble ( $21 \Omega$  a  $38 \Omega$ ) en comparación con la celda a  $32^{\circ}\text{C}$ , y en ambos casos se presenta problemas por difusión que se representa con un valor del elemento de Warburg,.

El caso de la celda con Naproxeno (Figura 54b) se registró una reducción en la resistencia interna de la celda al operar a temperatura  $32^{\circ}\text{C}$  y no aumento, a pesar de ello la celda no tuvo un mejor desempeño electroquímico comparado con las otras celdas, sin embargo, mostró el mayor decrecimiento en la salida de corriente en las curvas de polarización, esto es atribuido a las bajas concentraciones de excipiente que posee este medicamento en comparación con los otros medicamentos, por lo que probablemente las bacterias usaran en la etapa de crecimiento el excipiente, dejando bajas concentraciones de este al momento de realizar las pruebas quedando solo el medicamento el cual es más lento de metabolizar lo que explicaría la gran resistencia a la transferencia de carga que muestra en los espectros de impedancia así como la baja corriente que esta celda llega a generar.





**Figura 54. Diagramas de Nyquist a diferentes temperaturas a) Loratadina b) Naproxeno c) Pantoprazol**

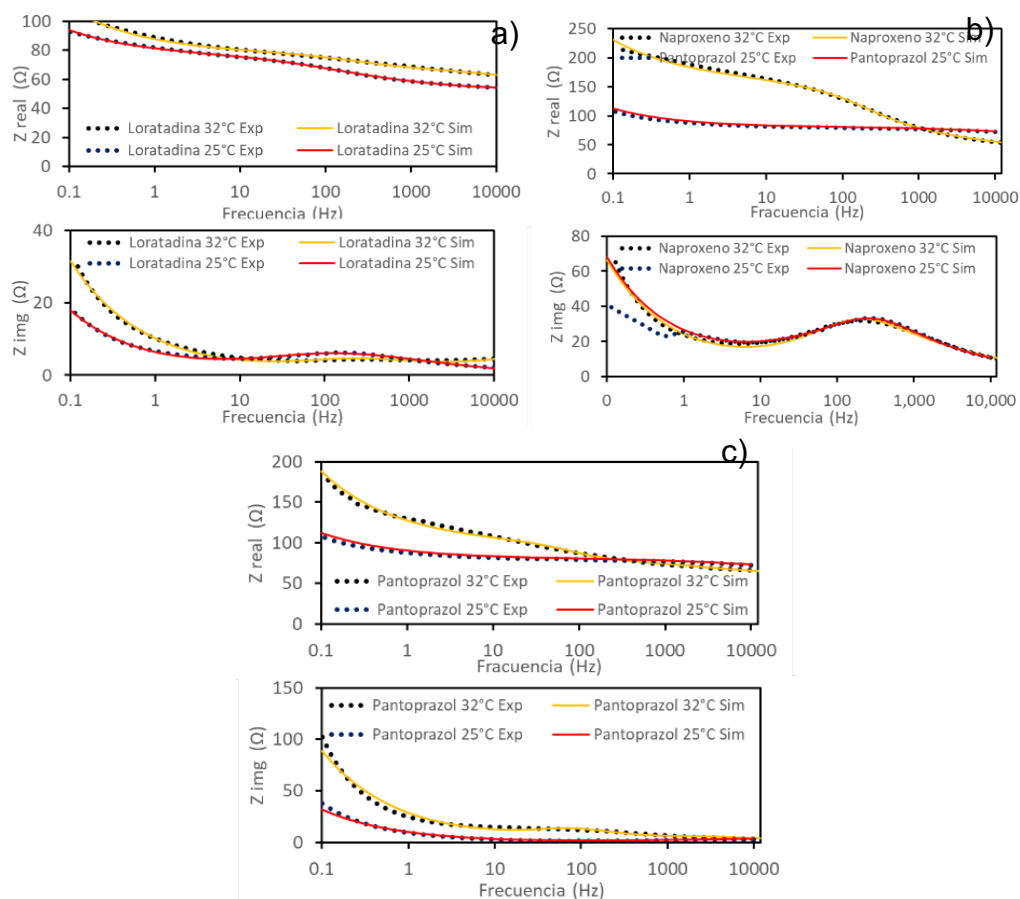


Figura 55. Diagramas de Bode a diferentes temperaturas a) Loratadina b) Naproxeno c) Pantoprazol

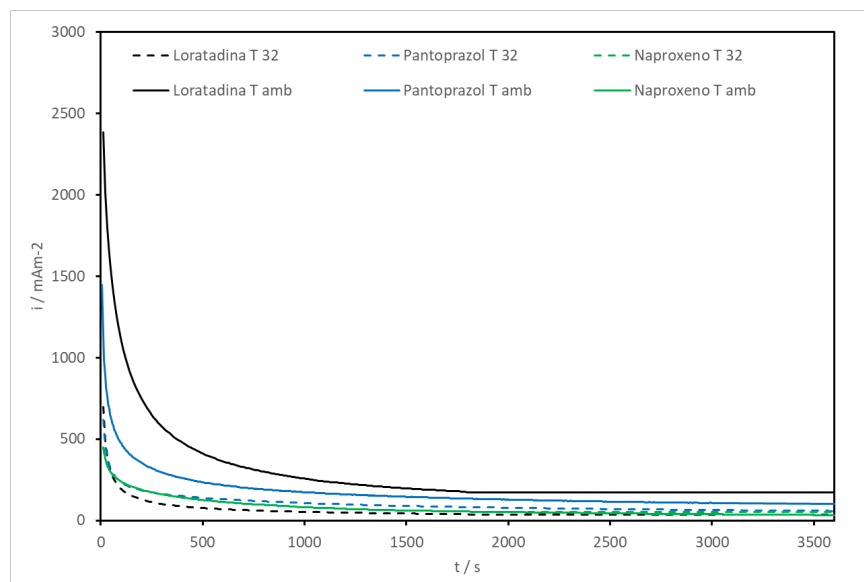
Tabla 13. Simulación de espectros a 25°C y 32°C

Soporte	Loratadina		Naproxeno		Pantoprazol		
	25°C	32°C	25°C	32°C	25°C	32°C	
R1 (Ω)	52.484	50.171	67.359	39.354	59.87	61.615	
R2 (Ω)	8.527	15.726	109.28	93.288	4.8691	22.671	
R3 (Ω)	15.863	12.082	36.109	38.765	15.863	16.944	
CPE1	C <sub>d</sub> 1 (μF)	950	9.85	505	330	1.3649E-7	85.19
	n1	0.5649	0.70581	0.41616	0.44351	0.88056	0.973
CPE2	C <sub>d</sub> 2 (μF)	1086	504.9	42	53.621	155	79.49
	n1	0.62311	0.69139	0.8627	0.86604	0.53084	0.67248

W	14.291	25.029	55.207	53.23	25.259	70.032
---	--------	--------	--------	-------	--------	--------

#### 7.6.1.4 Estabilidad de las celdas

En la Figura 56, se exponen las cronoamperometrías de las celdas, donde sin importar la corriente inicial que estas puedan ofrecer todas caen a menos de 100 mA<sup>m</sup>-2 después de 200 s, la cual es una densidad de corriente 50% menor a lo esperado según las curvas de polarización, lo que muestra que las celdas incluso estando en estado estacionario, son poco estables a lo largo del tiempo, estos probablemente a los lento de la reacción o a gradientes de concentración dentro de la celda.



**Figura 56. Cronoamperometrías de las CCM con los distintos medicamento evaluados a 25°C y 32°C.**

#### 7.6.2 Evaluación del efecto de la concentración en el desempeño de las CCM

En la figura 57 se muestra el registro del VCA de las celdas que operaron con 0.5 gL<sup>-1</sup> (baja concentración Figura 57 a) comparados con el VCA de la celdas que operaron con 1gL<sup>-1</sup> (alta concentración Figura 57 b, ambas a 25°C) donde se

observa como los voltajes se muestran más estables a lo largo del tiempo en las celdas de baja concentración que en las celdas con alta concentración, sin embargo al igual que en las pruebas anteriores, se puede apreciar una reducción en los tiempos de tratamiento en aproximadamente 50 h, algo esperado ya que se partió con la misma cantidad de inóculo para dos diferentes concentraciones de medicamentos.

Las celdas de baja concentración lograron entrar al estado estacionario entre las 24 y 26 h, una reducción de 16h en comparación con las celdas que operaron a altas concentraciones, esta diferencia en los tiempos de aclimatación o etapa lag de crecimiento bacteriano<sup>101</sup> ocurre cuando un inóculo pasa de un ambiente de bajas concentraciones de DQO a uno con una mayor concentraciones de DQO, ya que el exceso de sustrato incrementa la actividad celular provocando que exista un mayor tiempo de adaptación al medio hasta que se equilibran las tasas de crecimiento y de degradación de DQO<sup>74</sup>.

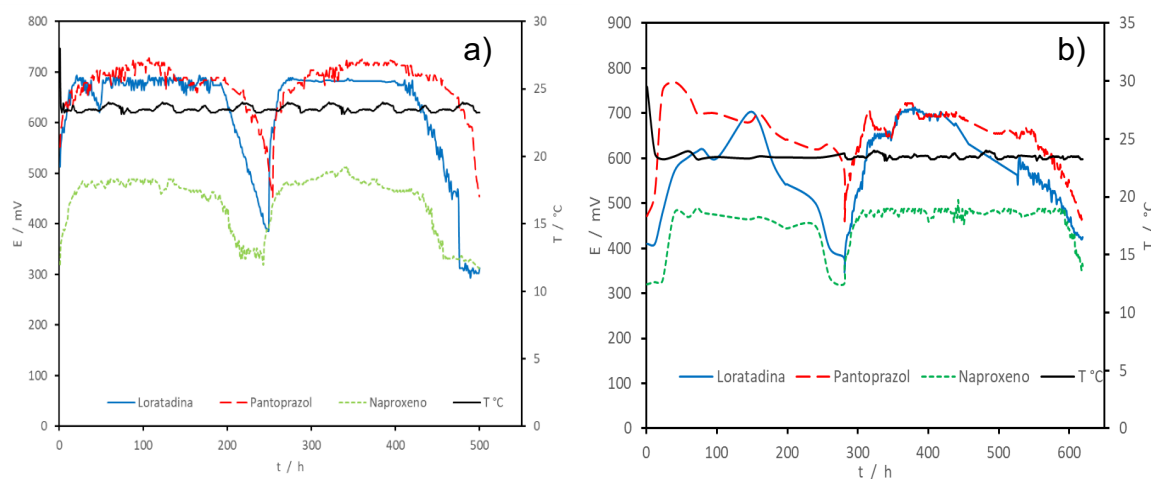


Figura 57. Registro de voltajes a diferentes concentraciones a 25°C a) 0.5 gL<sup>-1</sup> , b) 1 gL<sup>-1</sup>

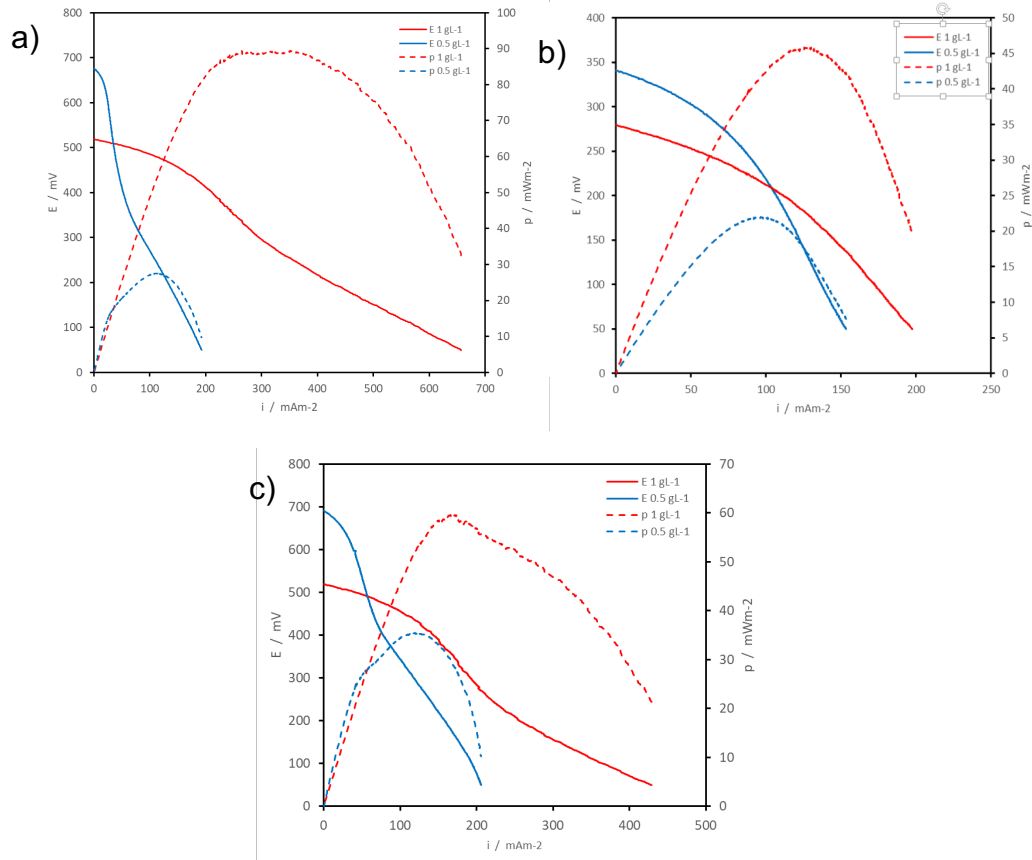
### 7.6.2.1 Curva de polarización de los medicamentos evaluados

Las curvas de polarización (Figura 58) muestran un comportamiento similar al observado en las pruebas con temperatura controlada, en donde las celdas con baja concentración tienen una menor pérdida por activación que las celas con alta

concentraciones, sin embargo su desempeño electroquímico está por debajo del de las celdas con alta concentración, con valores 2 o 3 veces menores a los que registran las celdas con alta concentración.

Este comportamiento se aplica por el incremento en la resistencia de las celdas (se explicara más adelante), como por la forma en que las bacterias reaccionan a bajas concentraciones de sustrato, el periodo de adaptación relativamente corto, derivado de la rápida respuesta de los microorganismo al nuevo medio y un periodo de rápido crecimiento, hasta el momento en que el sustrato es insuficiente para todas las comunidades, momento en que se da un proceso de metabolismo endógeno, decayendo el crecimiento y la actividad bacteriana hasta que se alcanza un equilibrio, esto conlleva un desarrollo inestable en la biopelícula, creando zonas muy gruesas, zonas poco pobladas o zonas con un alto volumen de biopelícula inactiva por la presencia de bacterias muertas<sup>74</sup>.

Este retroceso en el desarrollo de la biopelícula puede ser observado en la curva de la celda con Loratadina en la Figura 53, donde tras la etapa lag y de crecimiento exponencial se tienen una caída en el VCA de la celda, siendo esto un indicador de un decaimiento en la actividad bacteriana derivado el procesos de metabolismo endógeno en la biopelícula, posterior a esto se llega a un equilibrio, la actividad se recupera y con ello se tiene una recuperación en el VCA, esta caída tanto en la actividad microbiana así como en la baja concentración de sustrato explicarían el bajo desempeño, en especial en el caso de las celdas con Loratadina, siendo las celdas que mostraron el mayor decremento en las curvas de polarización<sup>74,102</sup>.

