

Información Suplementaria n°1

Modelo bioelectroquímico del cátodo de una celda de combustible microbiana

Discretización espacial de la ecuación de difusión-reacción. Condiciones de contorno

Usando el método de diferencias finitas centrales se construye una matriz Laplaciana para ambas coordenadas aplicando las aproximaciones que se muestran en las Ec. (38) y Ec. (39) del artículo. En Ec. (S1) y Ec. (S2) se muestran las matrices Laplacianas construidas por la coordenada x (L_x) y coordenada y (L_y) respectivamente.

$$[L_x] = \begin{pmatrix} -2 & 1 & & \\ 1 & -2 & 1 & \\ & \ddots & \ddots & \\ & 1 & -2 & 1 \\ & & 1 & -2 \end{pmatrix} \in M_{N_x \times N_x} \quad (S1)$$

$$[L_y] = \begin{pmatrix} -2 & 1 & & \\ 1 & -2 & 1 & \\ & \ddots & \ddots & \\ & 1 & -2 & 1 \\ & & 1 & -2 \end{pmatrix} \in M_{N_y \times N_y} \quad (S2)$$

Los operadores de una dimensión mostrados se pueden extender a dos dimensiones usando el tensor de Kronecker, generando así una matriz Laplaciana de dos dimensiones (A_Δ). El cálculo realizado se muestra en la Ec. (S3).

$$[A_\Delta] = \frac{1}{\Delta x^2} \cdot [L_x] \otimes [I_y] + [I_x] \otimes [L_y] \cdot \frac{1}{\Delta y^2} \in M_{N_x \times N_y} \quad (S3)$$

Donde I_x e I_y son las matrices identidad en la dimensión x e y respectivamente. Para la resolución del sistema, es necesario definir el vector de concentraciones en función del cálculo de Kronecker utilizado. En la Ec. (S4) se muestra como se ha definido el vector de concentraciones en el tiempo n (ϕ^n).

$$\phi^n = \begin{pmatrix} \phi_{1,1}^n \\ \phi_{1,2}^n \\ \vdots \\ \phi_{1,N_y}^n \\ \phi_{2,1}^n \\ \vdots \\ \phi_{2,N_y}^n \\ \vdots \\ \phi_{N_x,1}^n \\ \vdots \\ \phi_{N_x,N_y}^n \end{pmatrix} \quad (S4)$$

Entonces, la ecuación de difusión-reacción definida en al Ec. (1) se puede reescribir de forma matricial según la Ec. (S5), incorporando la discretización temporal y espacial.

$$(D_I - \psi \cdot [A_\Delta]) \cdot \phi^{n+1} = (D_I + \psi \cdot [A_\Delta]) \cdot \phi^n + R(\phi^n) \cdot \Delta t \quad (S5)$$

Donde D_I es una matriz identidad de dimensiones $M_{N_x \times N_y}$ y ψ es un vector con la misma estructura que ϕ^n donde cada elemento se define como $\psi_{i,j}^n$. En la Ec. (S6) se muestra cómo se calcula cada uno de los elementos.

$$\psi_{i,j}^n = \frac{\mathbb{D}_{i,j}^n \cdot \Delta t}{2} \quad (S6)$$

Donde $\mathbb{D}_{i,j}^n$ es el coeficiente de difusividad efectiva calculado mediante la Ec. (21) del artículo ($\text{m}^2 \text{h}^{-1}$).

Para resolver la Ec. (S5) en todo el dominio, es necesario incorporar las condiciones de contorno definidas previamente en el artículo (**Fig. S1**). En este caso, se definen cuatro tipos de condiciones de contorno.