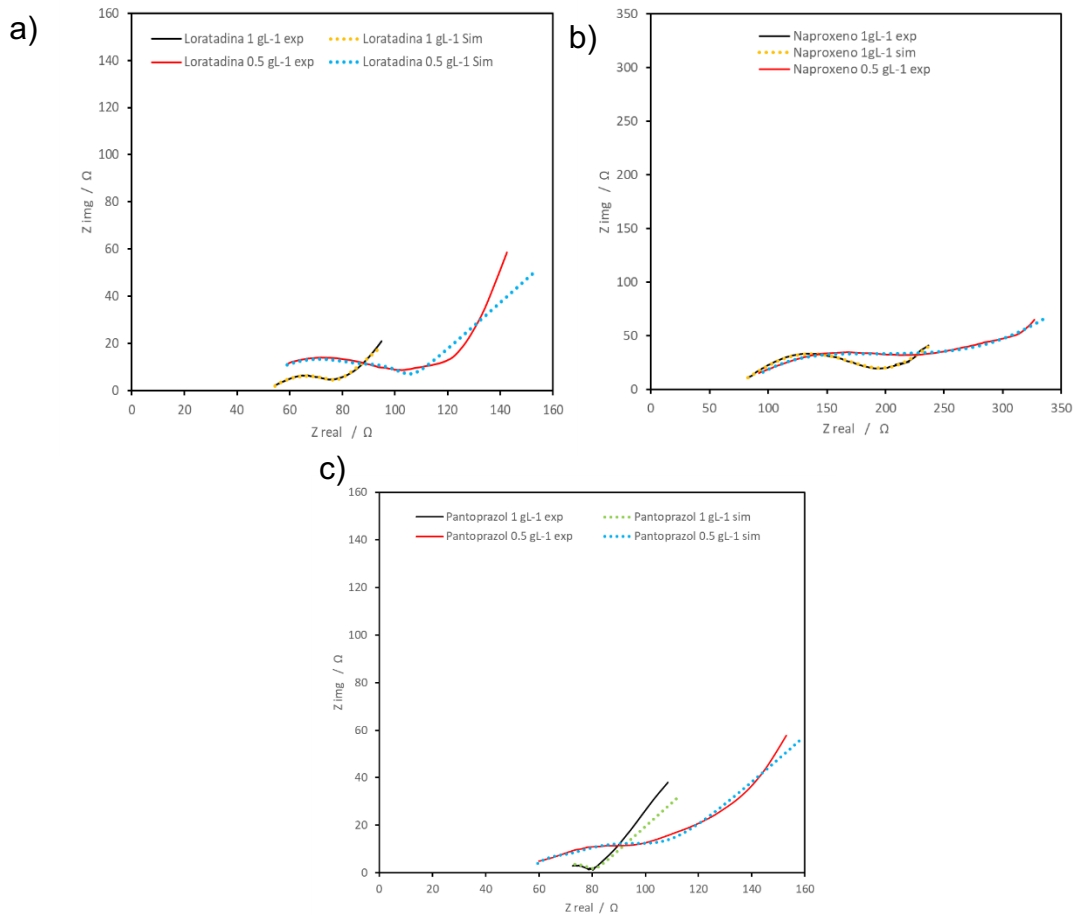


**Figura 58. Curva de polarización de las celdas evaluadas a diferentes concentraciones a) Loratadina b) Naproxeno c) Pantoprazol.**

### 7.6.2.2 Evaluación de las CCM con los medicamento por Espectroscopía de impedancia Electroquímica

La Figura 59 muestra los diagramas de Nyquist de las celdas que operaron con una concentración alta, en comparación con las celdas que operaron a baja concentración, donde se puede observar como las celdas que operaron a baja concentración muestran semicírculos más grandes que las celdas de concentración alta, así mismo en la Tabla 14, muestra cómo fueron los incrementos en la resistencia de las celdas, siendo R2, P1 y W1 asociados a la biopelícula (Primer Randles), los componentes en los que se percibe más los problemas ocasionados por la baja concentración de sustrato a la biopelícula.

En todos los casos se puede apreciar un incremento en R2 y W1, siendo un indicador de pérdida de actividad de actividad en áreas por el engrosamiento de la biopelícula como describe Brambila<sup>102</sup>, mientras que la reducción en la capacitancia del sistema es un indicador del cómo se extendió la biopelícula como resultado del incremento inicial de actividad bacteriana que después decae por el metabolismo endógeno de la biopelícula<sup>74</sup>.



**Figura 59. Diagrama de Nyquist a diferentes concentraciones a) Loratadina b) Naproxeno c) Pantoprazol**

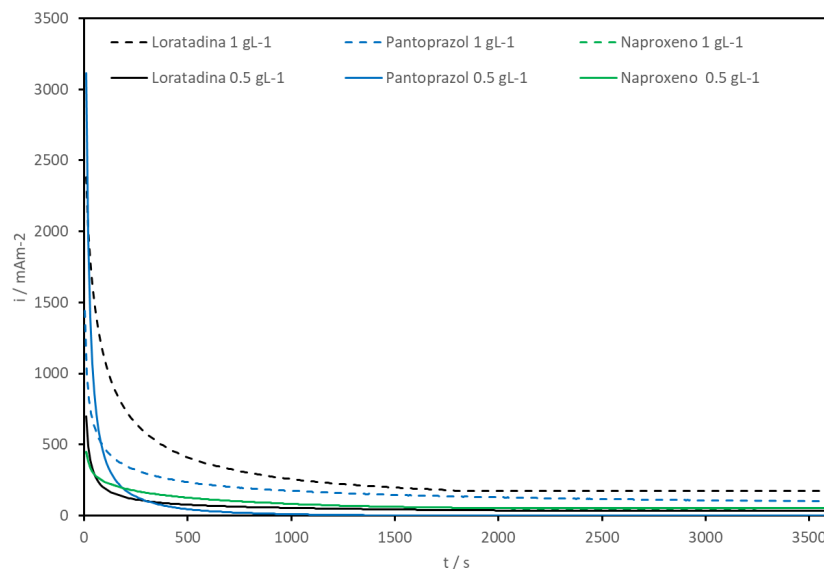
Tabla 14. Simulación de espectros a  $1\text{gL}^{-1}$  y  $0.5\text{gL}^{-1}$

Soporte		Loratadina		Naproxeno		Pantoprazol	
		25°C	32°C	25°C	32°C	25°C	32°C
R1 ( $\Omega$ )		52.484	46.322	67.359	70.327	59.87	56.561
R2 ( $\Omega$ )		8.527	43.686	109.28	223.3	4.8691	38.713
R3 ( $\Omega$ )		15.863	12.054	36.109	65.211	15.863	12.518
CPE1	Cd1 ( $\mu\text{F}$ )	950	34.80	505	1730	1.3649E-7	676
	n1	0.5649	0.65049	0.41616	0.31843	0.88056	0.63255
CPE2	Cd2 ( $\mu\text{F}$ )	1086	246	42	152	155	52.64
	n1	0.62311	0.8549	0.8627	0.5752	0.53084	0.75788
W		14.291	39.199	55.207	55.361	25.259	44.601

#### 7.6.2.4 Estabilidad de las celdas

En la Figura 60 se puede ver el mismo comportamiento previamente observado en las pruebas de temperatura, donde la gran mayoría de las celdas bajan a más de la mitad de la corriente esperada al voltaje de trabajo en menos de 200s, excepto por Loratadina  $1\text{gL}^{-1}$  la cual se mantiene sobre los  $173\text{ mA}\cdot\text{m}^{-2}$  cuando a el voltaje del ensayo se esperaban cerca de  $230\text{ mA}\cdot\text{m}^{-2}$ , el cual sigue estando por debajo de la corriente esperada, mostrando así la inestabilidad bajo carga a lo largo del tiempo, ya que el resto se mantienen cerca de los  $30\text{ mA}\cdot\text{m}^{-2}$  cuando la corriente esperada siempre estaba en entre los  $230$  y  $190\text{ mA}\cdot\text{m}^{-2}$ .





**Figura 60. Estabilidad de las celdas a diferentes concentraciones.**

### 7.6.3 Pruebas adicionales

También se evaluó el desempeño electroquímico de las CCM en la degradación de dos fármacos (Carbamazepina e Ibuprofeno) en la Figura 61 se presenta el ciclo de degradación de las celdas que operaron con Carbamazepina e Ibuprofeno con una concentración de a 50 ppm, donde se observa que el periodo de adaptación para la celda con carbamazepina es de 23h, posteriormente entra en la fase exponencial para entrar en equilibrio tras 82h, y finalizar el ciclo tras 200 h de tratamiento alcanzando un  $E_{\max}$  de 470mV, este potencial coincide con el reportado en otros trabajos en el que se trata carbamazepina con CCM<sup>103,104</sup>.

También se observa como la celda que operó con ibuprofeno muestra un potencial que oscila entre los 300 mV durante las primeras 200h, durante este periodo no se distingue un incremento de potencial y se mantiene en los 300mV, siendo este un indicador de actividad ya que si no existiera actividad su potencial seria de 0V<sup>38,74</sup>, y es en el segundo ciclo batch (a las 200h) que se puede observar una fase lag de cerca de 40h, para posteriormente alcanzar un  $E_{\max}$  de 480mV, por lo que el primer

ciclo junto con las primeras 40h del segundo ciclo se pueden tomar como un periodo de adaptación al medio, en especial al sustrato.

Los bajos valores de VCA por parte de estas celdas puede obedecer a varios factores como la toxicidad de la carbamazepina y el ibuprofeno<sup>105,106</sup> o la baja concentración de sustrato, sin embargo la explicación más plausible de este bajo VCA es la ausencia de un segundo sustrato, ya que en comparación de las celdas con medicamentos comerciales estos están acompañados por un excipiente, como explica Yogesh Sharma y colaboradores<sup>107</sup>, la presencia de un cometabolitos en una celda de combustible aumenta considerablemente el VCA, la potencia que esta puede ofrecer así como incrementar la producción de otros productos de interés como metabolitos de interés o hidrogeno, esto también explicaría el potencial de las celdas con Naproxeno puesto que su porcentaje de excipiente es considerablemente bajo en comparación con los otros dos medicamentos (Naproxeno 28%, Pantoprazol 76% y Loratadina 92% de peso en excipiente).

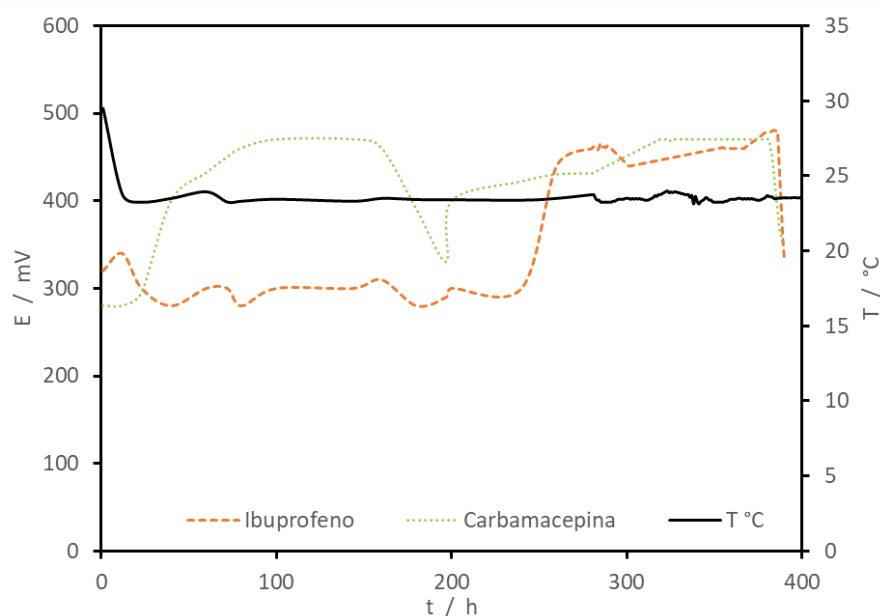


Figura 61. Registro de voltajes, celdas con la sustancia activa de fármacos

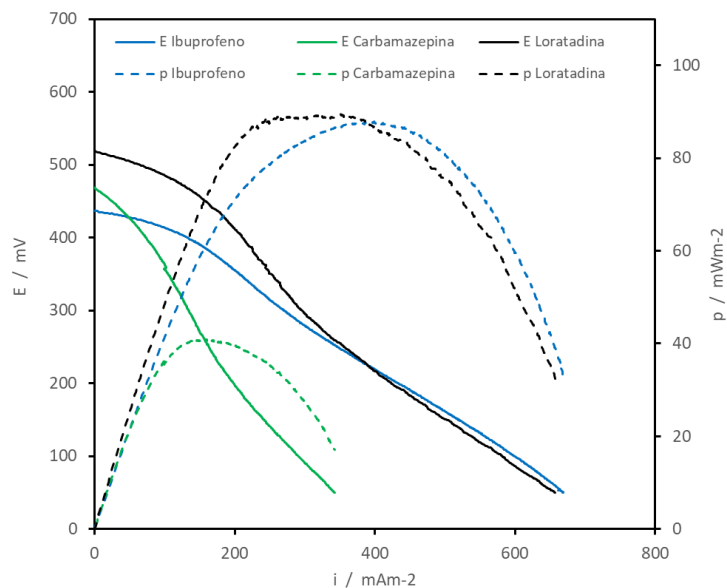
### 7.6.3.1 Curva de polarización de los fármacos evaluados

En la Figura 62 se muestran las curvas de polarización de las celdas con carbamazepina e Ibuprofeno en comparación con la curva de Loratadina ( $1\text{gL}^{-1}$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ), donde se observa como la celda con carbamazepina tiene un desempeño 50% menor al mostrado por la celda con Ibuprofeno, la cual muestra un desempeño similar al registrado por la celda con Loratadina, siendo la celda que mostró el segundo mejor desempeño de todas las pruebas realizadas, solo después de la celda con Loratadina ( $1\text{gL}^{-1}$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ).

Este comportamiento puede deberse principalmente a la diferencia entre las resistencias de las celdas, ya que como se ve en la Figura 62, la resistencia interna de la celda con Carbamazepina es más del doble que lo que muestra la celda con Ibuprofeno.

Algo a resaltar es que una celda con un menor VCA tenga un desempeño similar a una celda con un VCA 200mV superior, aunando al hecho de que no presenta una segunda fuente de carbón parece contradecir lo anteriormente explicado en donde la presencia de un cosustrato aumenta el rendimiento electroquímico que las celdas pueden presentar.

El registro de VCA la celda con ibuprofeno mostro un VCA muy bajo durante una considerable cantidad de tiempo, por lo que cabe la posibilidad de que este periodo los microorganismo lo tomaran como un periodo extendido de adaptación, de forma que cuando el segundo ciclo Batch empezase estos estuvieran mejor adaptados e incrementasen de forma considerable el desempeño electroquímico, otra posibilidad es la forma en que los microorganismos se adapten al ibuprofeno, la literatura muestra grandes variaciones en los potenciales que se pueden obtener de diferentes CCM, variando de  $160\text{ mWm}^{-2}$  <sup>108</sup> a  $2300\text{ mWm}^{-2}$  <sup>109</sup>, siendo lo único que comparte un VCA de 900mV, porque lo que la celda desarrollada en este trabajo se encontraría en un punto medio entre los artículos publicados.



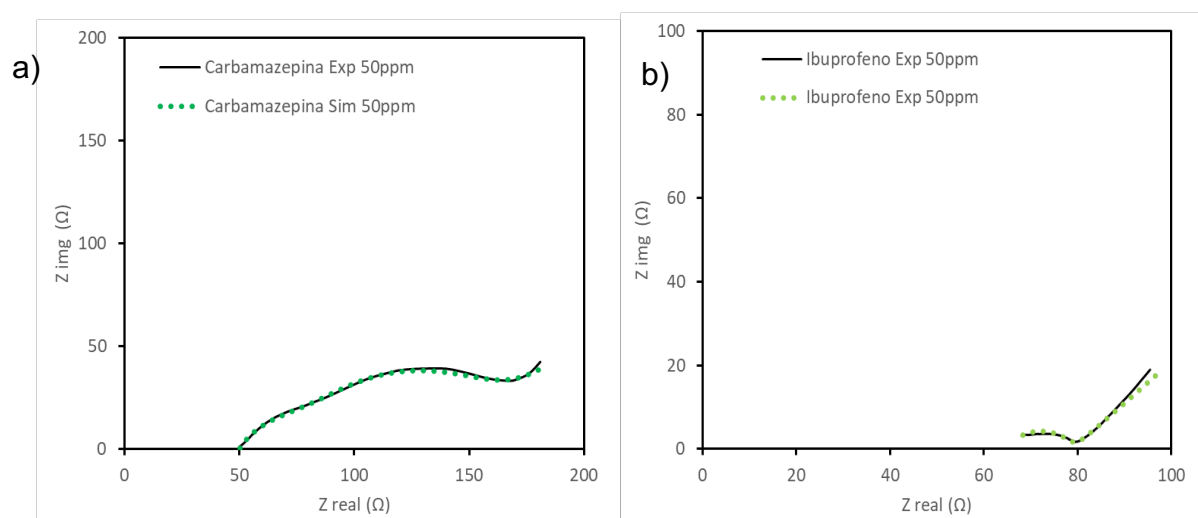
**62. Curva de polarización de las celdas evaluadas con fármacos puros**

### 7.6.3.2 Evaluación de las CCM con los fármacos por Espectroscopía de impedancia Electroquímica

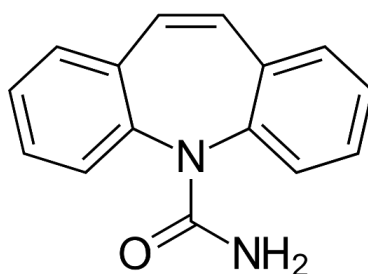
En la Figura 63, se muestran los diagramas de Nyquist de los dos medicamentos evaluados y en la Tabla 15 se muestran las simulaciones de los circuitos equivalentes, donde se puede observar un comportamiento similar a los ya mostrados anteriormente en caso de la celda que opero con Ibuprofeno, donde el mayor aporte a la resistencia interna de la celda es por parte de R1, por lo que al igual que en los casos anteriores ay un gran margen para mejorar, principalmente en el ensamble de la celda para reducir el aporte de los contactos eléctricos en el sistema.

En la CCM con Carbamazepina la resistencia a la transferencia de carga es la que presenta el mayor aporte a la resistencia del sistema, como se explicó con anterioridad las principales razones de que R2 (resistencia la transferencia de carga) sea tan alta en comparación con otras celdas, es que la reacción de oxidación de carbamazepina sea más lenta dado el triple anillo aromático de la molécula (Figura 64) haciéndola más estable y resistente a la biodegradación, lo

que se conoce como recalcitrante, motivo por el cual este medicamento es considerado dentro de los contaminantes emergentes, ya que no son degradados en las plantas de tratamiento convencionales llegando hasta los cuerpos de agua<sup>1,27</sup>, otro posible motivo de esta elevada resistencia a la transferencia de carga es que la celda con carbamazepina desde un principio se adaptó a sus sustrato mostrando todas las etapas del crecimiento microbiano desde el primer ciclo por lo que para el segundo ciclo cuando se caracterizó la biopelícula se encontraba más desarrollada, por lo que pudo experimentar problemas asociados al envejecimiento de la biopelícula como lo explica Isunza<sup>102</sup>.



**Figura 63. Diagramas de Nyquist con fármacos puros a) Carbamazepina b) Ibuprofeno**



**Figura 64. Estructura química de la carbamazepina.**

Tabla 15. Simulación de espectros con fármacos puros

Soporte	R1 (Ω)	R2 (Ω)	R3 (Ω)	CPE1		CPE2		W
				Cd1 (μF)	n1	Cd2 (μF)	n1	
Ibuprofeno	65.02	7.071	7.089	257	0.66081	124	0.70659	14.32
Carbamazepina	50.03	38.94	63.98	620	0.6981	1989	0.86124	27.95

### 7.6.3.4 Estabilidad de las celdas

En la figura 65 se muestra la curva de estabilidad de los dos medicamentos evaluados junto con la curva de Loratadina 25°C 1gL<sup>-1</sup> (por motivos comparativos) donde la celda con ibuprofeno después de 200s baja a 140 mA·m<sup>-2</sup>, para finalizar a 40 mA·m<sup>-2</sup>, mostrando poca estabilidad a lo largo del tiempo, mientras que la CCM con Carbamazepina a pesar de ser una de las celdas con mayores resistencias internas, muestra se la celda más estable de todas, manteniendo una corriente de 173 mA·m<sup>-2</sup> (Se esperaban 170 mA·m<sup>-2</sup>) mostrando una gran estabilidad, siendo la única que podría tener una aplicación directa sin necesidad de un sistema externo de almacenamiento de energía.

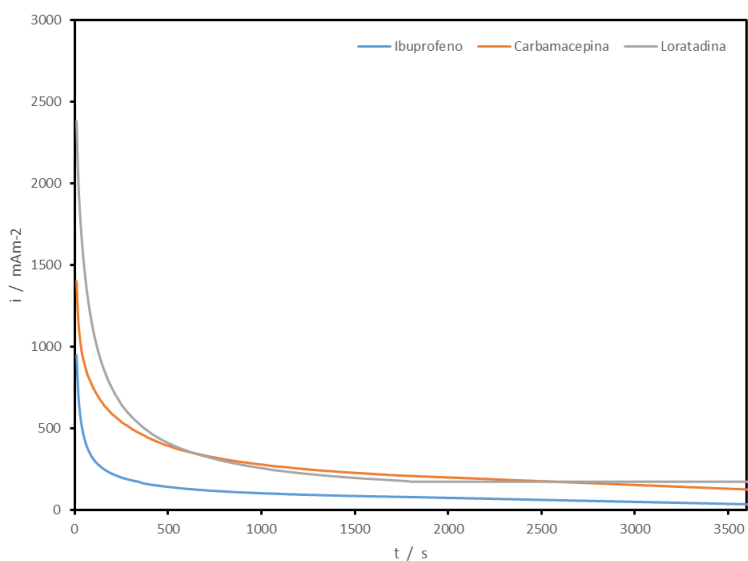


Figura 65. Curva de estabilidad de los fármacos evaluados

### 7.6.3.5 Remoción de Ibuprofeno,

En la Figura 66 se muestran los cromatogramas para cuantificación de Ibuprofeno antes y después de 200h de tratamiento en las CCM, donde el pico asociado a Ibuprofeno se encuentra cerca de los 2 min 30 s, con pico de señal de 2267 AU, después del pico de señal es de 0.0002 AU, significando un 98% de remoción de ibuprofeno, también se puede apreciar una ausencia a de picos cercanos a los 2 min 30s que indican la presencia de metabolitos como el hidroxibuprofeno, u otros metabolitos resultantes de su degradación por lo es poco probable que no se mineralizara, lo que se sugiere es la formación de acetona, hidroxicetonas y ácido láctico<sup>108,109</sup>.

Con un 98% de remoción de Ibuprofeno el prototipo desarrollado muestra una eficiencia similar a la reportada por Hua Li y colaboradores (95.7%)<sup>108</sup> y superior a la reportada por Peng Xu y colaboradores (75.94%)<sup>109</sup>, mostrando que el prototipo desarrollado muestra una gran fiabilidad para su implementación como tratamiento secundario o auxiliar en la remoción de Ibuprofeno de aguas a tratar.

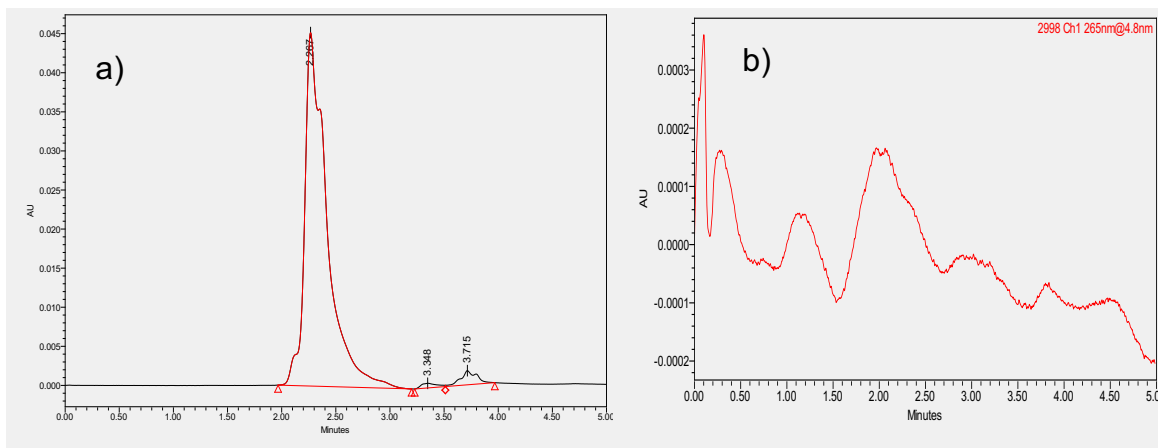


Figura 66, Cromatogramas para la cuantificación de Ibuprofeno a) Concentración inicial, b) Concentración final.

#### 7.6.4 Remoción de DQO y Eficiencia Coulombimetrica (EC)

En la tabla 16, se muestran los porcentajes de remoción de DQO y la eficiencia coulombimetrica de cada uno de los experimentos realizados, donde se pueden destacar varios casos (La curva de calibración se muestra en el ANEXO VII). El mayor porcentaje de remoción de DQO registrado es de 64.97%, en la celda que operó con  $1\text{gL}^{-1}$  de Loratadina a  $25^{\circ}\text{C}$ , en esta configuración de concentración y temperatura se presentan los porcentajes de remoción más altos en todos los casos, lo que concuerda con los datos experimentales de las pruebas electroquímicas.

Sin embargo los datos pertenecientes a los ciclos de tratamiento de  $32^{\circ}\text{C}$  y  $1\text{gL}^{-1}$ , y  $25^{\circ}\text{C}$  y  $0.5\text{gL}^{-1}$ , poseen porcentajes similares de remoción de DQO para Loratadina y Pantoprazol, mientras que Naproxeno con temperatura controlada presenta el porcentaje de remoción más bajo de todos, esto contradice lo anteriormente mencionado, que se esperaba que el desempeño electroquímico fuera un indicador de la eficacia por parte de las celdas en la remoción de DQO, sin embargo esto no se aprecia en estas pruebas. Esta suposición podría ser errónea ya que las bacterias exoelectroactivas son las responsables de la generación de potencial y corriente, haciendo un aporte a la degradación de materia pero no son las únicas responsables de la degradación del sustrato en la celda, ya que es todo el conjunto de microorganismos presente en la celda los que se encargan de la degradación de la DQO<sup>74</sup>.

Estos resultados junto con los arrojados por la caracterización electroquímica permiten encontrar las condiciones ideales para la operación de las CCM, siendo estas: operar a  $25^{\circ}\text{C}$  con  $1\text{gL}^{-1}$  de bulk de medicamentos, esto permite que exista un equilibrio entre los microorganismos que degradan la materia y las bacterias exoelectroactivas.



Tabla 16. Porcentaje de remoción de DQO y EC de las celdas evaluadas.

Medicamento	Concentración inicial (mgL <sup>-1</sup> )	Concentración final (mgL <sup>-1</sup> )	Δ de concentración (mgL <sup>-1</sup> )	% de remoción	EC %
<b>T 25°C - 1gL<sup>-1</sup></b>					
Loratadina	198.59	82.45	116.13	64.97	35.84
Naproxeno	220.18	186.72	33.4	16.66	25.88
Pantoprazol	206.09	82.45	123.63	66.34	38.92
<b>T 32°C - 1gL<sup>-1</sup></b>					
Loratadina	198.59	93.36	105.22	58.83	17.92
Naproxeno	220.18	213.8	6.32	3.17	13.65
Pantoprazol	206.09	117.68	88.40	47.43	26.88
<b>T 25°C - 0.5 gL<sup>-1</sup></b>					
Loratadina	156.54	76.09	80.54	58.8	28.67
Naproxeno	174.27	141.72	32.5	21.02	21.46
Pantoprazol	158.36	88.36	70	50.41	30.72
<b>T 25°C - 50 ppm</b>					
Ibuprofeno	110.40	79.72	30.68	33.83	16.38
Carbamazepina	117.22	99.95	17.27	17.71	16.04

Si bien estos porcentajes de remoción de DQO se considerarían prometedores tomando en cuenta que los porcentajes de remoción de DQO por parte de procesos anaerobios de tratamientos de agua se encuentran entre el 55 y 85%<sup>110</sup>, estos porcentajes de remoción se encuentran por debajo de los reportados en la bibliografía por parte de otras celdas de combustible enfocadas en el tratamiento de aguas contaminadas por fármacos (Tabla 17).

Esta diferencia en los porcentajes de remoción de DQO, puede deberse principalmente a diferentes factores:

1.- La relación de degradación de DQO en CCM longitudinales, si bien la CCM desarrollada no tienen una longitud muy grande, este factor pudo tener un ligero impacto en los porcentajes de remoción de DQO<sup>111</sup>.

2.- Dado lo complejo de los sustratos a tratar en las celdas, las reacciones de degradación pueden ser variadas y complejas, obteniendo diferentes compuestos derivados de materia orgánica fermentable, por lo que la acumulación de estos productos intermedios podría aumentar el efecto tóxico sobre los microorganismos y deteriorar aún más la eficiencia de remoción de DQO, esto explicaría porque la celda con Ibuprofeno tubo altos porcentajes de remoción del fármaco y no de DQO<sup>112</sup>.

3.- El tiempo de retención hidráulica (TRH) es especialmente importante en las CCM para obtener altos porcentajes de remoción de DQO, ya que da más tiempo a los microorganismos de degradar la materia orgánica en el agua, esto puede ser apreciado en los resultados obtenidos ya que las celdas que tuvieron los porcentajes más altos de remoción de DQO son las mismas que tuvieron los ciclos de degradación las largos<sup>113,114</sup>.

La Eficiencia Coulombimetrica (EC) es un parámetro relevante en las CCM ya que es un indicador de cuan eficiente es la celda en relación a cuanto energía realmente se puede aprovechar de la que es producida por la celda<sup>38</sup>, por lo que se muestra tanto en la Tablas 16 y 17, las celdas desarrolladas en la configuración T ambiental y  $1\text{gL}^{-1}$ , se muestran como celdas eficientes al compararlas con las reportadas en la bibliografía, siendo estas las condiciones idea les para la operaciones e implementación del prototipo desarrollado al ser las condiciones en que el prototipo se comporta de forma más eficiente, tanto en términos electroquímicos como en términos de degradación de contaminantes.

Tabla 17. Diferentes tipos de CCM, y sus porcentajes de remoción de DQO y EC.

Tipo de celda	Sustrato	Ánodo	Cátodo	$p_{max}$ ( $Wm^{-2}$ )	% de remoción de DQO	EC %
Foto CCM de cámara doble	Aguas contaminadas con Ibuprofeno	Composito de PANi@CNTs	Fotocátodo	119	75.64 % remoción de Ibuprofeno	31 <sup>109</sup>
Cámara doble de 11 L	Aguas residuales sintéticas contaminadas con fármacos	NR	NR	532.6	97.2	25.2 <sub>115</sub>
Cámara simple	Mezcla de penicilina y glucosa	Filtro de grafito	Tela de carbón con 0.8 mgP <sub>cm</sub> <sup>-2</sup>	106 mWm <sup>-3</sup>	90 %	NR <sup>11</sup> <sub>6</sub>
Cámara doble	Aguas residuales de la industria farmacéutica	Carbón activado granular	Varas de grafito	204.9	83 %	1.6 <sup>11</sup> <sub>7</sub>
Cámara doble	Mezcla de aguas residuales	Tela de carbón	Tela de carbón	NR	85 %	39
Celda cónica	Aguas residuales de la industria farmacéutica	Cono de carbón	Cono de carbón	168	85	NR <sup>11</sup> <sub>8</sub>
Lecho	Aguas residuales sintéticas con Ibuprofeno	Carbón activado granular	Carbón activado granular	28.63	90.8	NR <sup>10</sup> <sub>8</sub>

## CONCLUSIONES

Las pruebas de evaluación con medicamentos en bioelectrodos de papel Toray muestran potencial en la oxidación de excipientes y medicamentos, y en el desarrollo de biosensores para la detección de medicamentos al presentar picos de oxidación a 700mV y 1000mV que coinciden con picos de oxidación de los medicamentos, así como verse sensible a la concentración en el par redox (300mV y 380mV) característico del Pantoprazol, lo que cumple el primer objetivo específico de esta investigación.

Las micrografías de los bioelectrodos muestran la formación de una película sobre la superficie de los electrodos, lo que sugiere como método de intercambio de electrones los métodos de contacto directo de bacterias con el electrodo.

Se construyeron y probaron dos prototipos de CCM, variando soportes del MEA y posición del ánodo, de los cuales: el prototipo 2, con soporte de barras, y ánodo sumergido fue la configuración que mejor desempeño mostró.

Las curvas de polarización muestran que las celdas tienen un rendimiento similar o superior a los reportados por la bibliografía, en celdas que trabajan con residuos farmacéuticos, con una  $p_{max}$  de  $88.87 \text{ mWm}^{-2}$ , e  $i_{max}$  de  $669 \text{ mA}^{-2}$ .

Las curvas de impedancia muestran que las CCM presentan  $R_{int}$  inferiores a las reportadas por la bibliografía ( $200\Omega$ ) con una  $R_{int}$  máxima de  $79\Omega$ , en las celdas que operaron con las mejores condiciones, y dada la configuración de las celdas se presenta una oportunidad de mejora considerable para el desempeño de las CCM.