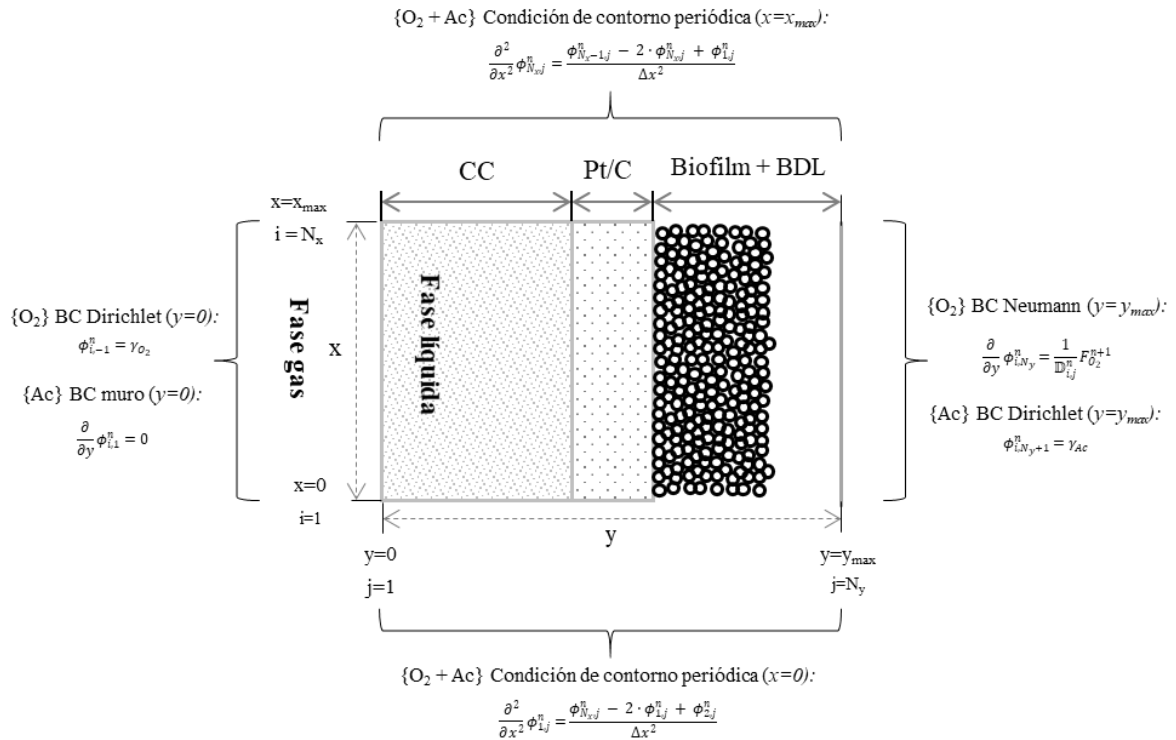


Fig. S1. Condiciones de contorno consideradas en este trabajo. {O₂} Indica que la condición de contorno se aplica únicamente al oxígeno; {Ac} indica que la condición de contorno se aplica únicamente al acetato y {O₂ + Ac} indica que la condición de contorno se aplica a ambas sustancias.

BC: Condición de contorno

1. Extremos de la coordenada x: se asume la condición de contorno periódica (*Periodic Boundary Condition*, PBC). Para implementar esta condición de contorno, la segunda derivada del primer y último nodo de la coordenada x se aproximan mediante las Ec. (S7) y Ec. (S8) respectivamente.

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \phi_{1,j}^n \approx \frac{\phi_{N_x,j}^n - 2 \cdot \phi_{1,j}^n + \phi_{2,j}^n}{\Delta x^2} \quad (S7)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \phi_{N_x,j}^n \approx \frac{\phi_{N_x-1,j}^n - 2 \cdot \phi_{N_x,j}^n + \phi_{1,j}^n}{\Delta x^2} \quad (S8)$$