Las Cronoamperometrías muestran que las celdas son poco estables a lo largo del tiempo, ya que la mayoría merma su desempeño por debajo del 50% de la corriente esperada después de 500s, lo que puede opacar su aplicación en dispositivos de demanda constante de energía, lo que podría solucionarse con un sistema de almacenamiento de corriente. Las últimas tres conclusiones abarcan la

caracterización electroquímica de la CCM, con lo que se dio por cumplido el quinto objetivo específico de la Tesis.

Las celdas muestran porcentajes máximos de remoción de DQO de 64.79, bajos en comparación a los reportados en la bibliografía (hasta un 85%), sin embargo se posicionan como un método de tratamiento con porcentajes de remoción dentro del promedio en otros métodos anaerobios de tratamiento de aguas (55 a 90%), siendo una opción de tratamiento con futuro en el área del tratamiento de aguas contaminadas, cumpliendo con el sexto objetivo de la investigación.

Los datos de EC, muestran celdas eficientes en el aprovechamiento de energía producida por la celda, mientras que los datos de impedancia muestran que las pérdidas óhmicas por contactos eléctricos, representan uno de los mayores aportes a la resistencia interna de la celda, lo que abre las posibilidades de aumentar la eficiencia del sistema al reducir las pérdidas óhmicas derivadas de contactos eléctricos y resistencia de la solución.

Los datos arrojados por HPL y determinación de DQO, muestran que las celdas son capaces de degradar el 98% de la concentración inicial de Ibuprofeno, sin embargo no eliminan un porcentaje tan alto de DQO, ya que el ibuprofeno solo se degrada en compuestos más pequeños y potencialmente menos tóxicos, abriendo la posibilidad de implementar las CCM, no como un tratamiento completo si no como un tratamiento secundario que reduzca la toxicidad de compuestos en los efluentes que llegan a las plantas de tratamiento, cumpliendo parcialmente el séptimo objetivo de la investigación, dado que las limitaciones de reactivos y de tiempo no permitieron realizar la determinación de remoción de Carbamazepina.

En su conjunto los resultados de las pruebas electroquímicas y fisicoquímicas, evidencian las mejores condiciones para tener el mejor desempeño por parte de las celdas son: T ambiente y una concentración de  $1\text{gL}^{-1}$ , dando por cumplidos los segundo y tercer objetivos específicos de este trabajo.

Logrando construir un prototipo final, y con los resultados obtenidos de la caracterización electroquímica (760 mV, 88.87 mWm<sup>-2</sup>) y fisicoquímica (64.79 % de remoción de DQO), se acepta parcialmente la Hipótesis planteada al quedar un 12% por debajo de los valores esperados tanto en el desempeño electroquímico como en la remoción de DQO.

## PERSPECTIVAS

Para mejorar el desempeño del prototipo desarrollada, reduciendo las resistencias por contactos eléctricos y resistencia de la solución, así como reducir los problemas asociados a la difusión, se propone el implementar un cátodo cilíndrico a lo largo de la celda reduciendo así el número de contactos eléctricos y estableciendo una biopelícula que este en contacto con la solución a todo lo largo de la celda.

Como propuesta para reducir los costos del dispositivo final se propone probar materiales cerámicos que reemplacen las membranas de Nafion<sup>®</sup>, así como electrodos libres de platino, de forma que su escalamiento e implementación en plantas de tratamiento sea rentable.

Como un posible proyectos derivado del actual, se podría plantear el desarrollo de bioelectrodos de bajo costo que sean capaces de detectar medicamentos en aguas residuales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIO Intelligence. *Study on the environmental risks of medicinal products, Final Report prepared for Executive Agency for Health and Consumers*. (2013).
2. Pérez., P. Fármacos: El 80% de las materias primas procede de China e India. <https://www.larazon.es/atusalud/salud/farmacos-el-80-de-las-materias-primas-procede-de-china-e-india-KL19121913> (2018).
3. Villafuerte-Robles, L. The excipients and their functionality in pharmaceutical solid products. *Rev. Mex. ciencias Farm.* **42**, 1–19 (2011).
4. Soto-estrada, G. & Moreno-altamirano, L. Panorama epidemiológico de México , principales causas de morbilidad y mortalidad. *Rev. la Fac. Med. la UNAM* **59**, 8–22 (2016).
5. Perdigón-Villaseñor, G. & Fernández-Cantón, S. B. Principales causas de muerte en la población general e infantil en México, 1922-2005. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* **65**, 238–240 (2008).
6. INEGI. Censos de Población y Vivienda, 1995 y 2005. *Censos de Población y Vivienda, 1995 y 2005*. <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2010/> (2016).
7. Kuri-morales, P. A. La transición en salud y su impacto en la demanda de servicios. *Gac. Med. Mex.* **4**, 451–454 (2011).
8. Borja-Aburto, V. H. El desarrollo y la emergencia de un nuevo perfil epidemiológico. *Salud Publica Mex.* **41**, 151–152 (1999).
9. Hernández Romieu, A. C., Elnecavé Olaiz, A., Huerta Uribe, N. & Reynoso Noverón, N. Analysis of population survey for determining the factors associated with the control diabetes mellitus in Mexico. *Salud Publica Mex.* **53**, 34–39 (2011).
10. Gómez Oliván, L. M., Galar M, M., Téllez L, A. M., Carmona Z, F. A. . & Amaya Ch, A. Estudio de automedicación en una farmacia comunitaria de la Ciudad de Toluca. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **40**, 5–11 (2009).
11. Leyva Flores, R., Erviti Erice, J., Kageyema Escobar la Luz, M. & Arredondo, A. Prescripción, acceso y gasto en medicamentos entre usuarios de servicios de salud en México. *Salud Publica Mex.* **40**, 2–3 (1998).
12. Consejo de salubridad general de Mexico. Guía de referencia rápida Diagnóstico y tratamiento de la faringoamigdalitis aguda. vol. 41 7 (2010).
13. Consejo de salubridad general de Mexico. Diagnóstico y manejo de la



- infección aguda de vías aéreas superiores en pacientes de vías aéreas superiores en pacientes mayores de 3 meses hasta 18 años de edad. 10 (2016).
14. Consejo de salubridad general de Mexico. Diarrea y gastroenteritis de presunto origen infeccioso GPC : Prevención , diagnóstico y tratamiento de diarrea aguda en adultos en el primer nivel de atención. 9 (2016).
  15. Consejo de Salubridad General. Diagnóstico y Tratamiento de la Infección aguda, no complicada del Tracto Urinario en la Mujer. *Guía de Referencia Rápida* 1–8 (2012).
  16. Consejo de salubridad general de Mexico. Profilaxis, Diagnóstico y Tratamiento de GASTRITIS AGUDA (EROSIVA) en Adultos en los Tres Niveles de Atención. 6 (2016).
  17. Consejo de Salubridad General. Diagnóstico y Manejo De los Problemas Bucales en el Adulto Mayor: Guía de Referencia Rápida. 9 (2016).
  18. Biochemistryquestions. Intolerancia a la Lactosa. *Intolerancia a la Lactosa* 20 <https://temasdebioquimica.wordpress.com/tag/lactosa/> (2008).
  19. Ecured. Almidón. *Almidón* 20 <https://www.ecured.cu/Almidón> (2020).
  20. Muentes, F. B. & Veloz, Elizabeth C. Aglutinantes. (UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, 2013).
  21. Bhor, N. J., Bhusare, S. E. & Kare, P. T. Multifunctional Excipients : The Smart Excipients. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* **2**, 144–148 (2014).
  22. Carlsson, C., Johansson, A. K., Alvan, G., Bergman, K. & Kühler, T. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?. Part II: Environmental risk assessments of selected pharmaceutical excipients. *Sci. Total Environ.* **364**, 88–95 (2006).
  23. Wirz, K. C., Studer, M. & Straub, J. O. Environmental risk assessment for excipients from galenical pharmaceutical production in wastewater and receiving water. *Sustain. Chem. Pharm.* **1**, 28–35 (2015).
  24. Silva, A., Santos, L. H. M. L. M., Delerue-Matos, C. & Figueiredo, S. A. Impact of excipients in the chronic toxicity of fluoxetine on the alga *Chlorella vulgaris*. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **35**, 3124–3129 (2014).
  25. Yuan, C. J. & Marikawa, Y. Developmental toxicity assessment of common excipients using a stem cell-based in vitro morphogenesis model. *Food Chem. Toxicol.* **109**, 376–385 (2017).

26. Oaks, J. L. *et al.* Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* **427**, 630 (2004).
27. Triebkorn, R., Casper, H., Scheil, V. & Schwaiger, J. Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamazepine, clofibrac acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Anal. Bioanal. Chem.* **387**, 1405–1416 (2007).
28. Schwarz, S., Schmiegl, H., Scheurer, M., Köhler, H. R. & Triebkorn, R. Impact of the NSAID diclofenac on survival, development, behaviour and health of embryonic and juvenile stages of brown trout, *Salmo trutta* f. *fariorum*. *Sci. Total Environ.* **607–608**, 1026–1036 (2017).
29. Schmitz, M. *et al.* Environmentally-relevant mixture of pharmaceutical drugs stimulates sex-steroid hormone production and modulates the expression of candidate genes in the ovary of juvenile female rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* **205**, 89–99 (2018).
30. SINGREM. Preguntas Frecuentes. <https://www.singrem.org.mx/preguntasFrecuentes.html> (2016).
31. Patricia, C. & Fernandez, G. *Manual para el Tratamiento y Disposición final de Medicamentos*. (Centro Nacional de Prevención de Desastres (CENAPRED), 1995).
32. Logan, B. E. *et al.* Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 5181–5192 (2006).
33. Seyboth, K. *et al.* *Fuentes de energía renovables y mitigación del cambio climático*. Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (2011). doi:ISBN 978-92-9169-331-3.
34. Veringa, H. . Advanced Techniques for gasification of energy from biomass and waste. *ECN Publ.* 1–24 (2004).
35. Ríos-Leal, E., Solorza-Feria, O. & Poggi-Varaldo, H. M. *Energías Renovables Biológicas–Hidrógeno-Pilas de Combustible-II*. *Energías Renovables Biológicas-Hidrógeno-Pilas de Combustible-II* (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, 2010).
36. EG&G Technical Services, I. *Seventh Edition Fuel Cell Handbook*. U.S. Department of Energy (2004).
37. Scott, K. & Yu, E. H. *Microbial Electrochemical and Fuel Cells: Fundamentals and Applications*. *Microbial Electrochemical and Fuel Cells: Fundamentals and Applications* (WOODHEAD, 2015). doi:10.1016/C2014-0-01767-4.

38. Logan, B. E. *Microbial Fuel Cells*. (John Wiley & Sons, Inc, 2008).
39. Du, Z., Li, H. & Gu, T. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Adv.* **25**, 464–482 (2007).
40. He, Z., Wagner, N., Minteer, S. D. & Angenent, L. T. An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 5212–5217 (2006).
41. Logan, B. E. & Regan, J. M. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *Trends Microbiol.* **14**, 512–518 (2006).
42. Holmes, D. E. *et al.* Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. *Microb. Ecol.* **48**, 178–190 (2004).
43. Kim, Jung Rae. Jung, S. H. & Regan, John M. Logan, B. E. Electricity generation and microbial community analysis of alcohol powered microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **98**, 2568–2577 (2007).
44. Kiely, Patrick D. Rader, G. & Regan, John M. Logan, B. E. Long-term cathode performance and the microbial communities that develop in microbial fuel cells fed different fermentation endproducts. *Bioresour. Technol.* **102**, 361–366 (2011).
45. Nimje, V. R. *et al.* Glycerol degradation in single-chamber microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **102**, 2629–2634 (2011).
46. Song, Tian Shun. Wu, Xia Yuan. Zhou, C. C. Effect of different acclimation methods on the performance of microbial fuel cells using phenol as substrate. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **37**, 133–138 (2014).
47. Ortega-Martinez, A. *et al.* *Parallel Connection and Sandwich Electrodes Lower the Internal Resistance in a Microbial Fuel Cell. Journal of New Materials for Electrochemical Systems* vol. 15 (2012).
48. Pant, D. *et al.* *Food and Agricultural Wastes as Substrates for Bioelectrochemical System (BES): The Synchronized Recovery of Sustainable Energy and Waste Treatment. Food Research International* vol. 73 (2015).
49. Muthukumar, M. Catholyte Performance as an Influencing Factor on Electricity Production in a Dual-chambered Microbial Fuel Cell Employing Food Processing Wastewater AU - Sangeetha, T. *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.* **33**, 1514–1522 (2011).

50. Kassongo, J. and Togo, C. A. Performance improvement of whey-driven microbial fuel cells by acclimation of indigenous anodophilic microbes. **10**, 7846–7852 (2011).
51. Venkata Mohan, S., Sandipam, S., Velvizhi, G. & Mannem, D. L. B. Microbial Fuel Cells for Sustainable Bioenergy Generation: Principles and Perspective Applications. in p335-368 (2013).
52. Feng, Y. *et al.* Treatment of biodiesel production wastes with simultaneous electricity generation using a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* **102**, 411–415 (2011).
53. Tremouli, A., Antonopoulou, G., Bebelis, S. & Lyberatos, G. Operation and characterization of a microbial fuel cell fed with pretreated cheese whey at different organic loads. *Bioresour. Technol.* **131**, 380–389 (2013).
54. Chookaew, T., Prasertsan, P. & Ren, Z. J. Two-stage conversion of crude glycerol to energy using dark fermentation linked with microbial fuel cell or microbial electrolysis cell. *N. Biotechnol.* **31**, 179–184 (2014).
55. Wen, Q. *et al.* Electricity generation from synthetic penicillin wastewater in an air-cathode single chamber microbial fuel cell. *Chem. Eng. J.* **168**, 572–576 (2011).
56. Liu, R. *et al.* Biological treatment of steroidal drug industrial effluent and electricity generation in the microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **123**, 86–91 (2012).
57. Cao, Xian. Song, Hai-Liang. Yu, Chun-Yan. Li, X.-N. *Simultaneous degradation of toxic refractory organic pesticide and bioelectricity generation using a soil microbial fuel cell. Bioresource technology* vol. 189 (2015).
58. Velvizhi, G. & Venkata Mohan, S. Electrogenic activity and electron losses under increasing organic load of recalcitrant pharmaceutical wastewater. *Int. J. Hydrogen Energy* **37**, 5969–5978 (2012).
59. Bard, A. J. & Faulkner, L. R. *Electrochemical methods, fundamentals and applications. Journal of Chemical Education* vol. 60 (2009).
60. García Contreras, F. J. Minimización de la carga orgánica de efluentes municipales típicos empleando celdas de combustible microbianas. (INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL ESCUELA, 2016).
61. Zhao, F., Slade, R. C. T. & Varcoe, J. R. Techniques for the study and development of microbial fuel cells: an electrochemical perspective. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 1926–1939 (2009).