2. Límite PTFE/CC (Oxígeno) y límite biopelícula/BL (Acetato): la concentración del oxígeno en el límite PTFE/CC se asume que es la de saturación. Mientras que la concentración del acetato en el límite biopelícula/*bulk liquid* se asume que es la del *bulk liquid*, la cual se va actualizando mediante el balance molar que se muestra en la Ec. (14). Ambas condiciones se modelizan implementando la condición de contorno de Dirichlet, en el cual se impone el valor de la concentración en el límite del sistema (γ). La segunda derivada en el límite PTFE/CC y en el límite biopelícula/*bulk liquid* se aproximan según las Ec. (S9) y Ec. (S10) respectivamente.

$$\frac{\partial^2}{\partial y^2} \phi_{i,1}^n \approx \frac{\gamma_{O_2} - 2 \cdot \phi_{i,1}^n + \phi_{i,2}^n}{\Delta y^2} \quad (S9)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial y^2} \phi_{i,N_y}^n \approx \frac{\phi_{i,N_y-1}^n - 2 \cdot \phi_{i,N_y}^n + \gamma_{Ac}}{\Delta y^2} \quad (S10)$$

3. Límite PTFE/CC (Acetato): debido a que la capa de PTFE es impermeable y no deja pasar el líquido, se asume un muro sólido en la interfaz entre la capa de PTFE y CC (tela de carbono). Por lo tanto, no hay transferencia de substratos a través del PTFE sino una acumulación. Este muro se modeliza mediante la condición de contorno *null* Neumann. Dicha condición se aproxima usando el método de diferencias finitas de primer orden para acoplarla a la matriz Laplaciana correspondiente (Ec. (S11)).

$$\frac{\partial}{\partial y} \phi_{i,1}^n \approx \frac{\phi_{i,2}^n - \phi_{i,1}^n}{\Delta y} = 0 \quad (S11)$$

4. Límite biopelícula/BL (Oxígeno): para la reducción de la carga computacional, se asume una condición de contorno Neumann para el oxígeno en el límite biopelícula/BL (*bulk liquid*). Para calcular el valor del flujo molar ($F_{O_2}^n$) se usa la primera ley de Fick, tal y como se muestra en la Ec. (13) del artículo. Dicha condición se aproxima usando el método de diferencias finitas de primer orden para acoplarla a la matriz Laplaciana correspondiente (Ec. (S12)).

$$\frac{\partial}{\partial y} \phi_{i,N_y}^n \approx \frac{\phi_{i,N_y}^n - \phi_{i,N_y-1}^n}{\Delta y} = \frac{1}{\mathbb{D}_{i,j}^n} F_{O_2}^n \quad (\text{S12})$$

Para implementar las condiciones de contorno descritas anteriormente, es necesario realizar modificaciones en las matrices Laplacianas de ambas coordenadas. La Ec. (S13) muestra la modificación de la Laplaciana de la coordenada x para ambos substratos (oxígeno y acetato). Las Ec. (S14) y Ec. (S15) muestran las modificaciones de las Laplacianas de la coordenada y para el oxígeno y el acetato respectivamente.

$$[L_x^*] = \begin{pmatrix} -2 & 1 & & 1 \\ 1 & -2 & 1 & \\ & \ddots & \ddots & \\ & 1 & -2 & 1 \\ 1 & & 1 & -2 \end{pmatrix} \in M_{N_x \times N_x} \quad (\text{S13})$$

$$[L_y^*] = \begin{pmatrix} -2 & 1 & & \\ 1 & -2 & 1 & \\ & \ddots & \ddots & \\ & 1 & -2 & 1 \\ & & 1 & -1 \end{pmatrix} \in M_{N_y \times N_y} \quad (\text{S14})$$

$$[L_y^*] = \begin{pmatrix} -1 & 1 & & \\ 1 & -2 & 1 & \\ & \ddots & \ddots & \\ & 1 & -2 & 1 \\ & & 1 & -2 \end{pmatrix} \in M_{N_y \times N_y} \quad (\text{S15})$$

La matriz Laplaciana modificada en dos dimensiones $[A_\Delta^*]$ se calcula según la Ec. (S3) utilizando debidamente $[L_x^*]$ y $[L_y^*]$. Para incluir la condición de contorno Dirichlet y Neumann en los nodos $N_{i,1}$ y N_{i,N_y} se define las matrices que se muestran en las Ec. (S16) y Ec. (S17) respectivamente. Igual que con la matriz Laplaciana, se usa el tensor de Kronecker para obtener la matriz de condición de contorno en dos dimensiones $[b_\Delta]$, mostrada en la Ec. (S18).

$$[b_y^B] = \begin{pmatrix} 1 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 \end{pmatrix} \in M_{N_y \times N_y} \quad (\text{S16})$$

$$[b_y^T] = \begin{pmatrix} 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 1 \end{pmatrix} \in M_{N_y \times N_y} \quad (\text{S17})$$

$$[b_\Delta] = 0_{N_x, N_x} \otimes [I_y] + [I_x] \otimes [b_y] \cdot \frac{1}{\Delta y^2} \in M_{N_x \times N_y} \quad (\text{S18})$$

Finalmente, la ecuación de difusión-reacción se reescribe incluyendo las condiciones de contorno impuestas en el sistema obteniendo la expresión de la Ec. (S19) para el oxígeno y la expresión de la Ec. (S20) para el acetato.

$$(D_I - \psi \cdot [A_{\Delta}^*]) \cdot \phi^{n+1} = (D_I + \psi \cdot [A_{\Delta}^*]) \cdot \phi^n + 2 \cdot \psi \cdot \gamma_{O_2} \cdot [b_{\Delta}^B] - 2 \cdot F_{O_2}^n \cdot [b_{\Delta}^T] \cdot dy + R(\phi^n) \cdot \Delta t \quad (S19)$$

$$(D_I - \psi \cdot [A_{\Delta}^*]) \cdot \phi^{n+1} = (D_I + \psi \cdot [A_{\Delta}^*]) \cdot \phi^n + 2 \cdot \psi \cdot \gamma_{Ac} \cdot [b_{\Delta}^T] + R(\phi^n) \cdot \Delta t \quad (S20)$$

Donde $[b_{\Delta}^B]$ es la matriz de condición de contorno para el interfaz entre la capa PTFE y la tela de carbono y $[b_{\Delta}^T]$ es la matriz de condición de contorno para el interfaz entre la biopelícula y el *bulk liquid*. A cada iteración del tiempo se resuelven las Ec. (S19) y Ec. (S20) calculando ϕ^{n+1} .

Para el balance de electrones se usa el mismo método comentado anteriormente. Por lo tanto, el balance de electrones (Ec. (18) del artículo) se reescribe incluyendo las condiciones de contorno impuestas obteniendo la expresión mostrada en la Ec. (S21).

$$[A_{\Delta}^*] \cdot \eta_{act}^{n+1} = -\gamma_{act} \cdot [b_{\Delta}^B] + \frac{F \cdot n}{\sigma_{eff}} \cdot r_{O_2,cat} \quad (S21)$$

Donde $[b_{\Delta}^B]$ es la matriz de condición de contorno para el interfaz entre la tela de carbono y el catalizador Pt/C.

Implementación de la “*matching condition*”

Para la explicación de la implementación de la “*matching condition*” se utiliza la nomenclatura que se muestra en la Fig. S2.

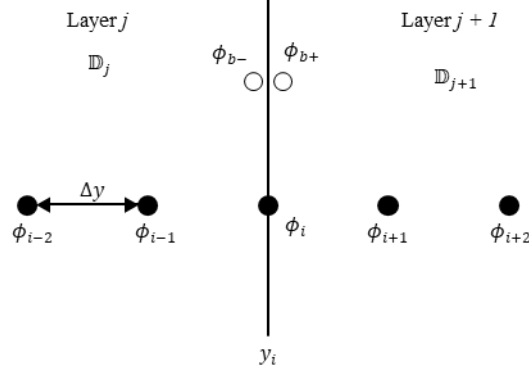


Fig. S2. Diagrama de los puntos de malla en la interfaz entre capas de materiales diferentes. La notación i indica el número del nodo; j indica la capa.