62. Pérez, T. Aplicación De La Técnica Espectroscopía De Impedancia Electroquímica (EIS) En El Estudio De La Corrosión Del Acero De Refuerzo Embebido En Concreto. *Programa De Corrosión Del Golfo De México* 29 (2002).
63. Skoog, D., Holler, F. & Crouch, S. *Espectroscopía atómica. Principios de análisis fundamental* (CENGAGE Learning, 2008).
64. Karthikeyan, R., Kumar, K. S., Murugesan, M., Berchmans, S. & Yegnaraman, V. *Bioelectrocatalysis of Acetobacter acetii and Gluconobacter roseus for Current Generation*. (2009).
65. Penteado, E. D. *et al.* Influence of sludge age on the performance of MFC treating winery wastewater. *Chemosphere* **151**, 163–170 (2016).
66. Faustini, M. *et al.* Hierarchically Structured Ultraporous Iridium-Based Materials : A Novel Catalyst Architecture for Proton Exchange Membrane Water Electrolyzers. *Adv. energy Mater.* **1802136**, 1–11 (2018).
67. Zhao, Y., Ma, Y., Li, T., Dong, Z. & Wang, Y. Modification of carbon felt anodes using double-oxidant HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for application in microbial fuel cells. *R. Soc. Chem.* **8**, 2059–2064 (2018).
68. INEGI. clima.  
<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/zac/territorio/clima.aspx?tema=me&e=32#:~:text=La temperatura media anual es,en el mes de enero.> (2019).
69. Plasco. Ficha Técnica Acrílico Plastiglas Propiedades Físicas Y Mecánicas. (2018).
70. Semiconductor Components Industries, L. Single Supply Quad Operational Amplifiers. 1–15 (2010).
71. Rismani-Yazdi, H. *et al.* Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **102**, 278–283 (2011).
72. Hong, Y., Call, D. F., Werner, C. M. & Logan, B. E. Adaptation to high current using low external resistances eliminates power overshoot in microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* **28**, 71–76 (2011).
73. Katuri, K. P., Scott, K., Head, I. M., Picioreanu, C. & Curtis, T. P. Microbial fuel cells meet with external resistance. *Bioresour. Technol.* **102**, 2758–2766 (2011).
74. Guimaraes, A. Q. & Linares, J. J. Glycerol Utilization in Microbial Fuel Cells:

- Conditioning Stage and Influence of the Glycerol Concentration. *J. Electrochem. Soc.* **161**, F125–F132 (2013).
75. NMX-AA-030/1-SCFI. Análisis De Agua - Medición De La Demanda Química De Oxígeno En Aguas Naturales, Residuales Y Residuales Tratadas. *Catálogo de normas mexicanas* vol. 1 18 (2012).
  76. Bard, A. J. & Faulkner, L. *Electrochemical Methods, Fundamental Applications. America* (JOHN WILEY & SONS, INC., 2001).
  77. Rkan, E. A., Arimi, Z. K., Hamsipur, M. S. & Aber, R. S. Electrochemical Determination of Celecoxib on a Graphene Based Carbon Ionic Liquid Electrode Modified with Gold Nanoparticles and Its Application to Pharmaceutical Analysis. *Anal. Sci.* **29**, (2013).
  78. Zhang, Y., Zhou, Y., Chen, S., You, Y. & Qiu, P. Analysis of the Overlapped Electrochemical Signals of Hydrochlorothiazide and Pyridoxine on the Ethylenediamine-Modified Glassy Carbon Electrode by Use of Chemometrics Methods. *Molecules* (2019).
  79. Rossi Salamanca-Neto, C. A., Pires Eisele, A. P., Gouveia Resta, V., Scremin, J. & Romão Sartori, E. Differential pulse voltammetric method for the individual and simultaneous determination of antihypertensive drug metoprolol and its association with hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage forms. *Sensors Actuators B. Chem.* (2016) doi:10.1016/j.snb.2016.02.071.
  80. Duan, H.-B., Cao, J.-T., Wang, H. & Liu, Y.-M. Determination of metoprolol tartrate and bisoprolol fumarate by capillary electrophoresis coupled with tris(2, 2'-bipyridyl)-ruthenium(II) electrochemiluminescence detection and study on interaction between the drugs and human serum albumin. *Anal. Methods* (2015) doi:10.1039/b000000x.
  81. Pires Eiselea, A. P. & Romão Sartoria, E. Simple and rapid determination of loratadine in pharmaceuticals using square-wave voltammetry and a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Anal. Methods* (2015) doi:10.1039/C5AY01804H.
  82. Soltani, N., Tavakkoli, N., Mosavimanesh, Z. S. & Davar, F. Comptes Rendus Chimie Electrochemical determination of naproxen in the presence of acetaminophen using a carbon paste electrode modified with activated carbon nanoparticles. *Comptes rendus - Chim.* **21**, 54–60 (2018).
  83. Khoshhesab, Z. M. Simultaneous electrochemical determination of acetaminophen, caffeine and ascorbic acid using a new electrochemical sensor based on CuO-graphene nanocomposite. *RSC Adv.* (2015) doi:10.1039/C5RA14138A.

84. Hadi, M. & Ehsani, A. Anodized Edge-plane Pyrolytic Graphite for Electroanalysis of Pantoprazole in Tablet Dosage Forms and Human Urine Samples. *S. Afr. J. Chem.* 79–87 (2016).
85. PLM, M. BENZONATATO Cápsulas. [https://www.medicamentosplm.com/Home/productos/benzonatato\\_capsulas\\_apotex/2655/101/52576/14?pathGeneral=&year=2020&UserCookieValidate=false](https://www.medicamentosplm.com/Home/productos/benzonatato_capsulas_apotex/2655/101/52576/14?pathGeneral=&year=2020&UserCookieValidate=false) (2020).
86. AEMPS. FICHA TÉCNICA Celebrex. (2005).
87. Anggraini, A. R. & Oliver, J. FICHA TÉCNICA Hidroclorotiazida. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1689–1699 (2019).
88. Nugroho, M. B. Ficha Técnica Loratadina. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1689–1699 (2013).
89. Anggraini, A. R. & Oliver, J. Ficha Técnica Metroprolol. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1689–1699 (2019).
90. Lázaro, L. Naproxeno Sódico. (2014).
91. AEMPS. Paracetamol. (2014).
92. Anggraini, A. R. & Oliver, J. Pantropazol. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1689–1699 (2019).
93. Hernandez-Jaimes, C. *et al.* Electrochemical characterization of gelatinized starch dispersions: Voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy on platinum surface. *Carbohydr. Polym.* **124**, 8–16 (2015).
94. Palencia, M. S. Estudio electroquímico de un biopolímero compuesto ppy / almidón de electrochemical study of composite biopolymer ppy / cassava starch Artículo Regular ( ASAP ). **36**, 26–35 (2016).
95. Sugano, Y., Latonen, R. M., Akieh-Pirkanniemi, M., Bobacka, J. & Ivaska, A. Electrocatalytic oxidation of cellulose at a gold electrode. *ChemSusChem* **7**, 2240–2247 (2014).
96. Druliolle, H., Kokoh, K. B. & Beden, B. Electro-oxidation of lactose on platinum and on modified platinum electrodes in alkaline medium. *Electrochim. Acta* **39**, 2577–2584 (1994).
97. Carolina, C. E. Celulosa. (2014).
98. Passalacqua, N. & Cabrera, J. *Microorganismos indicadores*. (INAL - ANMAT, 2014).

99. Epelboin, I. & Keddam, M. Faradaic Impedances: Diffusion Impedance and Reaction Impedance. *J. Electrochem. Soc.* **117**, 1052 (1970).
100. Lasia, A. *Electrochemical impedance spectroscopy and its applications. Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications* vol. 9781461489 (2014).
101. Díaz, R. de los A. J. & Pérez, C. M. R. Cultivo y crecimiento de los microorganismos. 45–54 (2016).
102. Lopez-isunza, F. & González-brambila, M. Transporte de masa y reacción en una biopelícula. *Rev. Mex. Ing. Química* **6**, 127–136 (2007).
103. Zou, R., Tang, K., Angelidaki, I., Andersen, H. R. & Zhang, Y. An innovative microbial electrochemical ultraviolet photolysis cell (MEUC) for efficient degradation of carbamazepine. *Water Res.* **187**, 116451 (2020).
104. Wang, W. *et al.* A microbial electro-fenton cell for removing carbamazepine in wastewater with electricity output. *Water Res.* **139**, 58–65 (2018).
105. Feng, Y. *et al.* Performance and microbial community of an electric biological integration reactor (EBIR) for treatment of wastewater containing ibuprofen. *Bioresour. Technol.* **274**, 447–458 (2019).
106. Mohapatra, D. P., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Picard, P. & Surampalli, R. Y. Carbamazepine in municipal wastewater and wastewater sludge: Ultrafast quantification by laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization coupled with tandem mass spectrometry. *Talanta* **99**, 247–255 (2012).
107. Sharma, Y., Parnas, R. & Li, B. Bioenergy production from glycerol in hydrogen producing bioreactors (HPBs) and microbial fuel cells (MFCs). *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 3853–3861 (2011).
108. Li, H. *et al.* Enhanced degradation of bisphenol A and ibuprofen by an up-flow microbial fuel cell-coupled constructed wetland and analysis of bacterial community structure. *Chemosphere* **217**, 599–608 (2019).
109. Xu, P., Zheng, D., Xie, Z., He, Q. & Yu, J. The degradation of ibuprofen in a novel microbial fuel cell with PANi@CNTs/SS bio-anode and CuInS<sub>2</sub> photocatalytic cathode: Property, efficiency and mechanism. *J. Clean. Prod.* **265**, 121872 (2020).
110. Geocities. Tratamiento biológico de aguas residuales. <http://www.geocities.org/edrochac/residuales/procesoslodos.htm> (2009).
111. Kim, J. R. *et al.* Increasing power recovery and organic removal efficiency



- using extended longitudinal tubular microbial fuel cell (MFC) reactors. *Energy Environ. Sci.* **4**, 459–465 (2011).
112. Behera, M. & Ghangrekar, M. M. Performance of microbial fuel cell in response to change in sludge loading rate at different anodic feed pH. *Bioresour. Technol.* **100**, 5114–5121 (2009).
  113. Wei, L., Yuan, Z., Cui, M., Han, H. & Shen, J. Study on electricity-generation characteristic of two-chambered microbial fuel cell in continuous flow mode. *Int. J. Hydrogen Energy* **37**, 1067–1073 (2012).
  114. Rodrigo, M. A., Cañizares, P., García, H., Linares, J. J. & Lobato, J. Study of the acclimation stage and of the effect of the biodegradability on the performance of a microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* **100**, 4704–4710 (2009).
  115. Chang, Y. T., Yang, C. W., Chang, Y. J., Chang, T. C. & Wei, D. J. The treatment of PPCP-containing sewage in an anoxic/aerobic reactor coupled with a novel design of solid plain graphite-plates microbial fuel cell. *Biomed Res. Int.* **2014**, (2014).
  116. Wen, Q. *et al.* Simultaneous processes of electricity generation and ceftriaxone sodium degradation in an air-cathode single chamber microbial fuel cell. *J. Power Sources* **196**, 2567–2572 (2011).
  117. Ismail, Z. Z. & Habeeb, A. A. Experimental and modeling study of simultaneous power generation and pharmaceutical wastewater treatment in microbial fuel cell based on mobilized biofilm bearers. *Renew. Energy* **101**, 1256–1265 (2017).
  118. Rashid, T. *et al.* Design and feasibility study of novel paraboloid graphite based microbial fuel cell for bioelectrogenesis and pharmaceutical wastewater treatment. *J. Environ. Chem. Eng.* 104502 (2020) doi:10.1016/j.jece.2020.104502.

## ANEXOS

### ANEXO I.

#### Código fuente del sistema de control

```
/* SD: 50 MISO, 51 MOSI, 52 SCK, 53 CS
 * RTC: SCL y SDA tienen nombre
 * STemp: onewire en pin 2
 * V: del A0 a A8
 * Indicadores: 3,4 y 5 leds
 *
 */

#include <SPI.h>
#include <SD.h>
#include <Wire.h>
#include <RTC.h>
#include <OneWire.h>
#include <DallasTemperature.h>

//Pines
const int LEDR = 11;
const int LEDA = 12;
const int PinV1 = A0;
const int PinV2 = A1;
const int PinV3 = A2;
const int PinV4 = A3;
const int PinV5 = A4;
const int PinV6 = A5;
const int PinV7 = A6;
const int PinV8 = A7;
const int PinV9 = A8;
const int PinTemperatura1 = 31;
const int PinTemperatura2 = 33;
const int PinTemperatura3 = 35;
const int PinTemperatura4 = 37;
const int PinTemperatura5 = 39;
const int PinTemperatura6 = 41;
const int PinTemperatura7 = 43;
const int PinTemperatura8 = 45;
const int PinTemperatura9 = 47;

//Configuraci3n
const int Periodo = 60;
const int Secs = 2;

//Variables
String Archivo;
int HaySD = 0;
float T1,T2,T3,T4,T5,T6,T7,T8,T9;
float V1,V2,V3,V4,V5,V6,V7,V8,V9;
int Guardado;
int Mostrado;
```

```

//Activaciones
RTC rtc(DST_ON);
OneWire oneWireT1(PinTemperatura1);
OneWire oneWireT2(PinTemperatura2);
OneWire oneWireT3(PinTemperatura3);
OneWire oneWireT4(PinTemperatura4);

OneWire oneWireT5(PinTemperatura5);
OneWire oneWireT6(PinTemperatura6);
OneWire oneWireT7(PinTemperatura7);
OneWire oneWireT8(PinTemperatura8);
OneWire oneWireT9(PinTemperatura9);

DallasTemperature sensorT1(&oneWireT1);
DallasTemperature sensorT2(&oneWireT2);
DallasTemperature sensorT3(&oneWireT3);
DallasTemperature sensorT4(&oneWireT4);
DallasTemperature sensorT5(&oneWireT5);
DallasTemperature sensorT6(&oneWireT6);
DallasTemperature sensorT7(&oneWireT7);
DallasTemperature sensorT8(&oneWireT8);
DallasTemperature sensorT9(&oneWireT9);

void setup() {

  pinMode(LED1, OUTPUT);
  pinMode(LED2, OUTPUT);

  pinMode(PinV1, INPUT);
  pinMode(PinV2, INPUT);
  pinMode(PinV3, INPUT);
  pinMode(PinV4, INPUT);
  pinMode(PinV5, INPUT);
  pinMode(PinV6, INPUT);
  pinMode(PinV7, INPUT);
  pinMode(PinV8, INPUT);
  pinMode(PinV9, INPUT);

  Serial.begin(9600);

  // Revisar si la sd estÃ¡ conectada
  if (!SD.begin()) {
    // No SD o fallo
    digitalWrite(LED1, HIGH);
  }

  //si SD
  digitalWrite(LED1, LOW);

  //Comprobar fecha y hora y crear nuevo nombre de archivo
  Data d = rtc.getData();
  Archivo = String(d.toString("m-d_H") + ".txt");

  //Crear archivo con encabezado
  File dataFile = SD.open(Archivo, FILE_WRITE);

  //Comprobar que hay archivo cargado
  if (dataFile) {
    dataFile.println(String("Registro iniciado en " + d.toString("d-m-Y
H:i:s")));
    dataFile.println("Fecha, hora, T1, V1, T2, V2, T3, V3, T4, V4, T5, V5, T6, V6, T7, V
7, T8, V8, T9, V9");
    dataFile.close();
    digitalWrite(LED1, LOW);
  }
}

```

```

}

//Fallo
else {
    digitalWrite(LED1, HIGH);
}

//Crear archivo con encabezado
//Iniciar sensores temperatura
sensorT1.begin();
sensorT2.begin();
sensorT3.begin();
sensorT4.begin();
sensorT5.begin();
sensorT6.begin();
sensorT7.begin();
sensorT8.begin();
sensorT9.begin();

}

void loop() {

    //Medir temperatura
    sensorT1.requestTemperatures();
    sensorT2.requestTemperatures();
    sensorT3.requestTemperatures();
    sensorT4.requestTemperatures();
    sensorT5.requestTemperatures();
    sensorT6.requestTemperatures();
    sensorT7.requestTemperatures();
    sensorT8.requestTemperatures();
    sensorT9.requestTemperatures();

    T1 = sensorT1.getTempCByIndex(0);
    T2 = sensorT2.getTempCByIndex(0);
    T3 = sensorT3.getTempCByIndex(0);
    T4 = sensorT4.getTempCByIndex(0);
    T5 = sensorT5.getTempCByIndex(0);
    T6 = sensorT6.getTempCByIndex(0);
    T7 = sensorT7.getTempCByIndex(0);
    T8 = sensorT8.getTempCByIndex(0);
    T9 = sensorT9.getTempCByIndex(0);

    //Leer voltajes en mV
    V1 = analogRead(PinV1)*4.8828125;
    V2 = analogRead(PinV2)*4.8828125;
    V3 = analogRead(PinV3)*4.8828125;
    V4 = analogRead(PinV4)*4.8828125;
    V5 = analogRead(PinV5)*4.8828125;
    V6 = analogRead(PinV6)*4.8828125;
    V7 = analogRead(PinV7)*4.8828125;
    V8 = analogRead(PinV8)*4.8828125;
    V9 = analogRead(PinV9)*4.8828125;

    //Comprobar hora actual
    Data d = rtc.getData();

    //Si hay coincidencia
    if ((d.minutes % Periodo) == 0){
        if (Guardado == 0){
            digitalWrite(LED1, HIGH);

            //Empezar cadena fecha y hora
            String Datos = String(d.toString("d-m-Y") + ", " +
                d.toString("H:i:s") + ",");