Al término de difusión del punto de la interfaz entre materiales (ϕ_i) se le aplica la aproximación diferencias finitas centrales, obteniendo la expresión que se muestra en la Ec. (S22).

$$\mathbb{D}_j \frac{\partial^2 \phi_i}{\partial y^2} = \frac{\mathbb{D}_{j+1} \frac{\partial \phi_{b+}}{\partial y} + \mathbb{D}_j \frac{\partial \phi_{b-}}{\partial y}}{\Delta y} \quad (\text{S22})$$

Aplicando el método de diferencias finitas *forward* y *backward* de primer orden en la Ec. (S22), para realizar la discretización espacial, se obtiene la expresión que se muestra en la Ec. (S23).

$$\frac{\partial}{\partial y} \left(\mathbb{D}_j \frac{\partial \phi_i}{\partial y} \right) = \frac{\mathbb{D}_{j+1} \frac{\phi_{i+1} - \phi_i}{\Delta y} + \mathbb{D}_j \frac{\phi_i - \phi_{i-1}}{\Delta y}}{\Delta y} = \frac{\mathbb{D}_{j+1} \phi_{i+1} - (\mathbb{D}_{j+1} + \mathbb{D}_j) \phi_i + \mathbb{D}_j \phi_{i-1}}{\Delta y^2} \quad (\text{S23})$$

Finalmente, la matriz Laplaciana que incorpora los coeficientes de difusión y la “*matching condition*” se muestra en la Ec. (S24).

$$\begin{pmatrix} \ddots & & & & & & \\ \dots & \mathbb{D}_j & -2\mathbb{D}_j & \mathbb{D}_j & 0 & 0 & \dots \\ \dots & 0 & \mathbb{D}_j & -\mathbb{D}_j - \mathbb{D}_{j+1} & \mathbb{D}_{j+1} & 0 & \dots \\ \dots & 0 & 0 & \mathbb{D}_{j+1} & -2\mathbb{D}_{j+1} & \mathbb{D}_{j+1} & \dots \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \vdots \\ \phi_{i-2} \\ \phi_{i-1} \\ \phi_i \\ \phi_{i+1} \\ \phi_{i+2} \\ \vdots \end{pmatrix} \quad (\text{S24})$$

Se aplica exactamente el mismo procedimiento y argumento en la “*matching condition*” de la conductividad eléctrica, substituyendo la difusividad efectiva (\mathbb{D}) por la conductividad efectiva en las ecuaciones y matrices mostradas en este documento.

Algoritmo de empuje entre las bacterias

Para entender mejor el algoritmo de empuje, en este apartado se realiza la explicación detallada de cómo funciona mediante imágenes. Primero, después de que una bacteria se divida, el algoritmo analiza todas las bacterias para comprobar si hay una superposición (*overlap*) de bacterias o no. En la **Fig. S3** se muestra un ejemplo de la nomenclatura utilizada en el artículo.

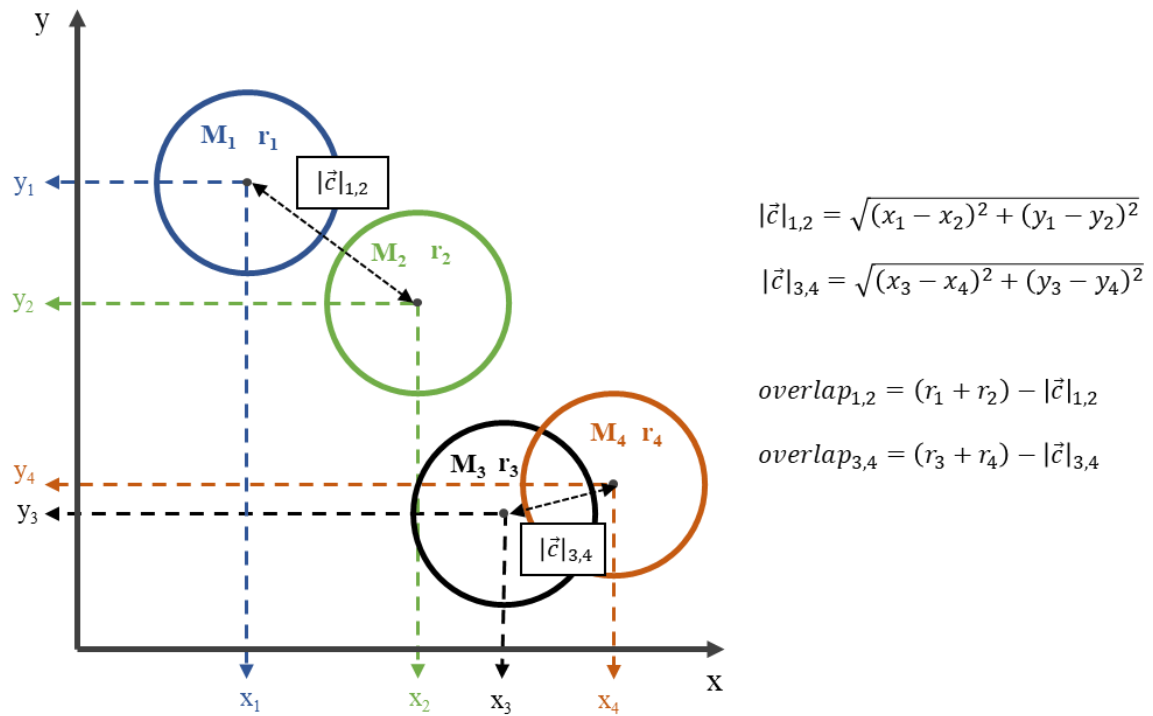


Fig. S3. Cálculo de superposición entre dos bacterias. x_i/y_i son la posición en la coordenada x y y de la bacteria i (m), M_i es la masa de la bacteria i (g), r_i es el radio de la bacteria i (m) y $|\vec{c}|_{i,j}$ es la distancia entre la bacteria i y la bacteria j (m).

Cuando dos bacterias no están superpuestas, como las bacterias 1 y 2 de la **Fig. S3**, el *overlap* será negativo ($overlap_{1,2} < 0$). En cambio, cuando dos bacterias están superpuestas, como las bacterias 3 y 4 de la **Fig. S3**, el *overlap* será positivo ($overlap_{3,4} > 0$). Si el valor de $overlap_{3,4}$ es mayor que el valor de superposición máximo fijado por el usuario ($overlap_{ref}$), las bacterias se “empujan”. Como mayor sea el valor de $overlap_{ref}$, se permitirá mayor superposición entre las bacterias.

Cuando el algoritmo detecta que hay dos bacterias superpuestas en la biopelícula ($overlap_{3,4} > overlap_{ref}$), se pone en marcha el algoritmo de empuje. Las nuevas posiciones de las bacterias dependen de la masa (a_m y a_{m+1}) y la posición local de estas, y el porcentaje de superposición “ p ” (Ec. (30) – Ec. (36) del artículo).

Estequiometria del metabolismo de las bacterias aerobias y anaerobias

El metabolismo de las bacterias se divide en tres procesos principales: catabolismo, anabolismo y muerte celular (*decay*). Cada uno de los procesos descritos se rigen por una estequiometria determinada. A continuación, se muestran ejemplos de estequiometrías para el catabolismo (Ec. (S25)), anabolismo (Ec. (S26)) y *decay* (Ec. (S27)):



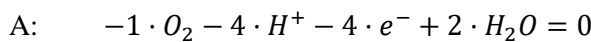
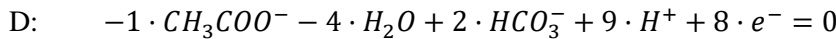
Donde eD es el donador de electrones, eA es el aceptador de electrones final, C_s es la fuente de carbono, N_s es la fuente de nitrógeno y X es la biomasa considerando que su fórmula promedio es $CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2}$.