```

```

//Ensamblar cadena
Datos = String (Datos + String (T1,2) + "," + String (V1,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T2,2) + "," + String (V2,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T3,2) + "," + String (V3,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T4,2) + "," + String (V4,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T5,2) + "," + String (V5,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T6,2) + "," + String (V6,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T7,2) + "," + String (V7,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T8,2) + "," + String (V8,2) + ",");
Datos = String (Datos + String (T9,2) + "," + String (V9,2));

//Abrir archivo
File dataFile = SD.open(Archivo, FILE_WRITE);

//Comprobar acceso
if (dataFile) {
  dataFile.println(Datos);
  dataFile.close();
  Guardado = 1;
}
digitalWrite(LED1, LOW);
Serial.println("Datos guardados");
}
}
else {
  Guardado = 0;
}
}

if (((d.seconds % Secs) == 0) && ((d.minutes % Periodo) != 0)) {
  if (Mostrado == 0) {
    Serial.print(d.hour24h);
    Serial.print(":");
    Serial.print(d.minutes);
    Serial.print(":");
    Serial.print(d.seconds);
    Serial.print(" ");
    Serial.print(V1);
    Serial.print("mV ");
    Serial.print(T1);
    Serial.print("°C ");
    Serial.print(V2);
    Serial.print("mV ");
    Serial.print(T2);
    Serial.print("°C ");
    Serial.print(V3);
    Serial.print("mV ");
    Serial.print(T3);
    Serial.print("°C ");
  }
}

```

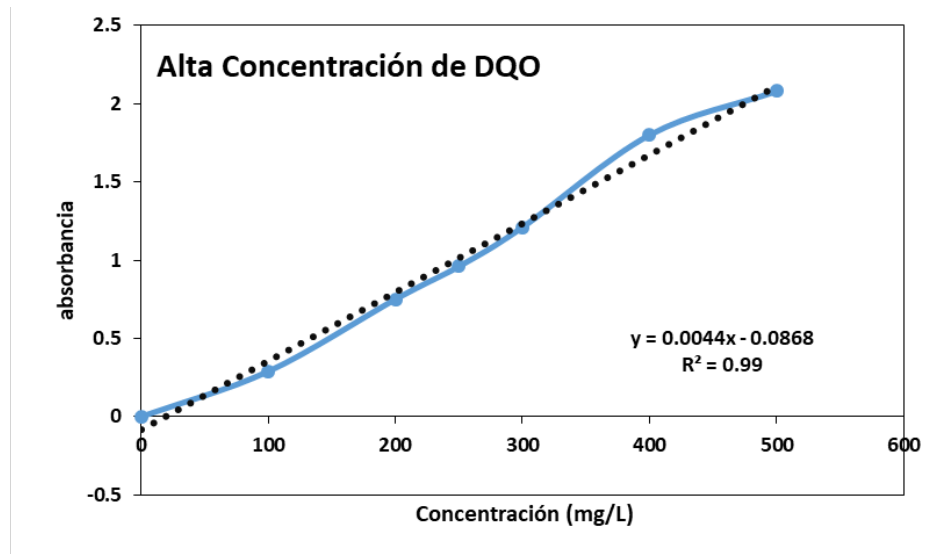
```

Serial.print(V4);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T4);
Serial.print("°C ");
Serial.print(V5);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T5);
Serial.print("°C ");
Serial.print(V6);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T6);
Serial.print("°C ");
Serial.print(V7);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T7);
Serial.print("°C ");
Serial.print(V8);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T8);
Serial.print("°C ");
Serial.print(V9);
Serial.print("mV ");
Serial.print(T9);
Serial.println("°C");
Mostrado = 1;
}
else{
Mostrado = 0;
}
}

```

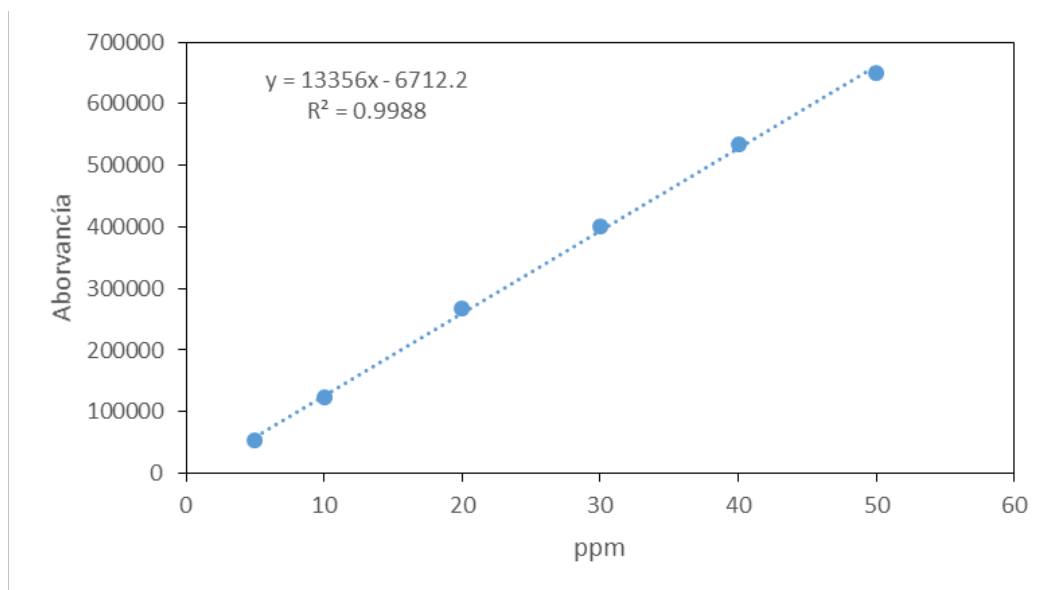
## ANEXO II

Curva de calibración para la determinación de DQO



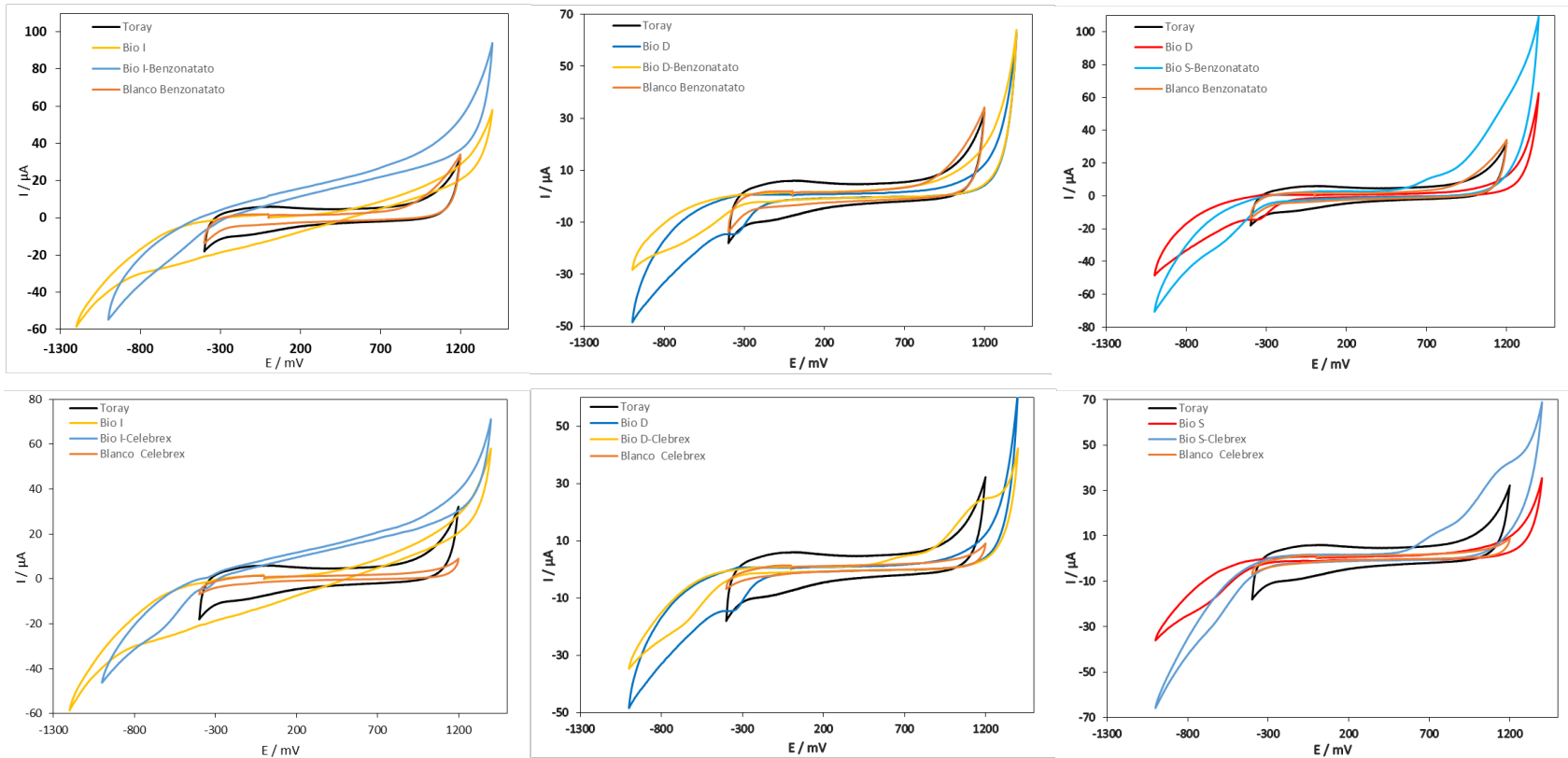
## ANEXO III

### Curva de calibración para la determinación de medicamentos

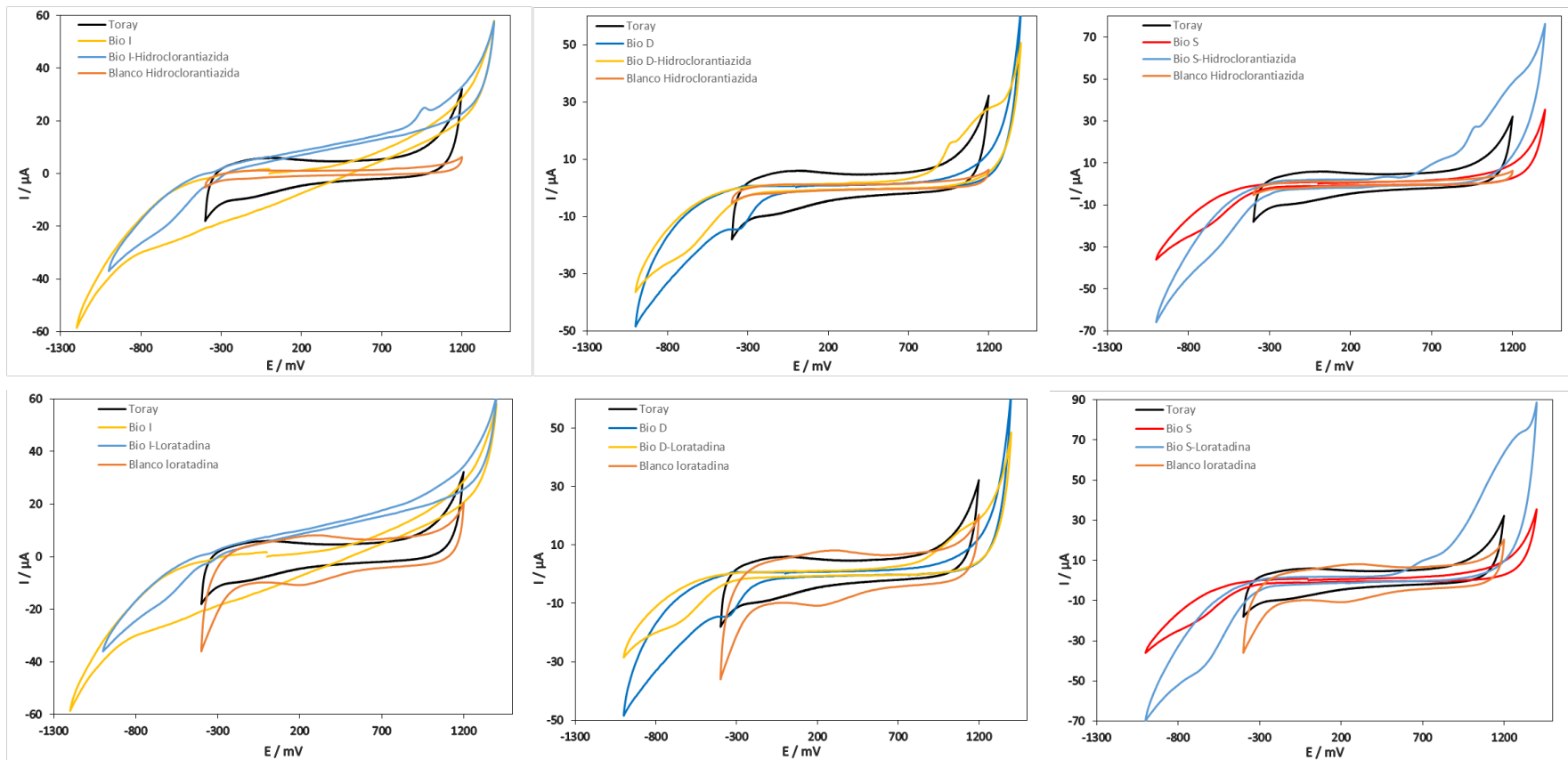


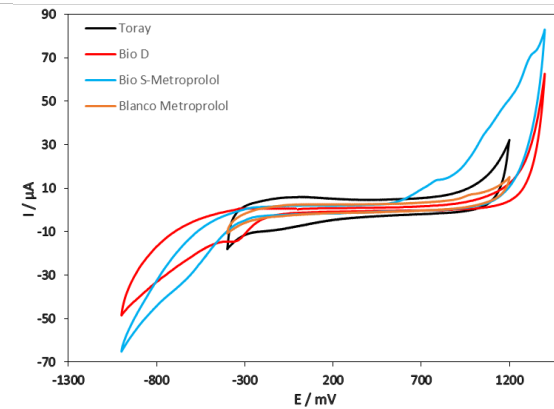
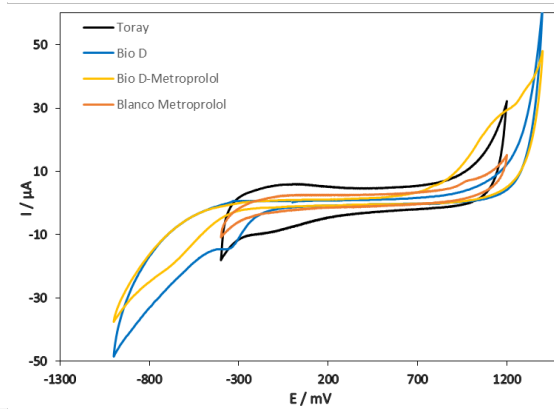
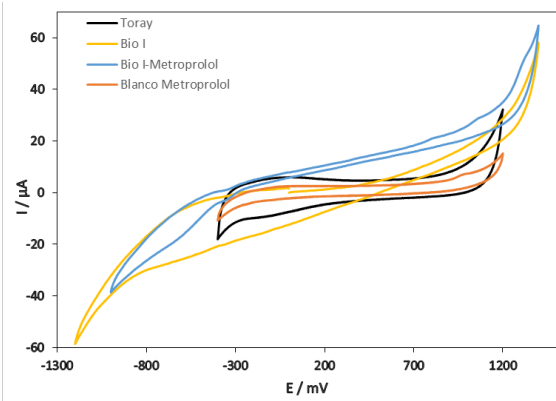
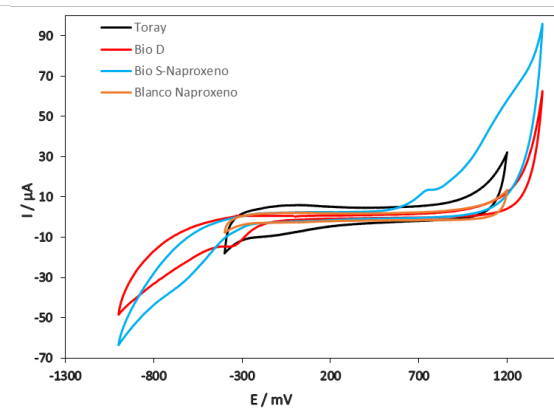
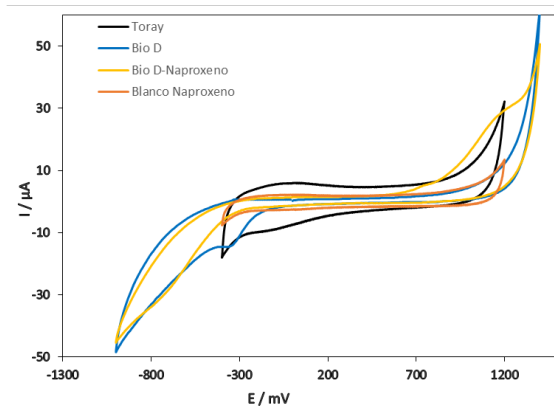
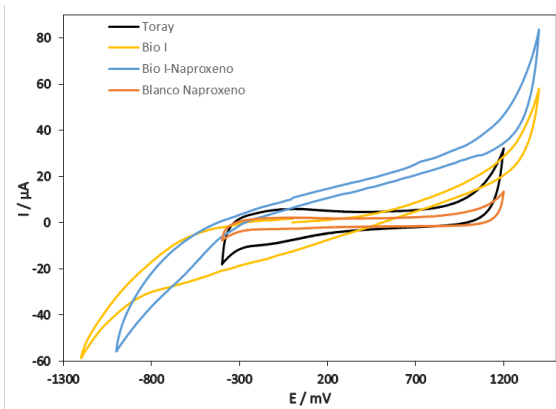
## ANEXO IV.

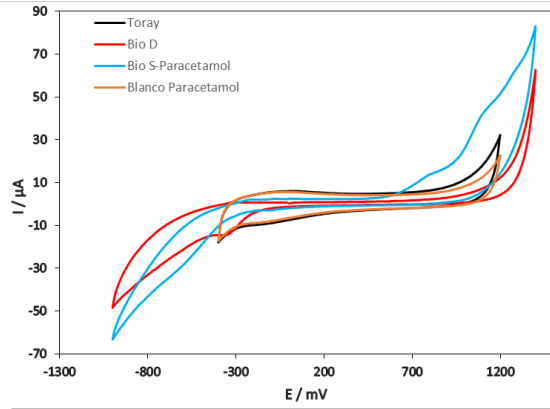
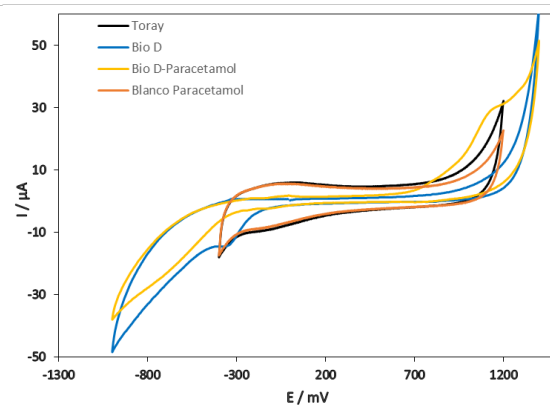
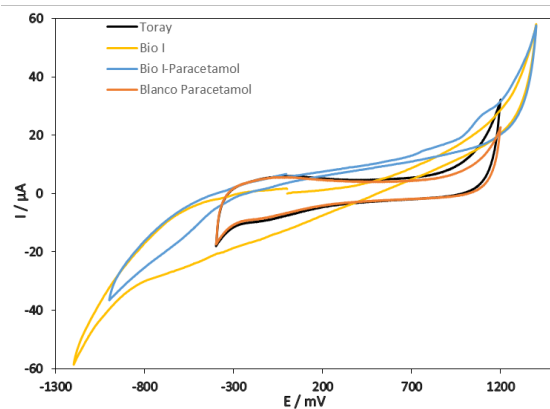
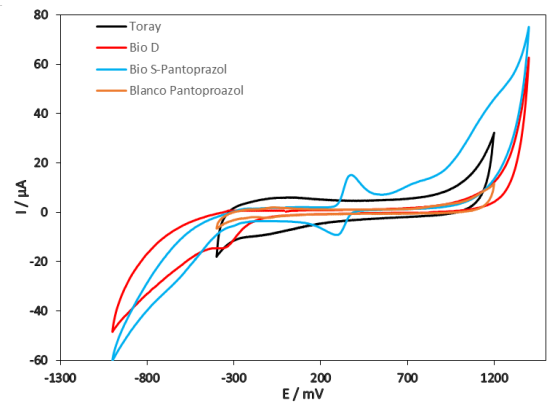
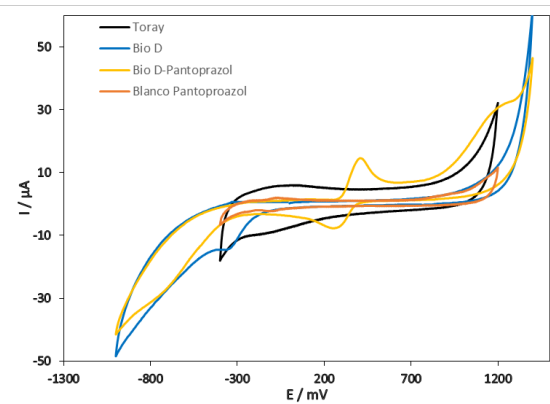
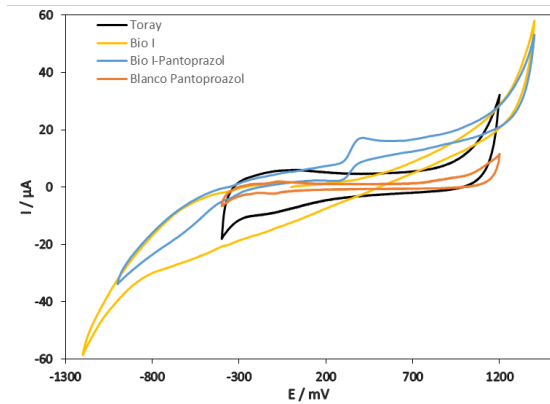
Voltamperometrías de los bioelectrodos Bio I, Bio D y Bio S con los medicamentos evaluados, Benzonatato, Celebrex, Hidroclorantiazida, Loratadina, Metroprolol, Naproxeno, Paracetamol y Pantoprazol.





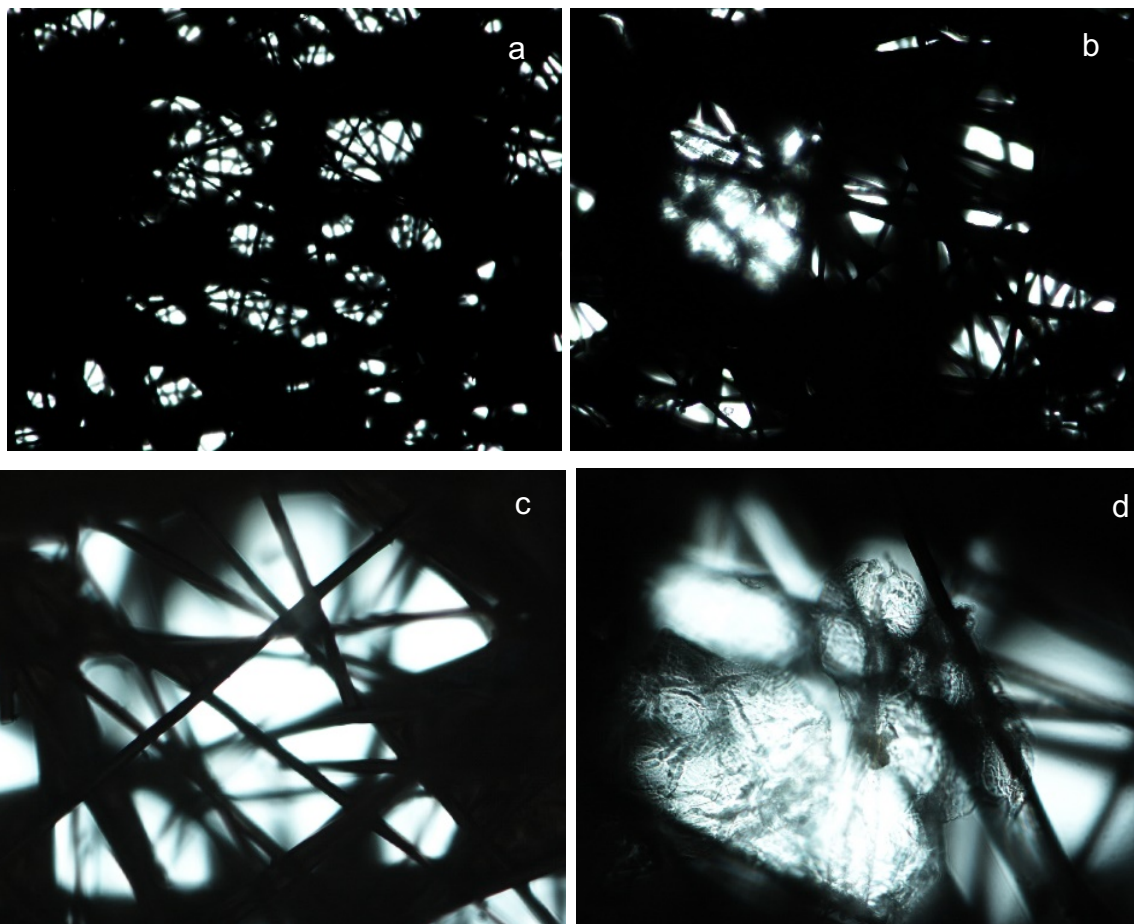






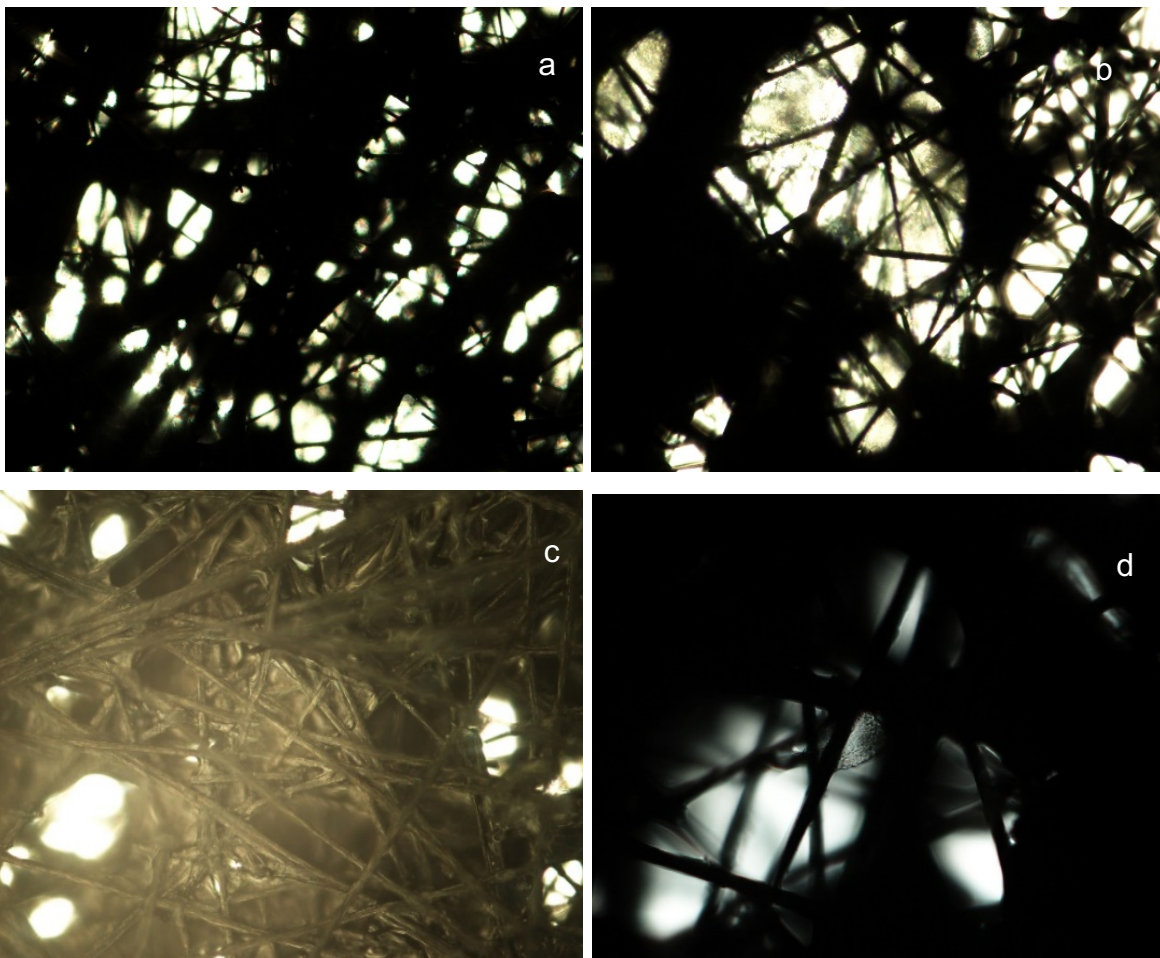
## ANEXO V

Micrografías del electrodo de papel Toray, a) Aumento 10X, b) Aumento 20X, c) aumento 20X, d) Aumento 40X.



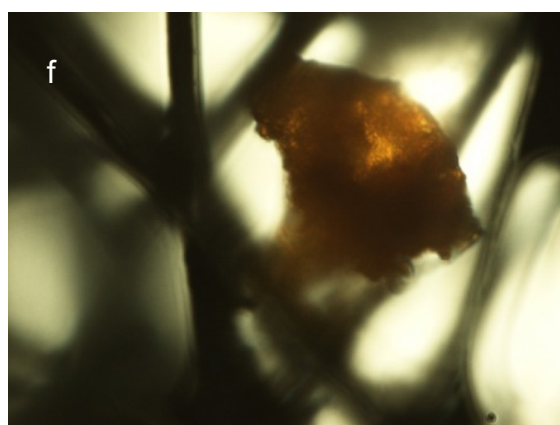
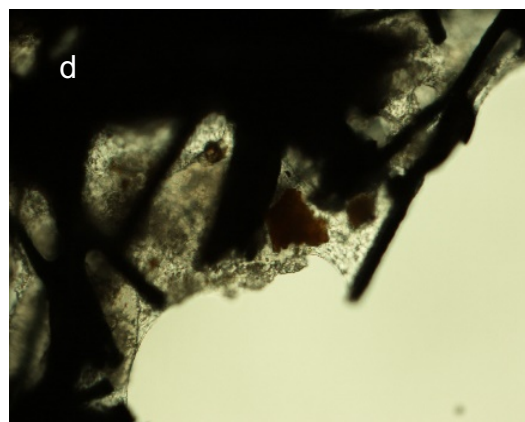
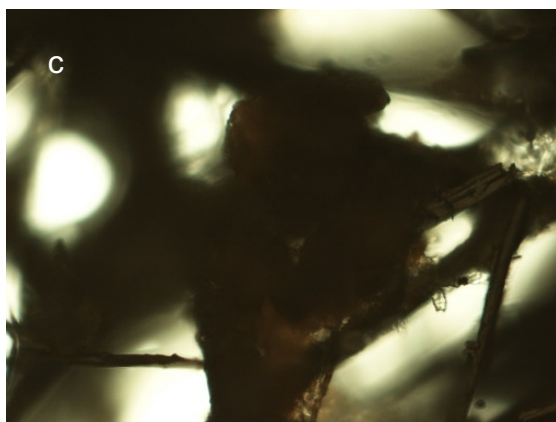
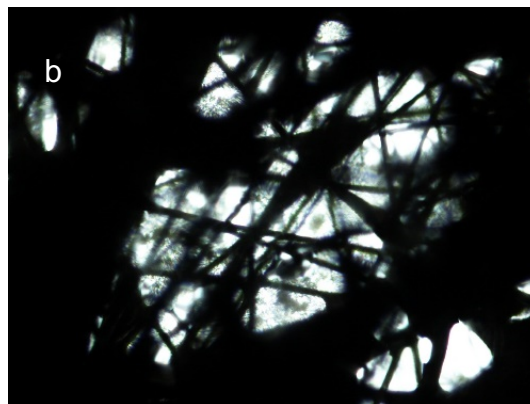
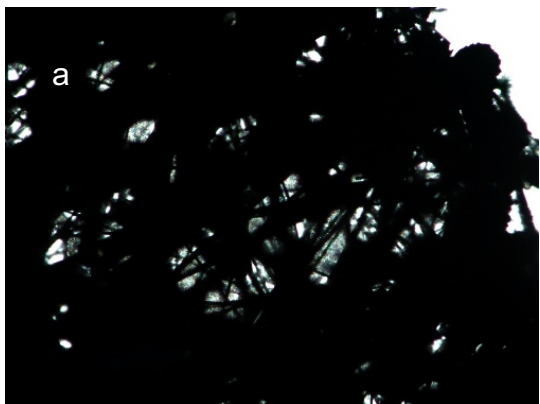
## ANEXO VI

Micrografías al bioelectrodo Bio D, a) aumento 10X, b) aumento 20X, c) aumento 20X, d) Aumento 40X.



## ANEXO VII

Micrografías del bioelectrodo Bio I a) aumento 10X, b) aumento 20X c) aumento 40X, d) aumento 40x, e) aumento 60x, f) aumento 100X.

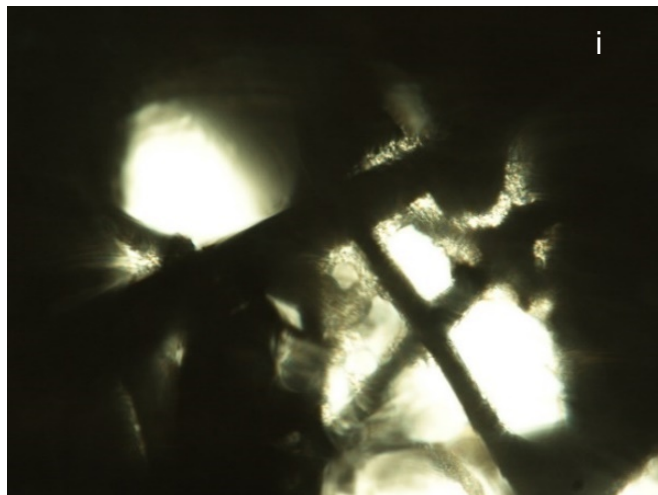
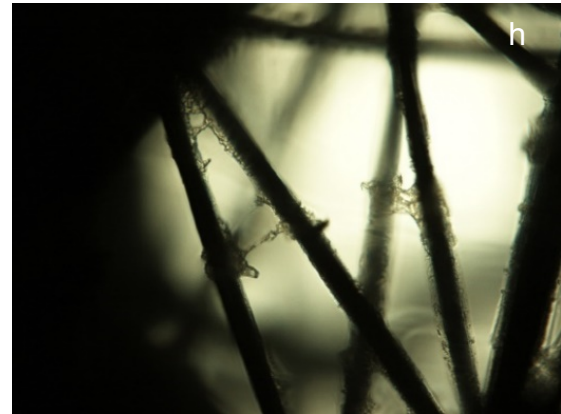
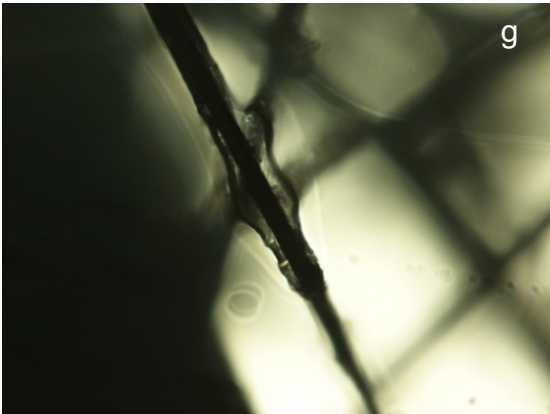
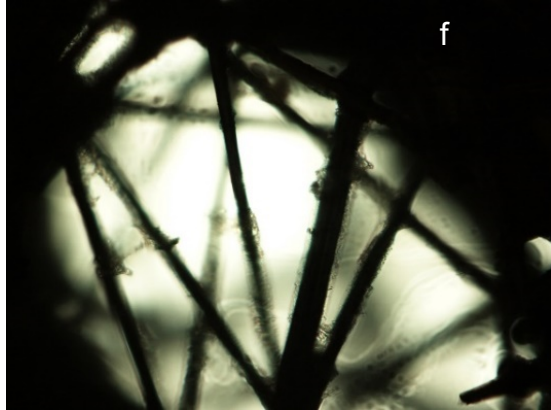
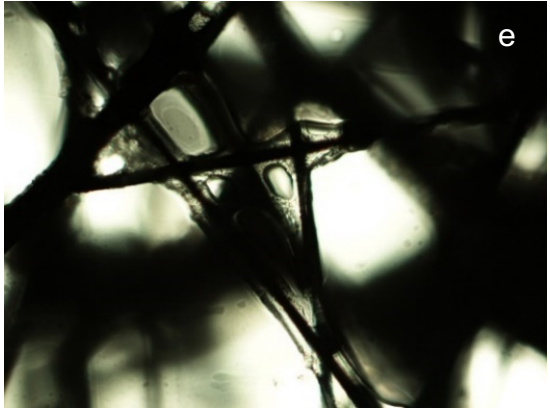




## ANEXO VIII

Micrografías de Bio S. a) aumento 10X, aumento b) aumento 20X, c) aumento 40X, d) aumento 40X, e) aumento 40X, f) aumento 40X, g) aumento 60X, h) aumento 60X, i) aumento 60X

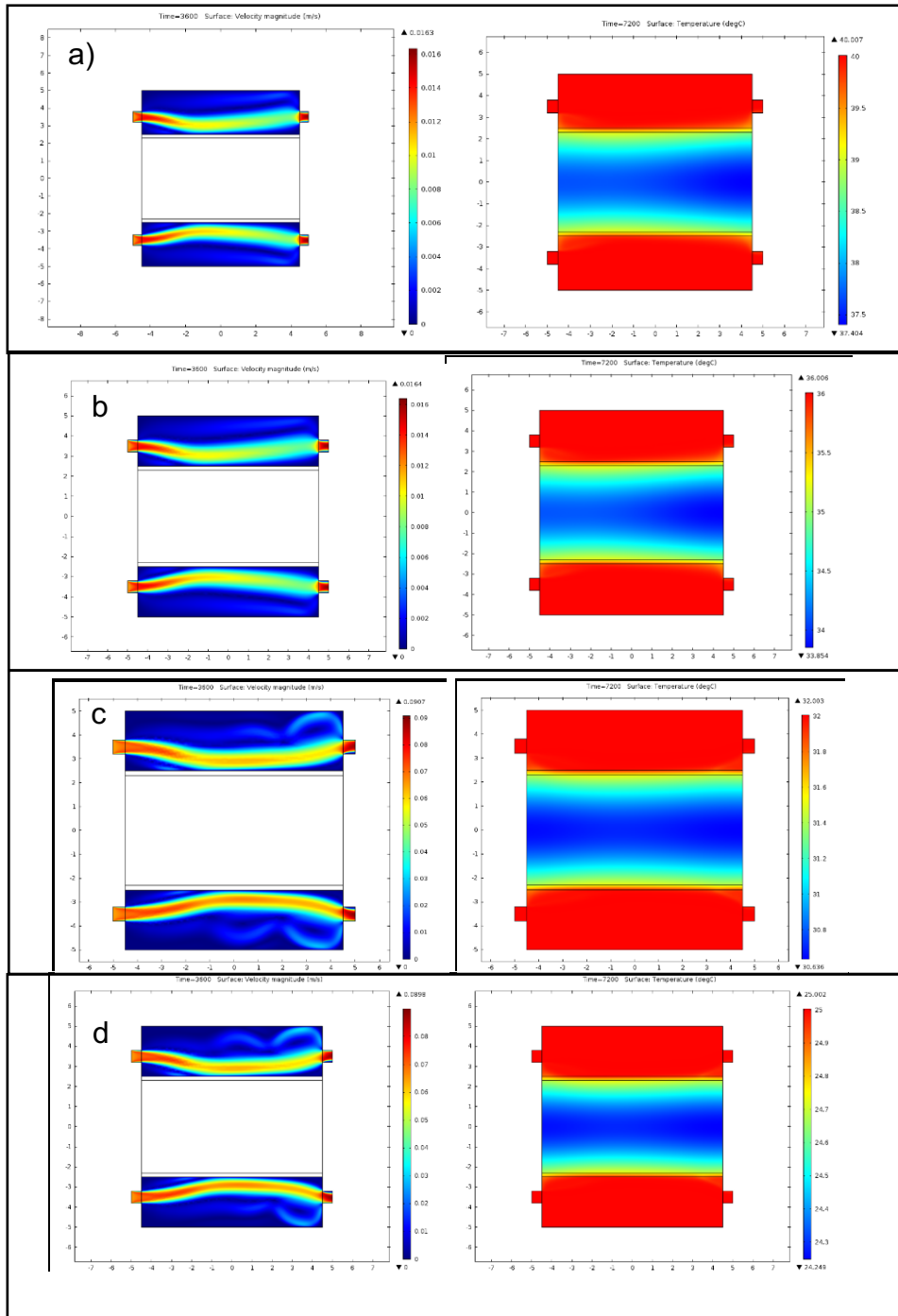






## ANEXO IX

Perfiles de flujo y temperatura una entrada y salida en paralelo, a) 40°C, b) 36°C, c) 32°C, d) 25°C.



# ANEXO X

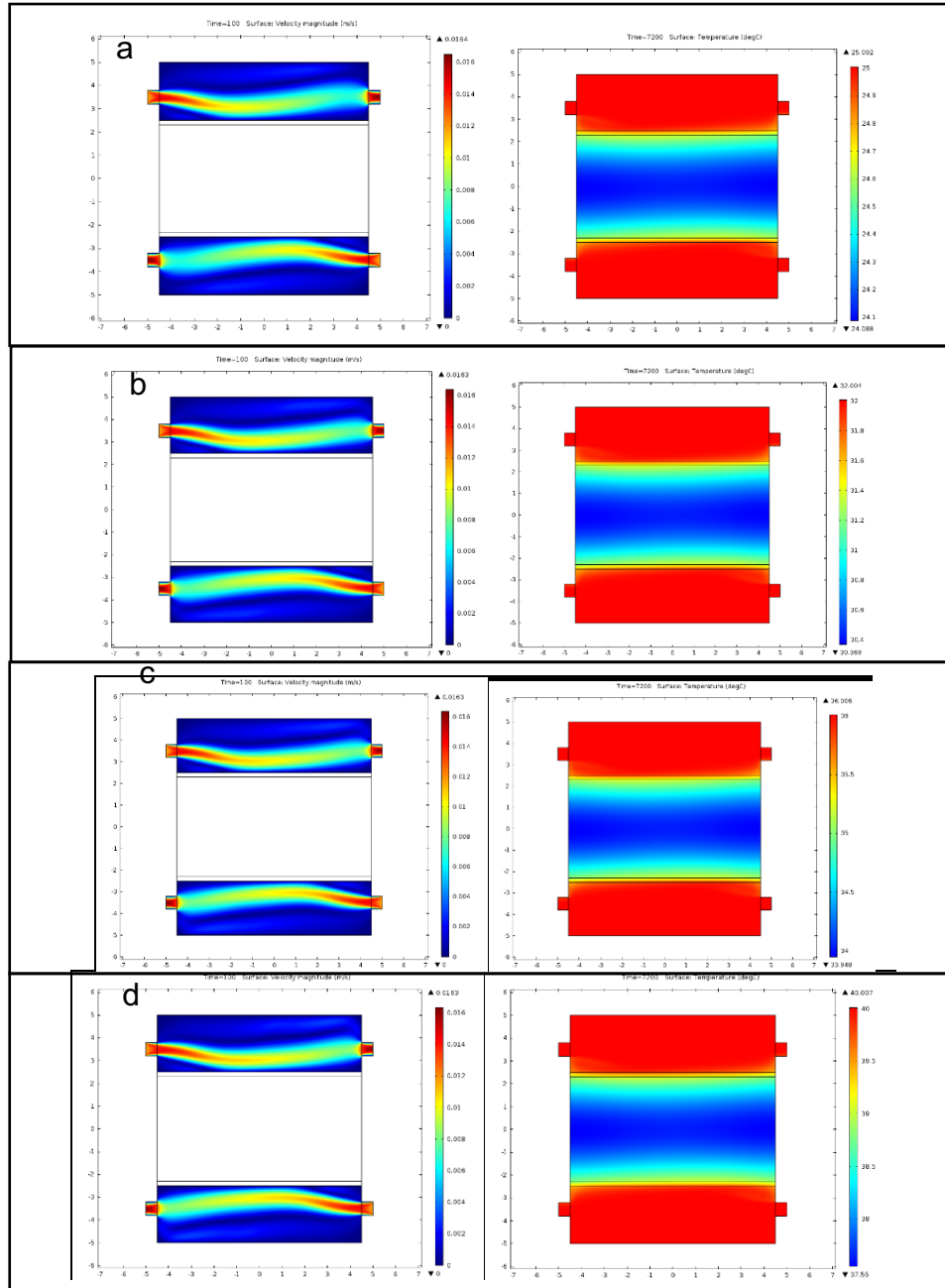


Figura 39. Perfiles de flujo y temperatura una entrada y salida en flujo cruzado, a) 40°C, b) 36°C, c) 32°C, d) 25°C.

# ANEXO XI

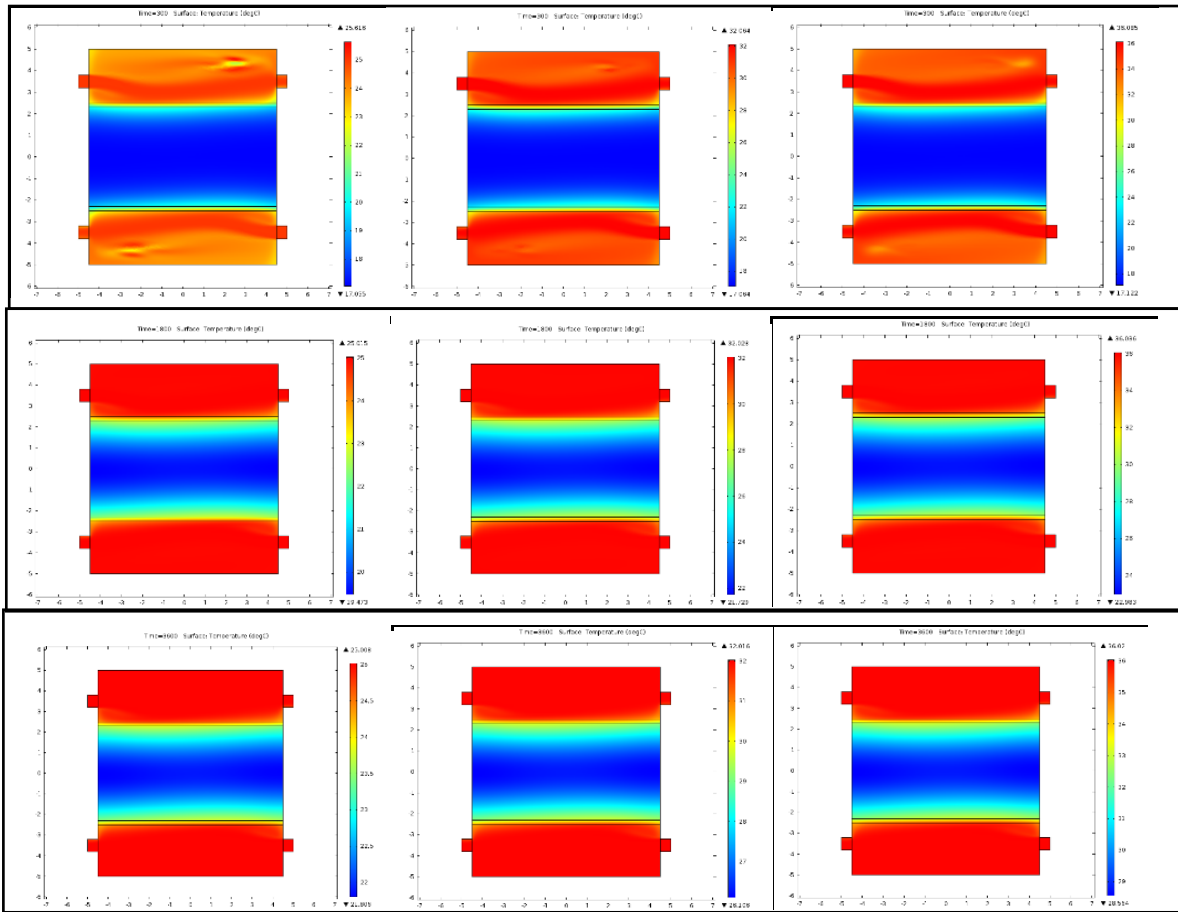


Figura 40. Perfiles de temperatura a contraflujo a diferentes tiempos y temperatura, a) 300s, b) 1800s, c) 3600s