La estequiometria del metabolismo (Met) se calcula mediante la Ec. (S28), la cual depende de la estequiometría del anabolismo (Ana), de la estequiometria del catabolismo (Cat) y del coeficiente de rendimiento biomasa/substrato ($Y_{X/S}$).

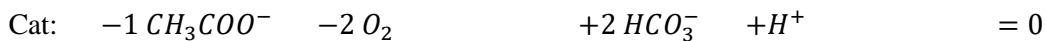
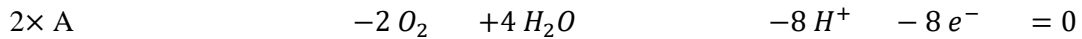
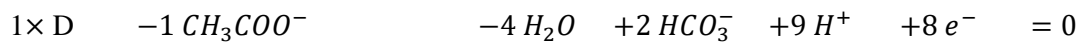
$$Met = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot Cat + Ana \quad (S28)$$

Para cada población de bacterias que tiene en cuenta el modelo (HAB y HAnB) se le define una estequiometria concreta. Para el cálculo de la estequiometria del catabolismo y anabolismo se sigue el método de cálculo de Kleerebezem y Van Loosdrecht (2010). A continuación, se muestra el procedimiento que se ha llevado a cabo para calcular la estequiometria catabólica y anabólica de las HAB.

Estequiometria del catabolismo de las HAB



$$\boxed{e_D^- / e_A^- = 8e^- / 4e^- = 2}$$



Estequiometria del anabolismo de las HAB

Fuente de carbono: Ac || Fuente de nitrógeno: NH_3

$$\text{An}^*: -0.5 \cdot CH_3COO^- - 0.2 \cdot NH_3 - 0.7 \cdot H^+ - 0.2 \cdot e^- + CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2} + 0.5 \cdot H_2O = 0$$

Dado que la formación de biomasa es una reacción demandante de electrones ($-0.2 \cdot e^-$) es necesario la incorporación de un donador de electrones externo (se asume que es el acetato):

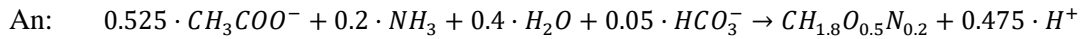
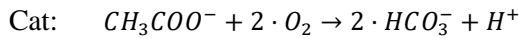
$$\text{D:} \quad -1 \cdot CH_3COO^- - 4 \cdot H_2O + 2 \cdot HCO_3^- + 9 \cdot H^+ + 8 \cdot e^- = 0 \quad \boxed{e_A^- / e_D^- = 0.2e^- / 8e^- = 0.025}$$

$$0.025 \times \text{D} \quad -0.025 CH_3COO^- \quad -0.1 H_2O \quad +0.05 HCO_3^- \quad +0.225 H^+ \quad +0.2 e^- = 0$$

$$1 \times \text{A} \quad -0.500 CH_3COO^- \quad -0.2 NH_3 \quad +0.5 H_2O \quad + CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2} \quad -0.7 H^+ \quad -0.2 e^- = 0$$

$$\text{An:} \quad -0.525 CH_3COO^- \quad -0.2 NH_3 \quad +0.4 H_2O \quad +0.05 HCO_3^- \quad -0.475 H^+ \quad + CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2} = 0$$

Reacciones del catabolismo y anabolismo de las HAB



Para las bacterias HAnB se ha seguido el mismo procedimiento que las HAB. Se asume que la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno y la fórmula promedio de la biomasa de las HAnB es la misma que las HAB. A continuación, se muestra las ecuaciones del catabolismo y anabolismo para las HAnB:

