



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

# **Modelo bioelectroquímico del cátodo de una celda de combustible microbiana**

**Eloi Martínez Rabert**

**MÁSTER EN INGENIERÍA BIOLÓGICA Y AMBIENTAL**

Directores: Juan Antonio Baeza Labat y Rebeca González Cabaleiro

*Enero 2019*

Este trabajo sigue las directrices indicadas en la guía de autor de la revista *Chemical Engineering Journal* ([Guía de autor CEJ](#)), exceptuando en el idioma. Este trabajo está redactado en castellano. Se ha utilizado un espacio interlineado sencillo para reducir el número de páginas. Se ha añadido un índice donde aparecen de forma ordenada los capítulos de este trabajo. En Información Adicional se encuentra documentos extras que permiten entender mejor el contenido del trabajo.

# Índice

<i>Highlights</i> .....	1
Resumen .....	1
1. Introducción .....	2
2. Métodos.....	4
2.1. Configuración y operación del sistema .....	4
2.2. Estructura del cátodo.....	5
2.3. Suposiciones del modelo.....	6
2.4. Formulación del modelo.....	6
2.4.1. Balance de materia .....	6
2.4.2. Modelo del balance de electrones .....	9
2.4.3. Modelo de la biopelícula. <i>Individual-based Model</i> .....	11
2.4.4. Método de cálculo, algoritmo y parámetros utilizados .....	14
3. Resultados y discusión .....	18
3.1. Validación del modelo .....	18
3.2. <i>Efecto barrera</i> al oxígeno de la biopelícula catódica.....	19
3.3. Efecto de la respiración endógena de las HAB .....	22
3.4. Análisis de la biopelícula del cátodo.....	24
4. Conclusiones .....	27
5. Trabajo futuro.....	27
Agradecimientos .....	28
Información adicional .....	29
Referencias.....	29

## Highlights

- Implementación del *Individual-based Model* para la simulación de la biopelícula
- Estudio del efecto barrera al oxígeno que produce la biopelícula
- Análisis de la estratificación de la biopelícula final del cátodo
- Los resultados se ajustan correctamente a los perfiles de oxígeno experimentales
- El efecto barrera al oxígeno de la biopelícula catódica es clave para las SC-MFC

## Resumen

La celda de combustible microbiana de cámara única (SC-MFC) genera electricidad gracias al consumo de la materia orgánica. En estos sistemas, el ánodo sólido actúa de aceptador de electrones que proviene de la oxidación de la materia orgánica. Se produce un flujo de electrones del ánodo al cátodo, donde tiene lugar la reducción química del oxígeno. Si la difusión del oxígeno del cátodo llega al ánodo se reduce la eficiencia de todo el sistema. La fijación de bacterias heterotróficas en la superficie del cátodo es por lo tanto necesario, ya que prevé la intrusión del oxígeno al ánodo. Como objetivo de este trabajo, se estudia el efecto barrera del oxígeno y el mecanismo de estratificación de la biopelícula catódica de una SC-MFC. Se usa un modelo matemático del cátodo expuesto al aire de una SC-MFC para simular la difusión de oxígeno a través de las distintas capas del cátodo. Se incorpora un modelo a nivel de microescala para analizar la heterogeneidad del biofilm catódico. Los resultados de la simulación predicen que con un mínimo de biofilm en el cátodo ( $\sim 4 \mu\text{m}$ ) es suficiente para mantener la concentración de oxígeno por debajo de  $0.15 \text{ mg L}^{-1}$ . Además, la actividad endógena de las bacterias ayuda al efecto barrera sobre el oxígeno. Aunque la fuente de carbono se agote, el efecto barrera persiste durante 30 horas más. El análisis de la actividad de la biopelícula revela competición por la fuente de carbono entre las bacterias aeróbicas y anaeróbicas cuando hay poca presencia de oxígeno en la biopelícula. Esto puede reducir el efecto barrera al oxígeno y reducir la eficiencia del sistema.

*Keywords:* Microbial fuel cell, cathodic biofilm growth, stratification, individual-based model, oxygen barrier, computational simulation

## 1. Introducción

En los últimos años se ha visto un aumento en el interés por las celdas de combustible microbianas (conocidas como *Microbial Fuel Cell*, MFC) debido a la posibilidad de tratar aguas residuales y producir electricidad simultáneamente. Aun así, la limitada eficiencia de estos sistemas y su elevado coste debido a la necesidad de utilizar catalizadores y membranas para construirlas reduce su aplicación a gran escala y viabilidad económica.

Una MFC (**Fig. 1, a**) es un sistema bioelectroquímico (*bioelectrochemical system*, BES) que permite la producción de electricidad mediante la actividad de bacterias situadas en el ánodo, conocidas como bacterias ánodo-respiradoras (*anode respiring bacteria*, ARB). Dichas bacterias tienen la capacidad de oxidar la materia orgánica y transferir los electrones exógenamente a un ánodo sólido. El mecanismo de transferencia exoelectrógena aún no está totalmente establecido, pero en trabajos anteriores se han visto indicios de que se puede realizar mediante compuestos intermediarios o *carriers* producidos por las ARB [1] o mediante *nanowires* sintetizados por las mismas [2]. Es imprescindible que las condiciones del ánodo sean anaerobias para la proliferación de las ARB. Los electrones generados en el ánodo son conducidos hacia el cátodo, donde se produce una reducción de oxígeno disuelto mediante un catalizador metálico, como el platino. Los electrodos del sistema pueden estar separados por una membrana para minimizar la penetración de oxígeno en el ánodo.

El rendimiento se ve influenciado por el diseño del equipo y los parámetros operacionales. La eficiencia coulombica (CE, %) es el parámetro empleado para calcular el rendimiento de estos equipos y se define como la relación entre el número de culombios medido en el circuito eléctrico y los culombios teóricos que podrían ser generados si todo el sustrato es consumido por las ARB. Bajos valores de CE indican baja eficiencia del sistema que puede ser debida a pérdidas eléctricas a través del sistema y/o a que una gran parte de sustrato es consumido por otras bacterias que no son ARB [3].

Existe una gran variedad de arquitecturas de MFC, cada una con sus ventajas y desventajas. El sistema en el que se centra este trabajo es el *air-cathode microbial fuel cell* (AC-MFC) de una sola cámara. En la **Fig. 1, b** se muestra una imagen de una AC-MFC. Como indica su nombre, el cátodo del sistema está directamente expuesto al aire evitando de este modo la necesidad de inyectar oxígeno. En esta configuración se elimina la membrana que separa los electrodos, reduciendo así los costes del equipo y la resistencia interna del sistema [4]. En el cátodo de las AC-MFC se genera una biopelícula que oxida la materia orgánica disuelta en el agua. En un principio se puede pensar que la eliminación de esta biopelícula supondría una mejora de la CE, ya que la fuente de carbono no será consumida por las bacterias heterótrofas de dicha biopelícula. Sin embargo, se han visto en trabajos previos que la eliminación de la biopelícula del cátodo

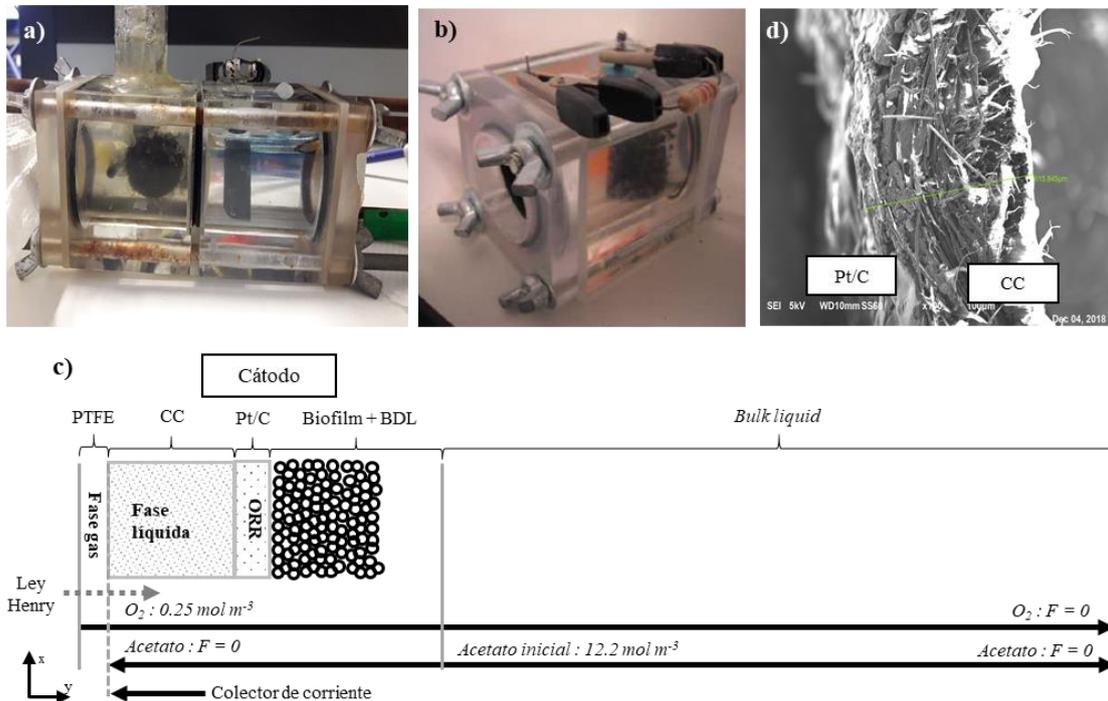
supone una reducción de la CE de la MFC. Esto se le atribuye al *efecto barrera* que genera la biopelícula del cátodo, minimizando la llegada de oxígeno al ánodo. También cabe la posibilidad que las bacterias que se unen al cátodo generen un efecto biocatalizador a la reacción electroquímica de reducción de oxígeno que se produce en el electrodo [5,6].

Los sistemas bioelectroquímicos (BES) son sistemas complejos y su rendimiento depende de factores biológicos, fisicoquímicos y electroquímicos. Para mejorar la productividad de las MFC se pueden realizar estudios experimentales centrándose en ciertos parámetros operacionales y/o de diseño. Pero este enfoque supone un coste económico y de tiempo elevado. La aplicación de modelos matemáticos para la simulación de sistemas bioelectroquímicos (junto a resultados experimentales para validar el modelo en situaciones controladas) permite realizar estudios de funcionamiento y optimización de forma más eficiente. Además, permite el estudio en detalle de mecanismos concretos que se generan dentro del sistema, como la formación de biopelícula en el electrodo o el funcionamiento de la membrana que separa los electrodos. En la bibliografía se pueden encontrar varios modelos matemáticos de sistemas bioelectroquímicos. El primer modelo de una BES, propuesto por Zhang y Halme [7], únicamente simulaba el consumo de sustratos por una especie bacteriana en función del tiempo, sin tener en cuenta la dimensión espacial. La adquisición de nuevos conocimientos sobre los BES y las mejoras computacionales han permitido aumentar la complejidad y funcionalidad de estos modelos, llegando a la implementación de inteligencia artificial y redes neuronales para incorporar el *auto-aprendizaje* en el modelo matemático [8].

El modelado de BES requiere incluir modelos de crecimiento de la biomasa en la película que se forma en el ánodo y/o cátodo. Estas poblaciones microbianas son complejas y que diferentes especies colaboran y compitan por los recursos disponibles. Se han desarrollado diferentes modelos para la descripción de biopelículas, como son los modelos a nivel poblacional (*Poblacional Level Model*, PLM) y a nivel individual (*Individual based Model*, IbM). Los primeros permiten una descripción general de las diferentes poblaciones que constituyen la biopelícula. En cambio, un IbM describe el comportamiento de cada individuo que forma parte de una población. Cada uno de los individuos actúa como un micro-reactor que crece y se divide en función de las condiciones locales. Este enfoque permite describir e interpretar la heterogeneidad de la población y con ello los mecanismos de estratificación de una biopelícula, el estudio de las condiciones de operación necesarias para obtener una estratificación deseada y las dinámicas de competición y colaboración que se generan entre los diferentes individuos de la población.

En este trabajo se desarrolla un modelo del cátodo expuesto en el aire de una AC-MFC para estudiar el *efecto barrera* que genera la biopelícula del cátodo sobre el oxígeno tanto en presencia como ausencia de una fuente de carbono (acetato). Se implementa IbM para modelar la

biopelícula del cátodo para analizar la heterogeneidad y estructura de la biopelícula. También se estudia el impacto que producen las distintas distribuciones de las distintas bacterias en el *efecto barrera* al oxígeno.



**Fig. 1.** a) Configuración a escala laboratorio de una MFC de doble cámara b) Configuración a escala laboratorio de un AC-MFC c) Esquema de las regiones, condiciones iniciales y condiciones de contorno del modelo. BDL: *Boundary Diffusion Layer*. CC: *Carbon Cloth* - tela de carbono. d) Imagen de la micrografía electrónica de barrido del cátodo.

## 2. Métodos

### 2.1. Configuración y operación del sistema

El modelo de este trabajo se basa en el sistema AC-MFC de Montpart *et al.* [6]. Consiste en un AC-MFC (Fig. 1, b) de cuerpo cilíndrico de metacrilato con una abertura lateral de 3.8 cm de diámetro, donde la capa de PTFE permite la difusión de oxígeno en el cátodo sin fugas de líquido. El ánodo (PANEX33 160 K, ZOLTEK) es un cepillo de fibra de grafito (20 mm de diámetro x 33 mm de longitud) constituidas por fibras de 7.2  $\mu\text{m}$  de diámetro. El cátodo consiste en una capa de grafito cubierta de platino por la parte interna (5 mg Pt  $\text{cm}^{-2}$ , ElectroChem Inc.). Ambos electrodos se encuentran separados a 2.5 cm sin ninguna separación física y están conectados con una resistencia externa de 1000  $\Omega$ . En todos los experimentos que se realizaron el reactor opera con acetato de sodio como única fuente de carbono con una concentración inicial de 1 g  $\text{L}^{-1}$ .

Antes de poner en marcha el reactor se realiza un tratamiento térmico previo a los electrodos a 450°C durante 30 minutos para mejorar la adhesión de la biomasa y, posteriormente,

se realiza la bioaumentación con un inóculo que proviene de un AC-MFC ya en funcionamiento. Durante el proceso de inoculación se realiza un seguimiento del voltaje del sistema utilizando una voltamperometría cíclica para saber cuándo finaliza la formación de la biopelícula. Cuando el perfil de la voltamperometría es constante, indica que las biopelículas de los electrodos ya se han generado.

### 2.2. Estructura del cátodo

El diseño y la arquitectura del cátodo tiene un impacto significativo en el rendimiento de las MFC. Concretamente, en las AC-MFC, el cátodo está compuesto por varias capas de diferentes materiales para así poder aumentar la potencia eléctrica generada, la eficiencia coulombica y la estabilidad del sistema. Empezando por el lado que está en contacto con el aire, el cátodo está compuesto por:

1. **Una capa hidrofóbica de politetrafluoroetileno (PTFE):** esta capa permite la entrada de aire al sistema, pero retiene la salida de líquido.
2. **Una tela de carbono:** está formada por fibras entrelazadas. Esta tela de carbono tiene una doble funcionalidad: permite la disolución del oxígeno gas en el agua para que esté disponible en la reacción de reducción del catalizador de Pt/C, y ofrece una resistencia extra a la penetración del oxígeno en el sistema, reduciendo así la posibilidad que este llegue al ánodo.
3. **Una capa de catalizador de Pt/C comercial:** este catalizador está formado por nanopartículas ancladas en micropartículas de carbono donde tiene lugar la reacción de reducción del oxígeno (*oxygen reduction reaction*, ORR). Los microorganismos heterótrofos crecen sobre la superficie del catalizador de Pt/C, produciendo una biopelícula.
4. **La biopelícula:** aunque no es el objetivo de las MFC, los microorganismos heterótrofos crecen sobre la superficie del catalizador de Pt/C, produciendo una biopelícula. La biopelícula que se genera en el lado interno del cátodo compite con los microorganismos del ánodo por la fuente de carbono, generando, en teoría, un impacto negativo en el rendimiento del MFC. Sin embargo, la biopelícula del cátodo también consume el oxígeno disuelto residual que atraviesa el catalizador, minimizando la llegada de oxígeno al ánodo y mejorando el rendimiento del sistema y la eficiencia coulombica. Basándose en otros trabajos [13] se supone que la biopelícula del cátodo está constituida por bacterias heterótrofas aerobias (HAB) y bacterias heterótrofas anaerobias (HANB).

La estructura descrita se muestra en la **Fig. 1, c**. Todas las capas, exceptuando la de PTFE, se supone que están saturadas de líquido y tienen una cierta porosidad y tortuosidad. Esto permite la difusión a través de ellas del oxígeno y otros sustratos disueltos en el líquido. La **Fig. 1, d**

muestra una micrografía electrónica de barrido (*scanning electron microscope*, SEM) del cátodo donde se muestra su estructura. En dicha imagen se puede observar la porosidad y tortuosidad que tiene las diferentes capas que constituyen el cátodo.

### 2.3. Suposiciones del modelo

El modelo desarrollado en este trabajo tiene el objetivo de demostrar el *efecto barrera* que genera la biopelícula catódica cuando la fuente de carbono está disponible y cuando se agota (respiración endógena). Además, se realiza un análisis del mecanismo de formación de la biopelícula en el momento de la inoculación del AC-MFC. Para su implementación se han considerado las siguientes hipótesis:

- La distribución de los electrones en sistemas conductivos ocurre en una escala de tiempo muy inferior a la de la distribución de sustratos o el crecimiento microbiano. La diferencia de la escala de tiempo permite tratar la distribución de electrones como muy rápida y por lo tanto que alcanza rápidamente un estado estacionario, por lo que a cada diferencial de tiempo se calcula un nuevo estado *pseudo-estacionario* o “*frozen state*” referido a la distribución de electrones [9].
- El acetato presente en el sistema es consumido principalmente por las biopelículas formadas en los electrodos del sistema. Debido a que en este trabajo se simula únicamente el cátodo de la MFC, se utiliza la CE para determinar el consumo total de acetato. Para ello se incorpora la CE en el balance molar de acetato de la MFC tal y como se verá en la sección 2.4.1. Se considera que la concentración de ARB en el ánodo es constante y que la CE a lo largo del ciclo se mantiene constante.
- La bioaumentación realizada en la puesta en marcha del reactor permite que los electrodos de la MFC empiecen la operación colonizados por las bacterias de interés, optimizando así el proceso de producción de electricidad. Por esta razón, todas las simulaciones empiezan con una biopelícula catódica inicial con un determinado grosor y distribución de HAB y HANB.

### 2.4. Formulación del modelo

#### 2.4.1. Balance de materia

La distribución y evolución temporal de la concentración de los sustratos disueltos en un líquido se puede describir mediante la ecuación de la segunda ley de Fick con reacción química, como se muestra en la Ec. (1):

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = -D_{\text{eff},i} \cdot \nabla_{xy}^2 C_i + r_i \quad (1)$$

Donde  $C_i$  es la concentración de la especie  $i$  ( $\text{mol m}^{-3}$ ) que está disuelta en el líquido,  $D_{\text{eff},i}$  es el coeficiente de difusión efectiva de la especie  $i$  ( $\text{m}^2 \text{h}^{-1}$ ) y  $r_i$  es la velocidad de reacción de la especie  $i$  que se produce en la región específica ( $\text{mol m}^{-3} \text{h}^{-1}$ ). La velocidad de reacción

química únicamente tiene presencia en dos regiones del sistema: en el catalizador y en la biopelícula. El coeficiente de difusión efectiva se puede calcular con la Ec. (2):

$$D_{\text{eff},i} = D_i \cdot \varepsilon_k / \pi_k \quad (2)$$

Donde  $\varepsilon$  es la porosidad del material  $k$ ,  $\pi$  es la tortuosidad del material  $k$  y  $D_i$  es la difusión de la especie  $i$  en el líquido.

La reacción que se lleva a cabo en el cátodo es la reducción del oxígeno mediante los electrones que se generan en el ánodo por las ARB. Dicha reacción se muestra en la Ec. (3). La generación de  $\text{OH}^-$  es el causante del aumento de pH que se observa experimentalmente en el cátodo [10].



Para poder expresar la velocidad de la ORR es necesario aplicar las leyes de Faraday de la electrólisis (Ec. (4)). Incluyendo la definición de corriente eléctrica y la definición de la velocidad de reacción de la especie  $i$  se puede obtener la expresión de la velocidad de la ORR ( $r_{i,\text{cat}}$ ) mostrada en la Ec. (5). Cabe destacar que la ORR se da en la superficie del catalizador, donde entra en contacto la fase sólida y el líquido donde se encuentra el oxígeno disuelto. Por esta razón la velocidad de la ORR depende de la superficie del catalizador, expresión mostrada en la Ec. (6) [11]. Se ha visto en trabajos anteriores que la intensidad de corriente depende de la disponibilidad de acetato para las ARB [6]. Se utiliza la expresión de Monod para describir la relación que hay entre la intensidad generada y la concentración de acetato (Ec. (7)).

$$N_i = \frac{Q}{nF} \quad (4)$$

$$r_{i,\text{cat}} = \frac{I}{nF} \quad (5)$$

$$r'_{i,\text{cat}} = \frac{j}{nF} \quad (6)$$

$$j = j_{\text{max}} \frac{C_{Ac}}{C_{Ac} + K_{Ac,j}} \quad (7)$$

Donde  $N_i$  son los moles de la especie  $i$  que se han producido o consumido en la reacción de electrólisis,  $Q$  es la carga eléctrica (C),  $n$  es la equivalencia entre electrones y el substrato consumido ( $\text{mol } e^- \text{ mol}^{-1}$ ),  $F$  es la constante de Faraday ( $\text{C mol}^{-1}$ ),  $I$  es la intensidad de la corriente eléctrica (A),  $r'_{i,\text{cat}}$  es la velocidad de reacción superficial del catalizador ( $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ),  $j$  es la densidad de corriente ( $\text{A m}^{-2}$ ),  $j_{\text{max}}$  es la densidad de corriente máxima que puede llegar el sistema ( $\text{A m}^{-2}$ ),  $C_{Ac}$  es la concentración de acetato ( $\text{mol m}^{-3}$ ) y  $K_{Ac,j}$  es la constante de semisaturación del acetato para la producción de corriente eléctrica ( $\text{mol m}^{-3}$ ).

La experiencia demuestra que el potencial de un electrodo tiene un gran efecto en la velocidad de reacción que ocurre en la superficie del catalizador. La expresión simplificada de Butler-Volmer [12] describe la relación entre la velocidad de reacción y el sobrepotencial local del cátodo, obteniendo así la expresión de la ORR que se realiza en el catalizador, como se muestra en la Ec. (8).

$$r_{O_2,cat} = \frac{1}{nF} \left[ j \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} \exp \left( -\frac{\alpha F}{RT} \eta_{act,C} \right) \right] \delta_{cat} \quad (8)$$

Donde  $C_{O_2}$  es la concentración local de oxígeno ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $C_{O_2}^*$  es la concentración de saturación del oxígeno ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $R$  es la constante de gases ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ ),  $T$  es la temperatura del sistema (K),  $\eta_{act,C}$  es el sobrepotencial de activación local del cátodo (V),  $\delta_{cat}$  es el área superficial del catalizador ( $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$ ) y  $\alpha$  es el coeficiente de transferencia. El coeficiente de transferencia es una medida de la simetría de la barrera energética de la reacción de electrólisis. Su valor se encuentra entre 0 y 1. Como no se puede medir dicho valor, se fija a 0.5 [11].

En la biopelícula del cátodo se utiliza la expresión de Monod para describir el consumo de sustratos en el crecimiento de los microorganismos (tanto las HAB como las HAnB). La Ec. (9) es la velocidad de consumo de la sustancia  $i$  por parte de las HAB y la Ec. (10) es la velocidad de consumo de la sustancia  $i$  por parte de las HAnB.

$$\Gamma_{i,HAB} = \frac{1}{Y_{HAB/S_i}} \mu_{m,HAB} X_{HAB} \frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{O_2}} \frac{C_{Ac}}{C_{Ac} + K_{Ac,HAB}} \quad (9)$$

$$\Gamma_{i,HAnB} = \frac{1}{Y_{HAnB/S_i}} \mu_{m,HAnB} X_{HAnB} \frac{K_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} \frac{C_{Ac}}{C_{Ac} + K_{Ac,HAnB}} \quad (10)$$

Donde  $Y_{HAB/S_i}$  es el coeficiente de rendimiento biomasa/sustrato ( $\text{mol mol}^{-1}$ ),  $\mu_{m,HAB}$  es la velocidad específica de crecimiento de HAB ( $\text{h}^{-1}$ ),  $X_{HAB}$  es la concentración de HAB ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $K_{O_2}$  es la constante de semisaturación del oxígeno ( $\text{mol m}^{-3}$ ) y  $K_{Ac,HAB}$  es la constante de semisaturación del acetato para las HAB ( $\text{mol m}^{-3}$ ).

Para la resolución del balance de materia mostrado en la Ec. (1) es necesario aplicar cuatro condiciones de contorno. En la coordenada  $x$  (**Fig. 1, c**) se utiliza la condición de contorno periódica (*Periodic Boundary Condition*, PBC) en ambos lados. La PBC asume que los extremos del sistema están conectados. Este tipo de condición se utiliza porque se asume que a lo largo del dominio tiene las mismas características que el espacio que se modeliza. Para la coordenada  $y$  se aplica una condición de contorno distinta para cada sustrato que se resuelve. En la región que está en contacto con el aire se aplica una condición de Dirichlet para el oxígeno (Ec. (11)) y una condición de *null* Neumann o condición de muro para el acetato (Ec. (12)). En el extremo derecho de la zona biopelícula + BDL se aplica una condición de Neumann para el oxígeno, cuyo valor es el flujo del oxígeno calculado mediante la segunda ley de Fick (Ec. (13)); y para el acetato se

utiliza una condición de Dirichlet, cuyo valor se actualiza mediante el balance de acetato en un reactor en discontinuo incorporando el consumo de acetato por las ARB mediante la eficiencia coulombica (Ec. (14)).

$$C_{O_2}|_{PTFE} = C_{O_2}^* \quad (11)$$

$$\left. \frac{\partial C_{Ac}}{\partial y} \right|_{PTFE} = 0 \quad (12)$$

$$F_{O_2}^n = -D_{O_2} \frac{C_{O_2,y=L} - C_{O_2,y=0}^n}{L - 0} \quad (13)$$

$$\frac{dC_{Ac}}{dt} = R_c \left( \frac{1}{1-CE} \right) \quad (14)$$

Donde  $F_{O_2}^n$  es el flujo de oxígeno en el tiempo  $n$  ( $\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ),  $C_{O_2,y=L}$  es la concentración de oxígeno en la región del ánodo ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $C_{O_2,y=0}^n$  es la concentración de oxígeno en el extremo derecho del sistema biopelícula + BDL para el tiempo anterior ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $L$  es la separación entre el ánodo y el cátodo (m) y  $R_c$  es la velocidad de reacción de consumo de acetato que tiene lugar en el cátodo ( $\text{mol m}^{-3} \text{h}^{-1}$ ).

La concentración de oxígeno en la región del ánodo ( $C_{O_2,y=L}$ ) se actualiza cada vez que se llega al estado *pseudo-estacionario*. Para ello primero se calcula el promedio de la concentración del oxígeno en el extremo derecho del sistema biopelícula + BDL ( $C_{O_2,prom}^n$ ) y a continuación se resuelve la Ec. (1) sin reacción química y en una dimensión (solo coordenada  $y$ ), aplicando una condición de Dirichlet con el valor de  $C_{O_2,prom}^n$  en el extremo izquierdo del *bulk liquid* y una condición de *null* Neumann en el extremo derecho.

Todas las ecuaciones de las condiciones de contorno comentadas en este apartado se encuentran en el documento Información Suplementaria nº1 junto su explicación detallada.

#### 2.4.2. Modelo del balance de electrones

En las MFC, la producción de voltaje depende de la termodinámica y las condiciones del ánodo y del cátodo, teniendo en cuenta las reacciones de oxidación/reducción que se llevan a cabo. También se debe tener en cuenta las pérdidas de voltaje que hay en el sistema, que se suelen dividir en sobrepotencial de activación ( $\eta_{act}$ ), sobrepotencial de concentración ( $\eta_{conc}$ ) y sobrepotencial óhmico ( $\eta_{ohm}$ ). El cálculo del voltaje real de la MFC se muestra en la Ec. (15), donde incluye la ley de Ohm y los sobrepotenciales descritos anteriormente.

$$V_{MFC} = V_{MFC}^0 - (\Sigma\eta_{Cat} + \Sigma\eta_{An} + IR_{\Omega}) \quad (15)$$

Donde  $V_{MFC}$  es el voltaje real de la MFC (V),  $V_{MFC}^0$  es la fuerza electromotriz estándar (V),  $\Sigma\eta_{Cat}$  es el sobrepotencial de activación y concentración del cátodo (V),  $\Sigma\eta_{An}$  es el sobrepotencial

de activación del ánodo (V) y  $IR_{\Omega}$  es el sobrepotencial óhmico de la celda (V). El sobrepotencial óhmico incluye la resistencia del ánodo, del cátodo y del *bulk liquid*.

Debido a que este trabajo únicamente se simula el cátodo de la MFC, es necesario simplificar el cálculo del voltaje real. Se ha visto en trabajos anteriores que la producción de  $V_{MFC}$  permanece constante siempre y cuando en el sistema hay suficiente fuente de carbono para las ARB. Por esta razón se decide establecer un valor constante al  $V_{MFC}$  y  $V_{cat}$  (voltaje del cátodo) de 0.55V y 0.28V respectivamente [6].

Se asume que la tela de carbono y el catalizador Pt/C son las regiones conductoras electrónicamente en el cátodo. Combinando el balance de electrones (Ec. (16)) y la definición del flujo de electrones a través de un sólido conductor de la ley de Ohm (Ec. (17)) se obtiene la distribución del sobrepotencial local en el cátodo [9], mostrada en la Ec. (18).

$$0 = -\nabla_{xy}j + F n r_{O_2,cat} \quad (16)$$

$$j = -\sigma_{eff}\nabla_{xy}\eta_{act,i} \quad (17)$$

$$0 = \sigma_{eff} \cdot \nabla_{xy}^2\eta_{act,i} + F n r_{O_2,cat} \quad (18)$$

Donde  $\eta_{act,i}$  es el sobrepotencial de activación local (V) y  $\sigma_{eff}$  es la conductividad efectiva del catalizador Pt/C ( $S m^{-1}$ ). Para la resolución del balance en estado estacionario se establece la condición de contorno periódica para la coordenada  $x$  (en ambos lados) y las condiciones de contorno mostradas en las Ec. (19) y Ec. (20) para la coordenada  $y$ .

$$\eta_{act}|_{y=0} = V_{cat} \quad (19)$$

$$\left. \frac{\partial \eta_{act}}{\partial y} \right|_{y=L_{cl}} = 0 \quad (20)$$

La Ec. (19) es la condición en la frontera entre la región muy conductiva y poco conductiva (interfase PTFE/tela de carbono). La Ec. (20) es la condición de contorno entre el catalizador y la biopelícula del cátodo. Igual que con el coeficiente de difusión efectiva, la conductividad efectiva depende de la porosidad y tortuosidad del material de la región, como se muestra en la Ec. (21):

$$\sigma_{eff} = \sigma_{cat} \cdot \varepsilon_i / \pi_i \quad (21)$$

Donde  $\varepsilon_i$  es la porosidad del material  $i$ ,  $\pi_i$  es la tortuosidad del material  $i$  y  $\sigma_{cat}$  es la conductividad del cátodo.

### 2.4.3. Modelo de la biopelícula. *Individual-based Model*

El *Individual-based Model* (IbM) se caracteriza por simular la bacteria de un flóculo o biopelícula como una entidad discreta con características únicas. Cada bacteria simulada es identificada en una localización concreta y su comportamiento se ve modificado por las condiciones de su entorno. Por lo tanto, su crecimiento y desarrollo se ve afectado tanto por la actividad de las bacterias de su alrededor como la difusión de las sustancias. La difusión de dichas sustancias que se encuentran en el sistema se modeliza junto las bacterias que crecen en el flóculo o biopelícula. La distribución de los substratos y productos dentro del sistema se resuelve en función de las condiciones de contorno impuestas en los límites del sistema y las reacciones que se llevan a cabo (abióticas o biológicas). Este tipo de modelos son usados para describir el crecimiento bacteriano asumiendo que la división celular ocurre a cierta edad bacteriana, estado del ciclo o tamaño. La división o muerte celular se produce independientemente para cada de las bacterias simuladas y solo en función de las condiciones locales donde se encuentra, captando la heterogeneidad de la biopelícula [14].

El crecimiento específico bacteriano se calcula mediante la expresión de Monod teniendo en cuenta el término de mantenimiento celular ( $b_{m,i}$ ), tal y como se muestra en la Ec. (22) y Ec. (23). Para obtener la variación de la masa de bacteria (HAB o HAnB) se utiliza la expresión que se muestra en la Ec. (24), la cual se integra en el tiempo utilizando el método de Euler junto a las otras ecuaciones del modelo.

$$\mu_{HAB} = \mu_{m,HAB} \frac{C_{O_2}}{C_{O_2} + K_{O_2}} \frac{C_{Ac}}{C_{Ac} + K_{Ac,HAB}} - b_{m,HAB} \quad (22)$$

$$\mu_{HAnB} = \mu_{m,HAnB} \frac{K_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} \frac{C_{Ac}}{C_{Ac} + K_{Ac,HAnB}} - b_{m,HAnB} \quad (23)$$

$$\frac{dX_i}{dt} = \mu_i^n \cdot X_i^n \quad (24)$$

Donde  $\mu_i^n$  es la velocidad de crecimiento específico de la bacteria en el tiempo  $n$  ( $h^{-1}$ ) y  $X_i^n$  es la masa de la bacteria en el tiempo  $n$  (mol). Se asume que cuando una célula llega a un tamaño o masa máxima (considerando la densidad constante en todo momento) esta se dividirá, generando una bacteria hija. En este caso, la bacteria hija tendrá una masa inicial que se corresponde a un porcentaje aleatorio ( $\alpha_{BF}$ ) de la masa de la bacteria madre. La masa de la bacteria madre es el resto de la masa después de la división (**Fig. 2, a**). El cálculo de las masas de la bacteria madre ( $M_m$ ) e hija ( $M_{m+1}$ ) se muestran en las Ec. (25) y Ec. (26) respectivamente.

$$M_m = (1 - \alpha_{BF}) \cdot M_m \quad (25)$$

$$M_{m+1} = \alpha_{BF} \cdot M_m \quad (26)$$

Al mismo tiempo, cuando las condiciones ambientales no permiten el mantenimiento de la biomasa, esta decae. En estas condiciones el decaimiento se simula con una reducción del tamaño de las bacterias. En este caso, la velocidad de pérdida de masa de la bacteria ( $b_i^n$ ) se calcula mediante la expresión mostrada en la Ec (27). Para calcular la masa de la bacteria en el tiempo  $n$ , se utiliza la Ec. (24) sustituyendo  $\mu_i^n$  por  $b_i^n$ . Cuando las células llegan a un tamaño o peso mínimo fijado, lo cual se considera despreciable, estas se eliminan del sistema (Fig. 2, b).

$$b_i^n = b_{m,i} - \mu_i^n \quad (27)$$

Donde  $b_{m,i}$  es la constante de mantenimiento de la bacteria HAB o HAnB ( $h^{-1}$ ) y  $\mu_i^n$  es la velocidad de crecimiento específico de la bacteria HAB o HAnB en el tiempo  $n$  ( $h^{-1}$ ).

Una vez se conoce la masa de la bacteria, es posible estimar que espacio será ocupado por ésta. Su volumen se calcula asumiendo que tiene una forma perfectamente esférica y una densidad específica fijada. Cuando la bacteria se divide, se le asigna una posición aleatoria para la bacteria hija alrededor de la bacteria madre. Cuando una bacteria desaparece, se forma un agujero en la biopelícula. Por lo tanto, la dinámica del crecimiento celular implica cierto empuje de los individuos que forman la biopelícula.

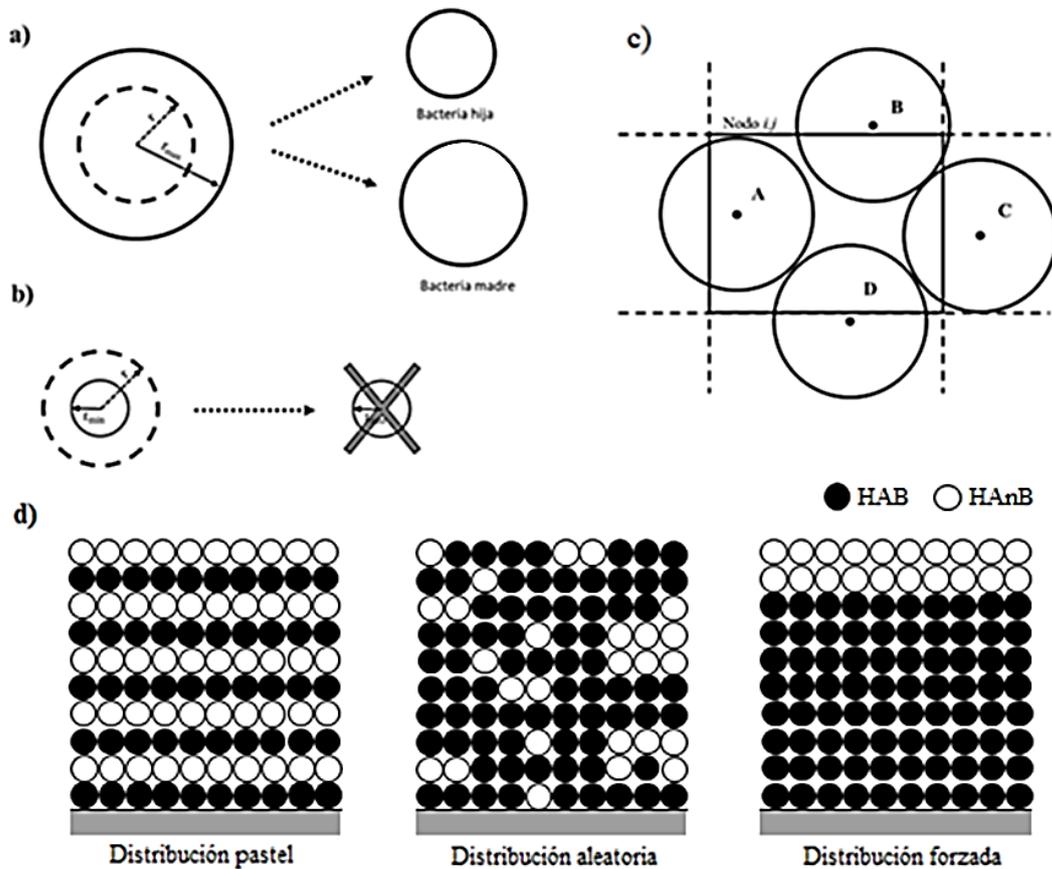


Fig. 2. a) Representación de la división y crecimiento bacteriano; b) Representación de la muerte bacteriana; c) Posición hipotética de las bacterias en el sistema. Solo la bacteria A pertenece al nodo  $i,j$  ya que su centro se encuentra dentro del nodo; d) Representación de las distintas distribuciones bacterianas en la biopelícula

El modelo solo permite un porcentaje de superposición entre bacterias, lo cual es fijada por el usuario. Cuando una bacteria se divide entra en juego el “algoritmo de empuje”, que comprueba la superposición de las bacterias de la biopelícula. Si hay dos bacterias que se superponen más del límite establecido, se producirá el movimiento de las dos bacterias. Para estimar el empuje entre las bacterias cuando se produce una división celular primero se comprueba la superposición (*overlap*,  $m$ ) entre la bacteria nueva y la bacteria ya existente o entre bacterias viejas que se mueven debido el empuje de otras. El *overlap* se calcula mediante la Ec. (28).

$$\text{overlap} = (r_m + r_{m+1}) - |\vec{c}| \quad (28)$$

$$|\vec{c}| = \sqrt{(x_m - x_{m+1})^2 + (y_m - y_{m+1})^2} \quad (29)$$

Donde  $|\vec{c}|$  es la norma del vector que enlaza los centros de la bacteria  $m+1$  y la bacteria  $m$ ,  $r_m$  y  $r_{m+1}$  son los radios de las bacterias ( $m$ ) y  $x_m|y_m$  y  $x_{m+1}|y_{m+1}$  son las posiciones en la coordenada  $x$  e  $y$  de las bacterias ( $m$ ).

Si el valor de *overlap* es mayor que el valor fijado por el usuario se produce un empuje entre la bacteria nueva y la bacteria vieja en función de sus masas y de la distancia. Este empuje es calculado mediante las Ec. (30) – Ec. (36).

$$p = \frac{(r_m + r_{m+1}) - |\vec{c}|}{|\vec{c}|} \quad (30)$$

$$a_m = \frac{M_m}{M_m + M_{m+1}} \quad (31)$$

$$a_{m+1} = \frac{M_{m+1}}{M_m + M_{m+1}} \quad (32)$$

$$x_{new,m} = x_{old,m} - (x_{m+1} - x_m) \cdot a_m \cdot p \quad (33)$$

$$y_{new,m} = y_{old,m} - (y_{m+1} - y_m) \cdot a_m \cdot p \quad (34)$$

$$x_{new,m+1} = x_{old,m+1} + (x_{m+1} - x_m) \cdot a_{m+1} \cdot p \quad (35)$$

$$y_{new,m+1} = y_{old,m+1} + (y_{m+1} - y_m) \cdot a_{m+1} \cdot p \quad (36)$$

Donde  $p$  es el tanto por uno de *overlap* que existe entre las bacterias  $m+1$  y  $m$ ,  $a_m$  es el tanto por uno de la masa de la bacteria  $m$  y  $a_{m+1}$  es el tanto por uno de la masa de la bacteria  $m+1$ .

Para más información sobre el algoritmo de empuje entre las bacterias, consultar la Información Suplementaria nº1.

Cada bacteria de la biopelícula es un individuo que actuará en función de las condiciones locales donde reside, es importante fijar cómo se adjudicará las condiciones a cada bacteria. Para ello se tiene en cuenta en qué posición se encuentra el centro de la bacteria. Las bacterias tendrán las condiciones locales del nodo donde se encuentre su centro (**Fig. 2, c**).

La presencia de biopelícula inicial en el cátodo afecta al rendimiento de la celda AC-MFC, como se ha demostrado en trabajos anteriores [6]. Gracias al IbM se puede establecer una biopelícula inicial ( $t = 0$ ) con una extensión y una distribución de HAB y HANB determinada, permitiendo así entender el mecanismo que sigue la formación de dicha biopelícula y analizar el posible efecto que tiene los distintos casos propuestos sobre el rendimiento. En este trabajo se aplica tres distribuciones: distribución “pastel”, distribución aleatoria y distribución forzada (**Fig. 2, d**).

#### 2.4.4. Método de cálculo, algoritmo y parámetros utilizados

Para la resolución eficiente de los balances de materia del sistema es necesario aplicar una discretización temporal y espacial. Se utiliza el método implícito de Crank-Nicholson para la discretización en el tiempo del término de difusión, aportando una gran estabilidad en la resolución. Para el término de reacción se utiliza el método de Euler explícito. Esta aproximación es posible gracias a que la variación en un diferencial de tiempo ( $dt$ ) de dicho término es suficientemente pequeño para suponer que el valor en el tiempo  $n+1$  y el valor en el tiempo  $n$  es el mismo. Aplicando la discretización temporal a la Ec. (1) se puede reescribir obteniendo la expresión mostrada en la Ec. (37).

$$\frac{C_{i,j}^{n+1} - C_{i,j}^n}{\Delta t} = D_{\text{eff}} \cdot \frac{1}{2} [\nabla_{xy}^2 C_{i,j}^{n+1} + \nabla_{xy}^2 C_{i,j}^n] + R(C_{i,j}^n) \quad (37)$$

Donde  $C_{i,j}^{n+1}$  es la concentración de un sustrato en el nodo  $i,j$  y tiempo  $n+1$  ( $\text{mol m}^{-3}$ ),  $\Delta t$  es el intervalo de tiempo usado en la discretización (h) y  $R(C_{i,j}^n)$  es el término de reacción del sustrato en el tiempo  $n$  ( $\text{mol m}^{-3} \text{h}^{-1}$ ).

Para la discretización espacial (para ambas coordenadas) se usa el método de diferencias finitas centrales, aplicando al modelo las aproximaciones mostradas en las Ec. (38) y Ec. (39).

$$\frac{\partial^2 C_{i,j}^n}{\partial x^2} \approx \frac{C_{i-1,j}^n - 2 \cdot C_{i,j}^n + C_{i+1,j}^n}{\Delta x^2} \quad (38)$$

$$\frac{\partial^2 C_{i,j}^n}{\partial y^2} \approx \frac{C_{i,j-1}^n - 2 \cdot C_{i,j}^n + C_{i,j+1}^n}{\Delta y^2} \quad (39)$$

Donde  $\Delta x$  es la longitud del nodo de la coordenada  $x$  (m) y  $\Delta y$  es la longitud del nodo de la coordenada  $y$  (m).

En Información Suplementaria nº1 se detalla la construcción de las matrices Laplacianas (en una y dos dimensiones) para la incorporación de la discretización espacial en la Ec. (1).

Los procesos que se producen en la celda MFC ocurren a escalas de tiempo muy distintas. En general, los procesos de difusión y reacción ocurren a una escala de tiempo de  $10^{-5} - 10^{-6}$  horas. En cambio, el crecimiento bacteriano ocurre en una escala de tiempo de minutos/horas. Para solucionar el sistema incorporando ambos procesos es necesario resolver separadamente la difusión-reacción del crecimiento bacteriano y redistribución de la biopelícula, es decir, se utiliza intervalos de tiempo de discretización diferentes para cada proceso [15].

Para la resolución primero se integra la ecuación de difusión-reacción de los substratos hasta que se obtiene un estado *pseudo-estacionario*, en el cual la variación de las concentraciones de los substratos en el paso de integración es menor que la tolerancia definida por el usuario. Una vez se alcanza el estado *pseudo-estacionario* se actualizan las condiciones de contorno del extremo derecho de la zona biopelícula + BDL, mediante las Ec. (13) y Ec. (14), y se resuelve el crecimiento bacteriano y el *decay* con el IbM. Finalmente se comprueba si se ha realizado alguna división celular. Si se ha producido, el algoritmo de empuje se ejecuta. En la Fig. 3 se muestra el esquema general del algoritmo utilizado.

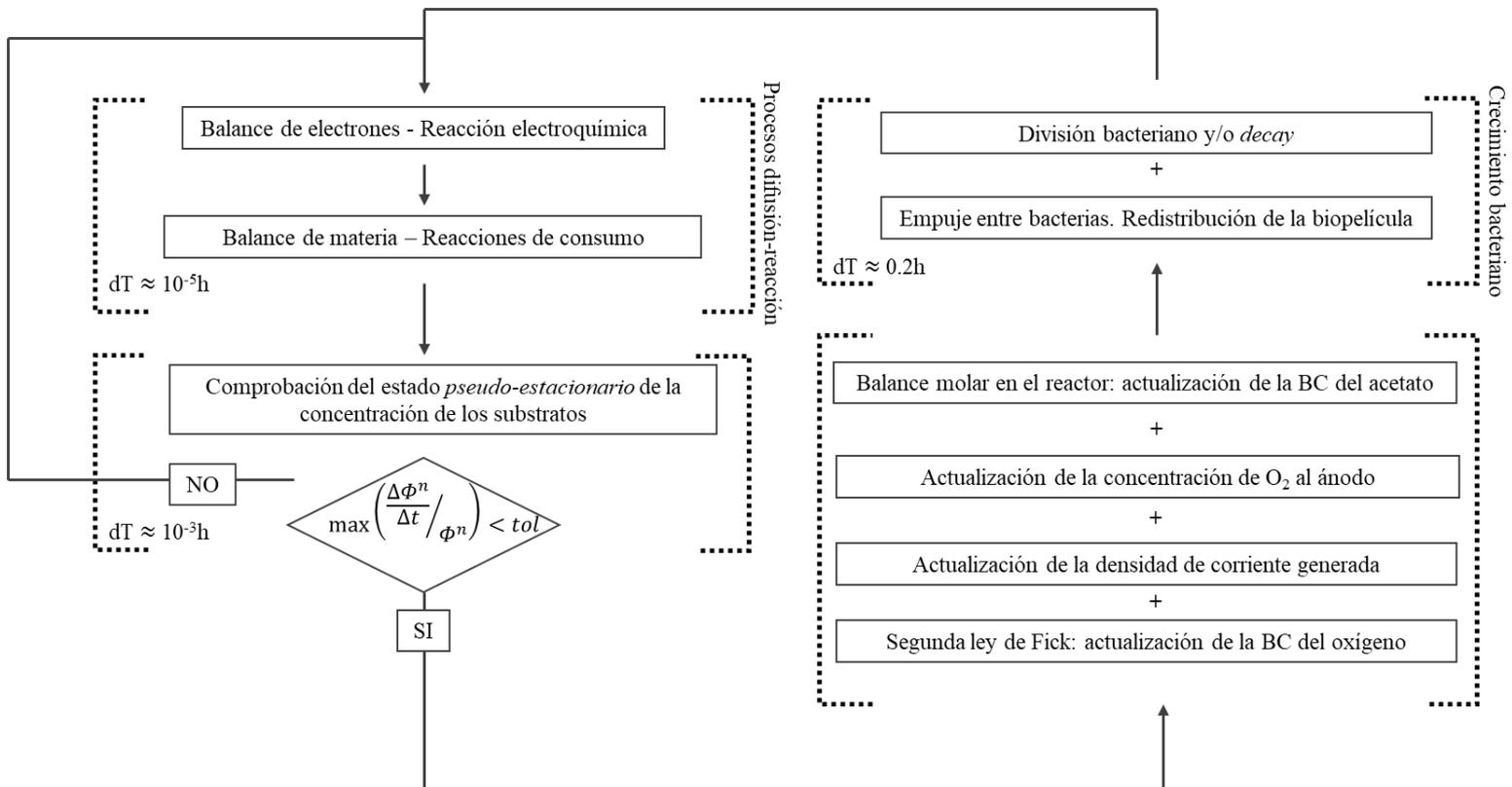


Fig. 3. Diagrama de flujo del algoritmo para la difusión, reacción y crecimiento bacteriano del sistema modelado AC-MFC. BC: Boundary Condition – Condición de contorno.

Cabe destacar que el sistema a resolver está compuesto por múltiples capas con propiedades difusionales distintas debido a la porosidad y tortuosidad de cada material. Por esta razón es necesario aplicar “*matching condition*” entre las capas del sistema [16]. En este caso se asume la continuidad de la concentración y del flujo de materia y de electrones en la interfaz de las capas ( $y = y_i$ ). Las Ec. (40) y Ec. (41) muestran las expresiones matemáticas de la “*matching condition*” empleada.

$$C_i(y_i, t) = C_{i+1}(y_i, t) \tag{40}$$

$$D_{\text{eff},i} \left. \frac{\partial C_i}{\partial y} \right|_{y_i} = D_{\text{eff},i+1} \left. \frac{\partial C_{i+1}}{\partial y} \right|_{y_i} \tag{41}$$

Donde  $D_{\text{eff},i}$  y  $D_{\text{eff},i+1}$  son las difusividades efectivas de las capas  $i$  e  $i+1$  respectivamente. En Información Suplementaria n°1 se muestra cómo se implementa la “*matching condition*” en la matriz Laplaciana.

La biopelícula catódica de la AC-MFC se resuelve usando los parámetros cinéticos del modelo ADM1 para las bacterias anaerobias [17] y ASM3 para las bacterias aerobias [18]. Los parámetros estequiométricos y termodinámicos del metabolismo bacteriano se obtienen siguiendo el método de cálculo generalizado de Kleerebezem y Van Loosdrecht [19] (ver Información Suplementaria n°1). Los parámetros estequiométricos y cinéticos empleados en el modelo se muestran en la **Tabla 1** y **Tabla 2** respectivamente.

**Tabla 1.** Matriz estequiométrica del metabolismo de las bacterias

Componente $i \rightarrow$	<i>Oxígeno</i>	<i>Acetato</i>	<i>Bacterias aeróbicas</i>	<i>Bacterias anaeróbicas</i>
$j$ Proceso $\downarrow$	$S_{O_2}$	$S_{Ac}$	$X_{HAB}$	$X_{HANB}$
<b>Bacterias aeróbicas (HAB)</b>				
Catabolismo	-2	-1	–	–
Anabolismo	–	-0.525	1	–
<i>Decay</i>	-1.6	–	-1	–
<b>Bacterias anaeróbicas (HANB)</b>				
Catabolismo	–	-1	–	–
Anabolismo	–	-0.525	–	1
<i>Decay</i>	–	–	–	-1

**Tabla 2.** Valor de los parámetros del modelo utilizados

Nombre	Descripción	Valor	Unidades
$C_{Ac,o}$	Concentración inicial de acetato en el líquido	12.20	$\text{mol m}^{-3}$
$C_{O_2,o}$	Concentración inicial de oxígeno en el líquido	0.00	$\text{mol m}^{-3}$
$C_{O_2,B}$	Concentración de oxígeno en la condición de contorno	0.25	$\text{mol m}^{-3}$
$C^*_{O_2}$	Concentración de saturación de oxígeno <sup>(c)</sup>	0.25	$\text{mol m}^{-3}$
$D_{Ac}$	Coefficiente de difusión del acetato en el líquido <sup>(c)</sup>	$2.95 \times 10^{-6}$	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$
$D_{O_2}$	Coefficiente de difusión del oxígeno en el líquido <sup>(c)</sup>	$7.56 \times 10^{-6}$	$\text{m}^2 \text{h}^{-1}$
$L_{cc}$	Longitud de la tela de carbono <sup>(a)</sup>	0.55	mm
$L_{cl}$	Longitud del catalizador Pt/C <sup>(a)</sup>	0.066	mm
$L_{bf,max}$	Longitud máxima de la biopelícula	0.20	mm
$\epsilon_{cc}$	Porosidad de la tela de carbono <sup>(d)</sup>	0.75	-
$\epsilon_{cl}$	Porosidad del catalizador Pt/C <sup>(d)</sup>	0.30	-
$\epsilon_{bio}$	Porosidad de la biopelícula	0.95	-
$\pi_{cc}$	Tortuosidad de la tela de carbono <sup>(d)</sup>	1.15	-
$\pi_{cl}$	Tortuosidad del catalizador Pt/C <sup>(d)</sup>	1.30	-
$\sigma_{cat}$	Conductividad del cátodo	$1.00 \times 10^3$	$\text{S m}^{-1}$
$T$	Temperatura del sistema	298.15	K
$R$	Constante de los gases ideales	8.314	$\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$
$F$	Constante de Faraday	96485	$\text{C mol}^{-1}$
$CE$	Eficiencia coulombica <sup>(a)</sup>	25.00	%
$\delta_{cat}$	Área específica del catalizador <sup>(a)</sup>	38743	$\text{m}^2 \text{m}^{-3}$
$j_{e,max}$	Densidad de corriente máxima del sistema <sup>(a)</sup>	0.184	$\text{A m}^{-2}$
$K_{Ac,j}$	Constante de semisaturación del acetato para las ARB <sup>(a)</sup>	0.85	$\text{mol m}^{-3}$
$n$	Electrones equivalentes del acetato	4	$\text{mol e}^- (\text{mol Ac})^{-1}$
$\mu_{m,HAB}$	Velocidad específica de crecimiento de las HAB	$8.30 \times 10^{-2}$	$\text{h}^{-1}$
$\mu_{m,HAnB}$	Velocidad específica de crecimiento de las HAnB	$1.67 \times 10^{-2}$	$\text{h}^{-1}$
$b_{m,HAB}$	Velocidad de mantenimiento o <i>decay</i> de las HAB	$8.33 \times 10^{-3}$	$\text{h}^{-1}$
$b_{m,HAnB}$	Velocidad de mantenimiento o <i>decay</i> de las HAnB	$8.33 \times 10^{-4}$	$\text{h}^{-1}$
$Y_{HAB}$	Rendimiento de crecimiento de las HAB	1.148	$\text{mol Ac} (\text{mol HAB})^{-1}$
$Y_{HAnB}$	Rendimiento de crecimiento de las HAnB	0.092	$\text{mol Ac} (\text{mol HAnB})^{-1}$
$K_{O_2,HAB}$	Constante de semisaturación del oxígeno de las HAB	$6.25 \times 10^{-6}$	$\text{mol m}^{-3}$
$K_{Ac,HAB}$	Constante de semisaturación del acetato de las HAB	$6.25 \times 10^{-5}$	$\text{mol m}^{-3}$
$K_{O_2,HAnB}$	Constante de inhibición del oxígeno de las HAnB <sup>(c)</sup>	$6.25 \times 10^{-6}$	$\text{mol m}^{-3}$
$K_{Ac,HAnB}$	Constante de semisaturación del acetato de las HAnB	$2.34 \times 10^{-6}$	$\text{mol m}^{-3}$
$(overlap)_{ref}$	Overlap entre bacterias máximo	$5.00 \times 10^{-8}$	m
$tol$	Tolerancia del estado <i>pseudo-estacionario</i>	10	%

(a) proviene de datos experimentales

(b) proviene de Ref. [27]

(c) proviene de Ref. [28]

(d) proviene de datos comerciales

### 3. Resultados y discusión

En este trabajo, en primer lugar, se realiza una validación del modelo comparando los resultados del modelo obtenidos con los resultados experimentales de Montpart *et al.* [6]. A continuación, se consideran 12 casos con diferentes configuraciones para la biopelícula inicial (**Tabla 3**). Para todos los casos se analiza la estructura de estas biopelículas y como sus características afectan al efecto barrera sobre la difusión de oxígeno al ánodo.

**Tabla 3.** Resumen de las simulaciones de las cuales se obtienen los resultados

Simulación	Distribución inicial <sup>1</sup>	%HAB	Grosor inicial	Resp. endógena	Tiempo simulación
A	Sin bacterias	–	–	–	24 h y 300 h
B1	Distribución pastel	50	6 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
B2	Distribución pastel	50	20 $\mu\text{m}$	No	300 h
B3	Distribución pastel	50	4 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
B4	Distribución pastel	50	20 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C1	Distribución aleatoria	50	6 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C2	Distribución aleatoria	75	6 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C3	Distribución aleatoria	25	6 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C4	Distribución aleatoria	50	20 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C5	Distribución aleatoria	75	20 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
C6	Distribución aleatoria	25	20 $\mu\text{m}$	Sí	300 h
D1	Distribución forzada	75	6 $\mu\text{m}$	Sí	300 h

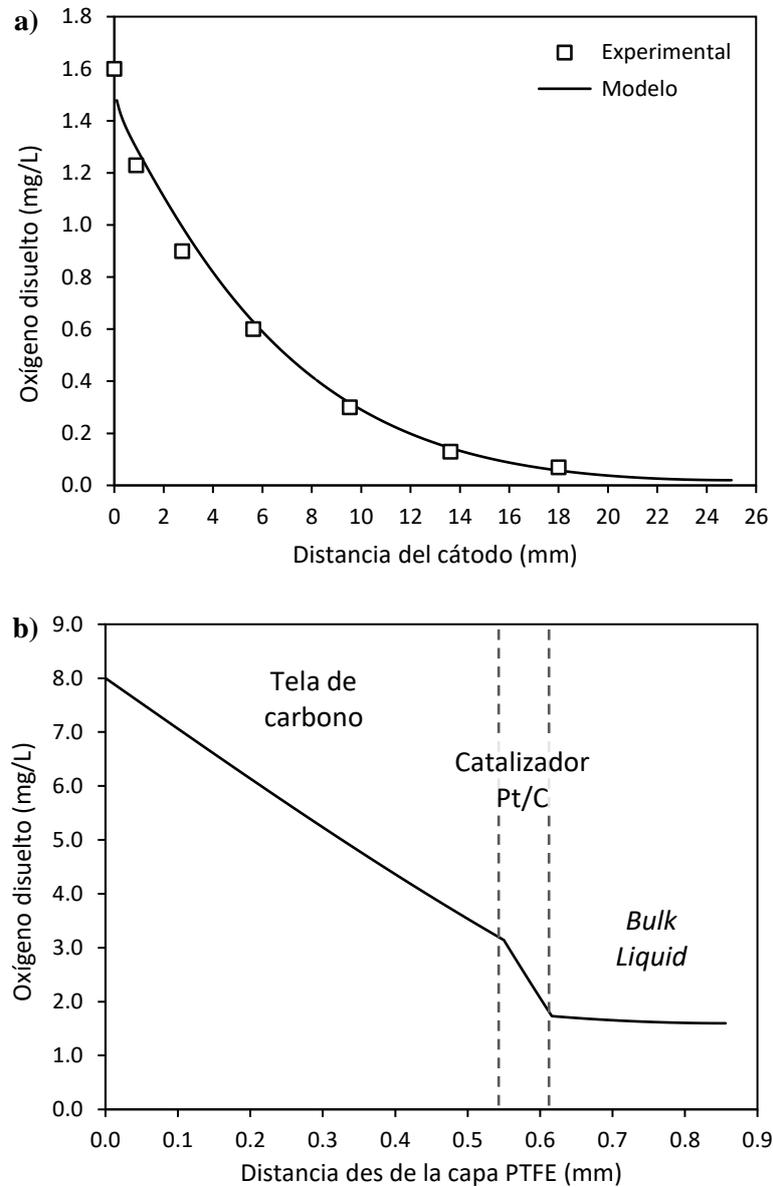
<sup>1</sup> Las distintas distribuciones iniciales de bacterias en la biopelícula se representan en la **Fig. 2, d**.

#### 3.1. Validación del modelo

Para la validación del modelo, se comparan los resultados obtenidos en la simulación A (**Tabla 3**) con los resultados presentados por Montpart *et al.* [6]. En este caso se compara el perfil de oxígeno en el *bulk liquid* después de que el cátodo sin biopelícula esté en contacto con el aire durante 24 horas. Se decide excluir la biopelícula para aumentar la fiabilidad de la validación del modelo, ya que no se dispone de suficientes datos experimentales de la biopelícula. Los resultados de la simulación se ajustan con el perfil obtenido experimentalmente, tal y como se puede ver en la **Fig. 4, a**.

El modelo permite representar el perfil de oxígeno disuelto a través de las distintas capas que componen el cátodo (**Fig. 4, b**). La pendiente del oxígeno disuelto a lo largo del cátodo varía en función de la región. Esto se debe a las distintas porosidades y tortuosidades de los materiales del cátodo. Cuanto menor sea el coeficiente porosidad/tortuosidad (tela de carbono:  $\sim 0.65$ , catalizador Pt/C:  $\sim 0.23$ ) mayor resistencia opone el material a la difusión del oxígeno y mayor será la pendiente de la concentración de oxígeno. Además, en el catalizador Pt/C se produce el consumo de oxígeno mediante la ORR, incrementando así la pendiente del perfil de concentración

en dicha región. En el trabajo de Ou *et al.* [20] se modeliza un cátodo similar y se obtiene un perfil de oxígeno con la misma tendencia.



**Fig. 4. a)** Oxígeno disuelto en diferentes puntos del *bulk liquid* de la AC-MFC después de un ciclo en discontinuo de 24 h. Comparación entre los resultados del modelo y los resultados experimentales de Montpart *et al.* [6]. **b)** Perfil del oxígeno disuelto en las distintas capas que componen el cátodo de la AC MFC después de un ciclo en discontinuo de 24 h. Tendencia similar a la presentada por Ou *et al.* [20]

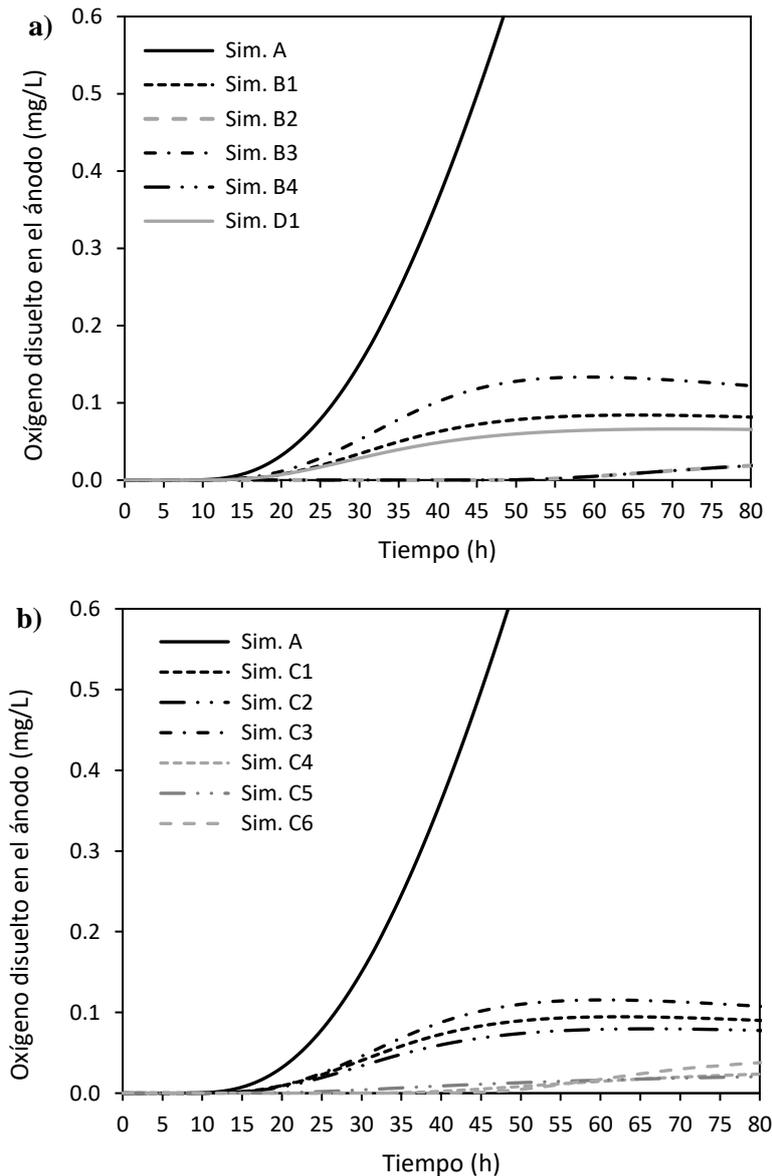
### 3.2. Efecto barrera al oxígeno de la biopelícula catódica

La condición anaerobia en el ánodo de la MFC es crucial para la generación de electricidad mediante las ARB. Actualmente se conoce varias especies de bacterias capaces de transferir electrones de forma exógena a un sólido, incluyendo bacterias fermentativas, bacterias anaerobias obligadas y bacterias facultativas: *Clostridium butyricum*, *Rhodoferax ferrireducens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Geopsychronacter electrodiphilus*,

*Rhodopseudomonas palustris* DX-1 y *Shewanella oneidensis* [21]. La llegada de oxígeno al ánodo afecta negativamente a la comunidad microbiana (inhibe la actividad de bacterias anaerobias) y por lo tanto reduce el rendimiento de la MFC. La presencia de HAB en la biopelícula catódica genera un *efecto barrera* al oxígeno, minimizando su llegada al ánodo. Oh *et al.* [21], con un sistema AC-MFC similar al de este trabajo, estudió el efecto de la llegada de oxígeno al ánodo. Se observó que a concentraciones de oxígeno menores de  $0.3 \text{ mg L}^{-1}$  en el ánodo no se produce ninguna disminución en la generación de electricidad. También observaron que a partir de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de oxígeno en el ánodo la generación de electricidad en la MFC es nula.

La **Fig. 5** refleja el *efecto barrera* que genera la biopelícula catódica a la difusión de oxígeno. Dicho efecto se puede ver si se compara la evolución del oxígeno en el ánodo de la Sim. A con cualquier otra simulación realizada (Sim. B o Sim. C). Cuando no hay presencia de biopelícula (Sim. A), la concentración de oxígeno en el ánodo aumenta hasta llegar a la saturación del líquido ( $\sim 8 \text{ mg L}^{-1}$ ). En cambio, cuando hay biopelícula en el cátodo, la concentración de oxígeno aumenta ligeramente, sin superar a la concentración de  $0.2 \text{ mg L}^{-1}$  en ningún caso.

El grosor de la biopelícula inicial tiene un impacto sobre la penetración del oxígeno (**Fig. 5, a**). En las simulaciones que empiezan con  $20 \mu\text{m}$  de biopelícula (Sim. B2 y Sim. B4), la concentración de oxígeno en el ánodo no supera a los  $0.04 \text{ mg L}^{-1}$ . En las simulaciones que empiezan con  $6 \mu\text{m}$  (Sim. B1) y  $4 \mu\text{m}$  (Sim. B3) de biopelícula la concentración de oxígeno en el ánodo llega a valores máximos de  $0.08 \text{ mg L}^{-1}$  y  $0.13 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. La intrusión de oxígeno en el ánodo será menor cuando mayor sea el grosor de la biopelícula inicial. Además, el porcentaje inicial de HAB en la biopelícula tiene un impacto sobre la intrusión del oxígeno (**Fig. 5, b**). Observando la evolución del oxígeno en las simulaciones C1, C2 y C3 (50%, 75% y 25% de HAB respectivamente) se puede ver que como mayor sea la proporción de HAB menor será la penetración de oxígeno en el sistema. Comparando el perfil de oxígeno de las simulaciones B1 (50% HAB) y D1 (75% HAB) de la **Fig. 5, a** se corrobora la tendencia expuesta anteriormente. Si se compara la evolución del oxígeno en las simulaciones C4 y C5 (50% y 75% de HAB respectivamente y con una biopelícula inicial de  $20 \mu\text{m}$ ) se ve poca diferencia en los perfiles de oxígeno, dando a entender que si la biopelícula del cátodo tiene cierto grosor, la cantidad inicial de HAB no influye significativamente en el efecto barrera, siempre y cuando haya una cantidad mínima del 50% de HAB. Ambas situaciones expuestas en este apartado se deben al aumento de la cantidad de HAB y al incremento de la resistencia a la transferencia de materia que opone la biopelícula.



**Fig. 5. a)** Evolución del oxígeno disuelto en el ánodo durante las primeras 80 h de operación sin biopelícula catódica (Sim. A) y con una biopelícula inicial con distribución pastel (Sim. B1 – Sim. B4). **b)** Evolución del oxígeno disuelto en el ánodo durante las primera 80 h de operación sin biopelícula catódica (Sim. A) y con una biopelícula inicial con distribución aleatoria (Sim. C1 – Sim. C6). Sim. C1 y Sim. C4: 50%<sub>HAB</sub>; Sim. C2 y Sim. C5: 75%<sub>HAB</sub>; Sim. C3 y Sim. C6: 25%<sub>HAB</sub>. La concentración de oxígeno en las 80 h es de 1.81 mg L<sup>-1</sup>.

Para estudiar el impacto de la distribución de las bacterias sobre el efecto barrera, se compara la concentración máxima de oxígeno en el ánodo entre las simulaciones que tengan el mismo grosor y porcentaje de HAB (**Tabla 4**). Comparando la distribución pastel (Sim. B1, 6 μm; Sim. B4, 20 μm) y la distribución aleatoria (Sim. C1, 6 μm; Sim. C4, 20 μm) no se han visto diferencias significativas en ambos grosores iniciales. En cambio, entre la distribución forzada (Sim. D1, 6 μm) y la distribución aleatoria (Sim. C2, 6 μm) se ha visto una mayor diferencia en la concentración de oxígeno (0.066 mg L<sup>-1</sup> y 0.095 mg L<sup>-1</sup> respectivamente). La distribución forzada genera un mayor efecto barrera que las otras distribuciones propuestas. Esto se explica a

que al forzar el crecimiento de las HAB cerca del catalizador estas tienen más disponibilidad de oxígeno y, por lo tanto, aumentan su actividad, incrementando así el efecto barrera al oxígeno.

**Tabla 4.** Resultados de las simulaciones realizadas en este trabajo

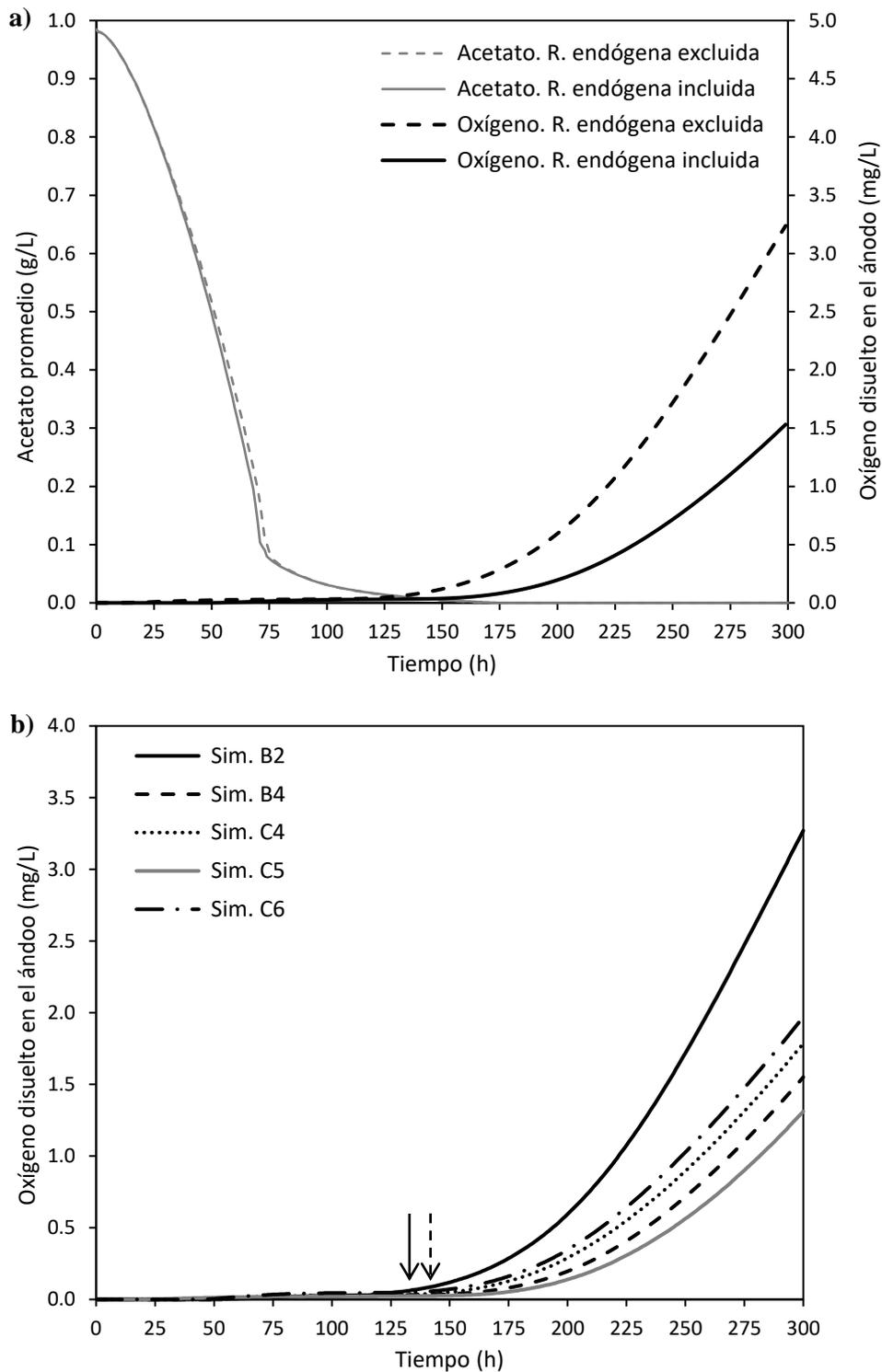
Simulación	HAB	HAnB	HAB/HAnB	Tiempo [Ac] <sub>c</sub>	[O <sub>2</sub> ] <sub>max,80h</sub> (mg/L)	[O <sub>2</sub> ] <sub>A</sub> final (mg/L)
A	0	0	-	-	-	7.20
B1	981	1206	0.8134	200 h	0.082	0.84
B2	934	1623	0.5755	125 h	0.019	3.27
B3	1041	1151	0.9044	210 h	0.133	0.48
B4	913	1652	0.5527	126 h	0.019	1.55
C1	962	1175	0.8187	200 h	0.080	0.81
C2	1020	961	1.0614	210 h	0.095	0.92
C3	967	1280	0.7555	202 h	0.115	1.02
C4	872	1651	0.5238	130 h	0.023	1.79
C5	1191	1374	0.8668	145 h	0.020	1.31
C6	851	2144	0.3969	129 h	0.038	1.97
D1	1079	1148	0.9399	215 h	0.066	0.55

### 3.3. Efecto de la respiración endógena de las HAB

La respiración endógena es un mecanismo común de las bacterias heterotróficas que les permite obtener la energía suficiente para el mantenimiento celular, aunque la fuente de carbono externa no se encuentre disponible. En su lugar, la bacteria metaboliza sus propias proteínas y moléculas estructurales para obtener los recursos necesarios. Cuando la bacteria realiza la respiración endógena, se asume que no hay crecimiento celular [22]. Cuando la fuente de carbono externa se agota o llega a niveles críticos, la generación de electricidad se reduce bruscamente (**Fig. S1.1** y **Fig. S1.2** de Información Suplementaria nº2). Esto fue observado experimentalmente en trabajos donde analizaron la evolución del voltaje durante la operación en discontinuo [6]. En esta situación la intrusión de oxígeno al ánodo es más probable, debido a la disminución de la actividad bacteriana.

Como se muestra en la **Fig. 6, a**, cuando se incorpora la respiración endógena en el modelo, se obtiene una concentración de oxígeno al final del ciclo dos veces menor. Además, se observa que la intrusión del oxígeno al ánodo se retrasa 30 horas aproximadamente (**Fig. 6, a**). A su vez, permitiría a las ARB generar corriente a baja intensidad gracias a su actividad endógena [6].

Para realizar un análisis fiable sobre el efecto de la respiración endógena en los distintos casos con una biopelícula inicial de 20µm, es importante comprobar antes que en las distintas simulaciones el acetato se agota en tiempos similares. Como se puede ver en la **Tabla 4** el tiempo donde la concentración del acetato llega a niveles críticos en las simulaciones analizadas es diferente (entre 125h y 140h), lo cual se deberá tener en cuenta a la hora de analizar los resultados. Dicha tabla también muestra el número de bacterias de cada población de la biopelícula final.



**Fig. 6. a)** Evolución del oxígeno disuelto en el ánodo durante 300 h de operación en discontinuo excluyendo (Sim. B2) e incluyendo (Sim. B4) la respiración endógena de las HAB **b)** Comparativa de la evolución del oxígeno en el ánodo durante 300 h de operación en discontinuo entre la distribución pastel y distribución aleatoria de la biopelícula inicial. La flecha continua indica cuando el acetato llega a niveles críticos en las Sim. C4 y C6. La flecha discontinua indica cuando el acetato llega a niveles críticos en la Sim. C5.

Comparando el perfil de oxígeno de las simulaciones B4, C4 y C6 (Fig. 6, b), las cuales llegan a niveles críticos de acetato en tiempos muy parecidos (126 h, 130 h y 129 h), se observa que cuanto mayor sea la cantidad de HAB en la biopelícula menor será la intrusión de oxígeno en el ánodo una vez se agota el acetato del medio. Una biopelícula con un mayor número de HAB se traduce en un aumento de la actividad endógena consumidora del oxígeno que atraviesa la biopelícula. La Sim. C5 es el caso que presenta menor intrusión de oxígeno en el ánodo. Esto se debe a dos razones: es el caso con mayor cantidad de HAB en la biopelícula final y llega a niveles críticos de acetato más tarde (145 h) si se compara con los otros casos comentados (Sim. B4, Sim. C4 y Sim. C6).

### 3.4. Análisis de la biopelícula del cátodo

La Fig. 7 muestra la existencia de una relación inversamente proporcional entre el grosor de la biopelícula final y el tiempo al que se llega a la concentración de acetato crítica. Esto se debe al aumento del número de bacterias que consumen el acetato.

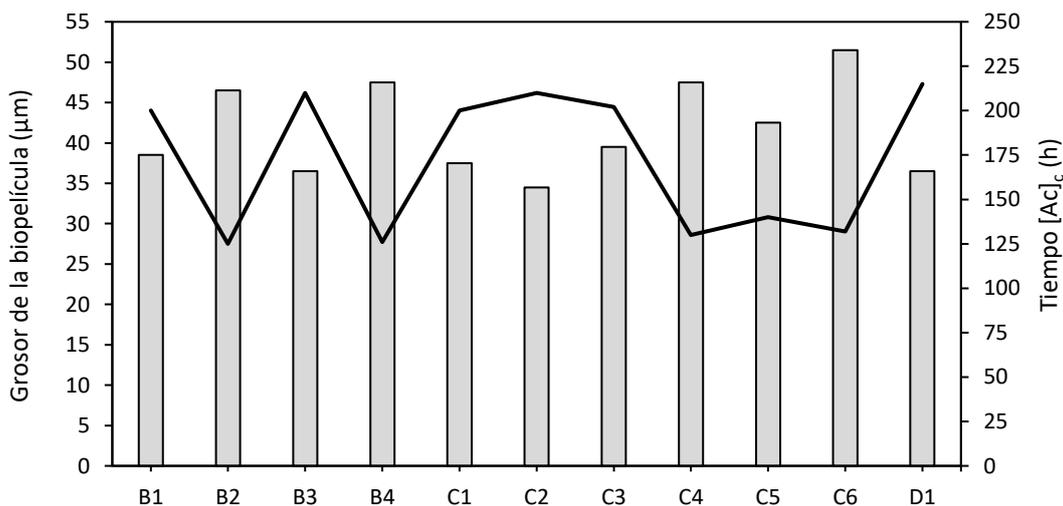


Fig. 7. Efecto de la biopelícula sobre el consumo de acetato del medio. [Ac]<sub>c</sub> es la concentración de acetato crítica, donde la actividad bacteriana empieza a disminuir por la falta de acetato en algunos puntos de la biopelícula. Las barras representan el grosor de la biopelícula. La línea continua representa el tiempo [Ac]<sub>c</sub>.

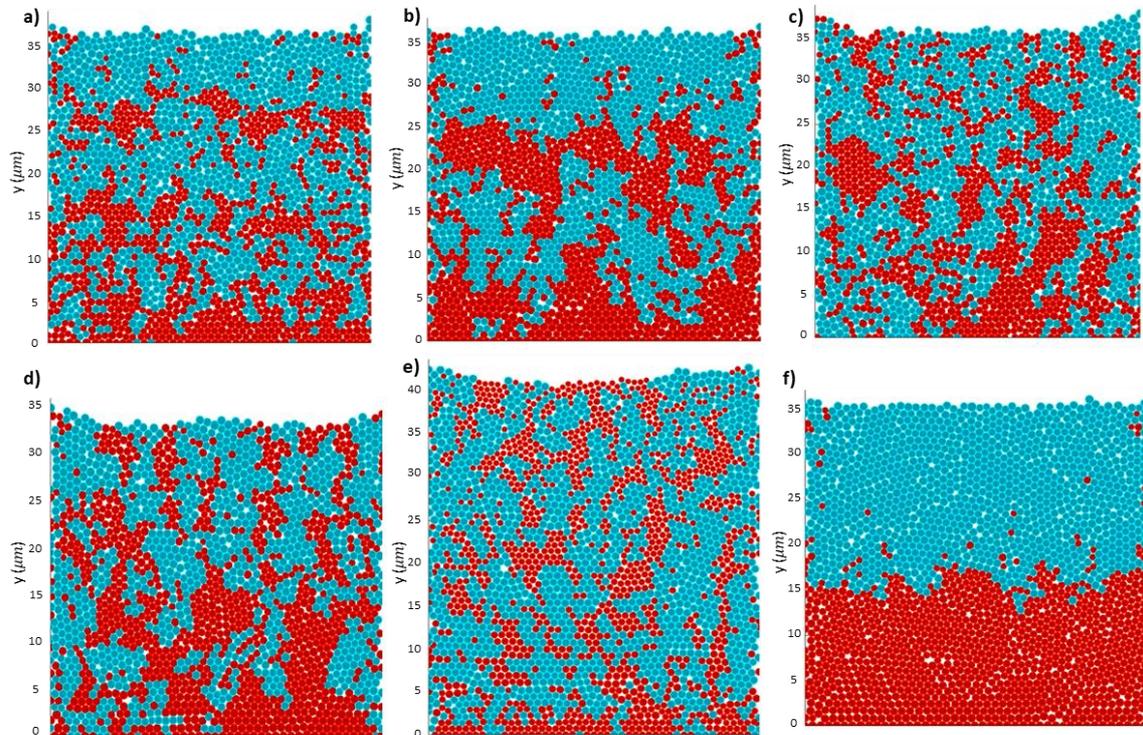
Las simulaciones que empezaron con una biopelícula de 6 μm consiguieron un grosor promedio de  $37.2 \pm 1.8$  μm en 210 h. Aquellas que empezaron con una biopelícula de 20 μm consiguieron un grosor promedio de  $47.1 \pm 3.2$  μm en 150 h. Las biopelículas del cátodo pueden llegar, después de un año de funcionamiento, a grosores de hasta 1 – 3 mm [23, 24]. Li *et al.* [25] consiguieron un grosor de 184 μm después de 30 días de operación. El grosor de la biopelícula depende principalmente del tiempo de operación, cantidad y tipo de sustrato, modo de operación (discontinuo o *fed-batch*), bioaumentación efectuada (en el caso que se realice) y las condiciones del medio. Sin embargo, no se han incluido todos ellos en el modelo. Esto explica las diferencias entre los grosores obtenidos con el modelo y los observados experimentalmente.

Ambas poblaciones de bacterias presentes en la biopelícula (HAB y HAnB) compiten por una única fuente de carbono, el acetato. Las condiciones de la biopelícula determinarán que población se ve más favorecida. Dicha competencia entre poblaciones se ve reflejada en las **Fig. S2.1** y **Fig. S2.2** adjuntas en la Información Suplementaria nº2. En el inicio, el crecimiento de las HAB se ve más favorecido debido a la presencia de oxígeno en la biopelícula. La concentración de oxígeno de la biopelícula disminuye a medida que el número de HAB aumenta, hasta llegar a un punto donde el crecimiento de las HAnB se ve favorecido. Finalmente, al llegar a niveles de acetato críticos y antes de que este se agote, el crecimiento de las HAB vuelve a verse más favorecido que el de las HAnB, debido a la intrusión de oxígeno en la biopelícula. Cabe destacar que en las simulaciones donde se empieza con una biopelícula de 20  $\mu\text{m}$  no se observa un inicio donde las HAB se vean más favorecidas. En este caso las condiciones de oxígeno limitante hacen que se favorezca el crecimiento de las HAnB en el inicio de la simulación (condiciones anaeróbicas).

El enfoque individual del IBM permite obtener información detallada sobre la posición de cada una de las bacterias en la biopelícula (HAB y HAnB) y así analizar la estratificación obtenida en los distintos casos presentados en este trabajo. Como información adicional se han añadido los vídeos del crecimiento de la biopelícula para todos los casos. La **Fig. 8** muestra la biopelícula del cátodo final de aquellas simulaciones donde se puede apreciar cierta estratificación de las HAB y HAnB (simulaciones B1, B3, C1, C2, C5 y D1). La biopelícula final de aquellas donde no se aprecia estratificación (simulaciones B4, C3, C4 y C6) se encuentran en la **Fig. S4** de la Información Suplementaria nº2. Además, en Información Suplementaria nº2, se adjunta el análisis de la estratificación de la biopelícula de los distintos casos propuestos (**Fig. S3.1** y **Fig. S3.2**). En todas las simulaciones presentes en la **Fig. 8**, el porcentaje de HAB ( $\%_{\text{HAB}}$ ) a lo largo de la biopelícula sigue una tendencia decreciente. En cambio, el porcentaje de HAnB ( $\%_{\text{HAnB}}$ ) sigue una tendencia creciente. Ambas tendencias confirman la estratificación de la biopelícula. En los casos presentes en la **Fig. S4**, ambos porcentajes ( $\%_{\text{HAB}}$  y  $\%_{\text{HAnB}}$ ) se encuentran cerca del 50% a lo largo de toda la biopelícula, corroborando la falta de estratificación.

Se ha visto en todos los casos que la distribución final de la biopelícula sigue la estructura inicial de la biopelícula (Información Suplementaria nº2, **Fig. S5**). En la simulación B3 (**Fig. 8, b**) se aprecian cuatro regiones alternadas de bacterias aeróbicas y anaeróbicas, siguiendo la distribución pastel del inicio. Los casos que empiezan con una distribución aleatoria también se mantiene la estructura inicial en la biopelícula final. Por esta razón se encuentran regiones con un elevado número de bacterias anaeróbicas cerca del catalizador (situado en el origen de la coordenada y de la **Fig. 8 a-f**).

En general, las simulaciones que empiezan con un grosor de 4  $\mu\text{m}$  y 6  $\mu\text{m}$  presentan una mayor estratificación que las que empiezan con un grosor de 20  $\mu\text{m}$ . Las simulaciones con un grosor inicial menor presentan una mayor penetración de oxígeno en el sistema, favoreciendo así el crecimiento de las HAB. Consecuentemente se produce el empuje de las HANB por parte de las HAB que crecen, generando así una región mayoritaria de HAB cerca del catalizador.



**Fig. 8.** Biopelícula del cátodo al final de la simulación. El catalizador Pt/C se encuentra en el origen de la coordenada  $y$ . Las esferas rojas (●) son las HAB y las esferas azules (●) son las HANB. **a)** Simulación B1. **b)** Simulación B3. **c)** Simulación C1. **d)** Simulación C2. **e)** Simulación C5. **f)** Simulación D1.

En otros trabajos sugieren que las distintas especies de la biopelícula crecen formando capas en función de la presencia de oxígeno [6, 25, 26]. En la región más cercana al catalizador habrá una mayor cantidad de HAB y a mayor distancia del catalizador las HANB empezaran a proliferar. La estratificación de la simulación D1 (**Fig. 8, f**) es la que sigue explícitamente la tendencia descrita. Cabe la posibilidad que experimentalmente se observe una biopelícula con una estratificación menos acentuada, como las biopelículas que se muestran en la **Fig. 8, (a-e)**. Para seleccionar la distribución más adecuada sería necesario obtener imágenes de la biopelícula del cátodo mediante hibridación fluorescente *in situ* (*Fluorescent in situ Hybridization*, FISH). Anteriormente se ha comprobado que la distribución final sigue la misma estructura que la fijada inicialmente. Esto sugiere que con una imagen FISH de la biopelícula final sería posible predecir el mecanismo de colonización que se ha llevado a cabo en el cátodo.

### 4. Conclusiones

Este trabajo demuestra que la biopelícula catódica tiene un gran impacto sobre la intrusión de oxígeno en el ánodo. Con una biopelícula inicial de 4  $\mu\text{m}$  es suficiente para asegurar que la concentración de oxígeno alrededor del ánodo no supere los 0.15  $\text{mg L}^{-1}$ . Con un grosor inicial de 20  $\mu\text{m}$  la concentración máxima de oxígeno se reduce a 0.04  $\text{mg L}^{-1}$ . Gracias a la actividad endógena de las bacterias aerobias, una vez que la fuente de carbono se agota el efecto barrera que genera la biopelícula al oxígeno persiste durante 30h aproximadamente, dependiendo de la cantidad de aeróbicas presentes. Estos resultados corroboran la importancia de la presencia de una biopelícula catódica al inicio y final de la operación, para proteger el ánodo de la penetración del oxígeno a lo largo de todo el ciclo.

El modelado de la difusión de oxígeno en dos dimensiones a través de las diferentes capas del cátodo, juntamente con IbM para simular la biopelícula, suponen una descripción en detalle de todo el proceso. Gracias a esto se ha podido ver la competencia que existe entre las HAB y HAnB por la fuente de carbono a lo largo del desarrollo de la biopelícula. Esto permitirá dirigir la operación experimental hacia sistemas más eficaces, donde se optimice el grosor de la biopelícula, la actividad de las diferentes poblaciones bacterianas y la estratificación de estas.

Referente a la estructura de la biopelícula, se ha observado que la distribución de la biopelícula final sigue una estructura muy similar a la biopelícula inicial, pese a que esté presente el empuje de las nuevas bacterias. En vista a esto, el análisis del corte transversal de la biopelícula final mediante FISH puede proporcionar una idea sobre el mecanismo de colonización y estratificación que se ha desarrollado en el cátodo durante la puesta en marcha del sistema.

### 5. Trabajo futuro

En base a los resultados y conclusiones obtenidos en este trabajo, se plantean los siguientes trabajos futuros para continuar esta línea de investigación:

- **Validación y ajuste de los parámetros cinéticos:** para el modelo de la biopelícula se ha utilizado parámetros cinéticos de modelos poblacionales ya estudiados (el ADM1 para las HAnB y el ASM3 para las HAB). Sería necesario comprobar mediante experimentos en discontinuo si los parámetros escogidos se ajustan a la realidad o no. En este caso, en distintas condiciones operacionales, se observaría si el modelo se ajusta en el tiempo que tarda a consumir la fuente de carbono (acetato), en el grosor de la biopelícula del cátodo, en la evolución del oxígeno en el ánodo (tanto en presencia como ausencia de acetato) y en el porcentaje de HAB y HAnB de la biopelícula.

- **Modelo completo de una AC-MFC:** el modelo presentado en este trabajo contempla el cátodo y el *bulk liquid* de un sistema AC-MFC, sin entrar en detalle de lo que sucede en el ánodo. La incorporación del ánodo en el modelo permitirá un análisis más minucioso de la eficiencia coulombica del sistema, del consumo del acetato disuelto, la generación de corriente eléctrica y el efecto de la intrusión de oxígeno en el ánodo. A parte, se podría estudiar la estratificación de las distintas poblaciones que conviven en la biopelícula del ánodo, optimizar la concentración de los inhibidores de la actividad metanogénica y analizar diferentes mecanismos de transporte de electrones exógenos por parte de las ARB. En la **Fig. S6** de Información Suplementaria nº2 se encuentra el diagrama de flujo del supuesto algoritmo que incluye el cátodo y el ánodo. Una vez desarrollado el modelo, se puede mejorar incluyendo el cálculo del pH del sistema para simular el perfil de pH a lo largo de los electrodos. Esto permitiría estudiar el efecto de los *buffers* que se añaden en el sistema e incluso optimizar su concentración.
- **Modelado de la fijación de las bacterias (*attachment*):** se han realizado trabajos experimentales donde se estudian la fijación de las bacterias para la formación de biopelículas y gránulos (*attachment*). Además, en los últimos años, se ha empezado a desarrollar técnicas experimentales para cuantificar la cinética de fijación de las bacterias en etapas tempranas de la formación de la biopelícula [29,30,31]. Es posible aprovechar el enfoque individual que aporta el IbM para modelizar el mecanismo de fijación de las bacterias en las etapas tempranas de la biopelícula junto la generación de sustancia polimérica extracelular (*extracellular polymeric substance*, EPS), necesaria para que las bacterias formen la biopelícula o gránulo [32]. También sería posible añadir el desprendimiento de la biopelícula. El objetivo principal del modelo sería predecir qué biopelícula se va a formar en base a las condiciones del medio. Con la información que proporcionase el modelo sería posible optimizar la bioaumentación de aquellos procesos que se busque la generación de gránulos en suspensión o de biopelícula en las superficie de algún material.

## Agradecimientos

Agradecimientos para Dr. Rebeca González Cabaleiro por el conocimiento, la ayuda y el apoyo a lo largo del desarrollo del modelo, Dr. Juan A. Baeza y Dr. Albert Guisasola por la aportación de conocimiento sobre las MFC y supervisión del trabajo, Raúl Cruz Beyret por el soporte computacional y Pilar Sánchez Peña por proporcionar los datos experimentales necesarios para el desarrollo del modelo.

## Información adicional

**Vídeos:** Crecimiento de la biopelícula catódica de todos los casos expuesto en este trabajo (Sim. B1, Sim. B2, Sim. B3, Sim. B4, Sim. C1, Sim. C2, Sim. C3, Sim. C4, Sim. C5, Sim. C6 y Sim. D1). Las esferas de color rojo (●) son las HAB y las de color azul (●) son las HANB. La escala de grises que acompaña al color de las bacterias representa la actividad de estas: como más oscuro es el color, menos actividad tiene la bacteria. La pérdida de volumen que se observa en las bacterias cuando están en fase *decay* se debe a la actividad endógena. Enlace: <https://bit.ly/2swwVAD>

**Información Suplementaria** acompaña este artículo: *Información Suplementaria n°1* complementa la explicación del modelo empleado. *Información Suplementaria n°2* incluye figuras que pueden ser de interés para el lector y que soportan la explicación de los resultados expuestos en este artículo.

## Referencias

- [1] Rabaey, K. *et al.* (2004) 'Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer', *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), p. 5373 LP-5382. doi: 10.1128/AEM.70.9.5373-5382.2004.
- [2] Rabaey, K. (2010) *Bioelectrochemical systems: from extracellular electron transfer to biotechnological application*.
- [3] Verstraete, W. and Rabaey, K. (2015) 'Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology', *Environmental science & Technology*, 40(17), pp. 1–9. doi: 10.1021/es0605016.
- [4] Logan BE. *Microbial Fuel Cells*. John Wiley & Sons, (2008)
- [5] Ahmed, J. and Kim, S. (2011) 'Effect of cathodic biofilm on the performance of air-cathode single chamber microbial fuel cells', *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(10), pp. 3726–3729. doi: 10.5012/bkcs.2011.32.10.3726.
- [6] Montpart, N. *et al.* (2018) 'Oxygen barrier and catalytic effect of the cathodic biofilm in single chamber microbial fuel cells', *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 93(8), pp. 2199–2207. doi: 10.1002/jctb.5561.
- [7] Zhang, X.-C. and Halme, A. (1995) 'Modelling of a microbial fuel cell process', *Biotechnology Letters*, 17(8), pp. 809–814. doi: 10.1007/BF00129009.
- [8] Gadkari, S., Gu, S. and Sadhukhan, J. (2018) 'Towards automated design of bioelectrochemical systems: A comprehensive review of mathematical models', *Chemical Engineering Journal*. Elsevier, 343(February), pp. 303–316. doi: 10.1016/j.cej.2018.03.005.
- [9] Kato Marcus A, Torres CI, Rittmann BE. (2007). 'Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell'. *Biotechnol Bioeng*, 98, pp. 1171–1182. doi: 10.1002/bit.21533
- [10] Ou, S. *et al.* (2016) 'Multi-variable mathematical models for the air-cathode microbial fuel cell system', *Journal of Power Sources*. Elsevier B.V, 314, pp. 49–57. doi: 10.1016/j.jpowsour.2016.02.064.
- [11] Bard AJ & Faulkner LR. *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, (2001)

- [12] Broka, K. and Ekdunge, P. (1997) 'Modelling the PEM fuel cell cathode', *Journal of Applied Electrochemistry*, 27(3), pp. 281–289. doi: 10.1023/A:1018476612810.
- [13] Gadkari, S., Gu, S. and Sadhukhan, J. (2018) 'Towards automated design of bioelectrochemical systems: A comprehensive review of mathematical models', *Chemical Engineering Journal*. Elsevier, 343(February), pp. 303–316. doi: 10.1016/j.cej.2018.03.005.
- [14] Hellweger, F. L. *et al.* (2016) 'Advancing microbial sciences by individual-based modelling', *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group, 14(7), pp. 461–471. doi: 10.1038/nrmicro.2016.62.
- [15] Kreft, J. U. *et al.* (2001) 'Individual-based modelling of biofilms', *Microbiology*, 147(11), pp. 2897–2912. doi: 10.1099/00221287-147-11-2897.
- [16] Hickson, R. I. *et al.* (2011) 'Finite difference schemes for multilayer diffusion', *Mathematical and Computer Modelling*. Elsevier Ltd, 54(1–2), pp. 210–220. doi: 10.1016/j.mcm.2011.02.003.
- [17] Batstone, Damien & Keller, J & Angelidaki, Irini & Kalyuzhnyi, Sergey & Pavlostathis, S & Rozzi, A & T M Sanders, W & Siegrist, H & Vavilin, Vasily. (2002). Anaerobic digestion model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*. 45. pp. 65-73. doi:10.1080/15435075.2018.1479265
- [18] Gujer, W., Henze, M., Mino, T., van Loosdrecht, M., 1999. Activated sludge model No. 3. *Water Sci. Technol.* 39 (1), pp0 183-193. doi: 10.1016/S0273-1223(98)00785-9
- [19] Kleerebezem, R. and Van Loosdrecht, M. C. M. (2010) 'A generalized method for thermodynamic state analysis of environmental systems', *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 40(1), pp. 1–54. doi: 10.1080/10643380802000974.
- [20] Ou, S. *et al.* (2016) 'Modeling and validation of single-chamber microbial fuel cell cathode biofilm growth and response to oxidant gas composition', *Journal of Power Sources*. Elsevier B.V, 328, pp. 385–396. doi: 10.1016/j.jpowsour.2016.08.007.
- [21] Oh, S. E. *et al.* (2009) 'Effects of applied voltages and dissolved oxygen on sustained power generation by microbial fuel cells', pp. 1311–1317. doi: 10.2166/wst.2009.444.
- [22] Taylor, P. *et al.* (no date) 'Critical Reviews in Environmental Science and Technology Microbiological Endogenous Processes in Biological Wastewater Treatment Systems Microbiological Endogenous Processes in Biological Wastewater Treatment Systems', (April 2013), pp. 37–41. doi: 10.1080/10643380802278901.
- [23] Kiely, P. D. *et al.* (2011) 'Bioresource Technology Long-term cathode performance and the microbial communities that develop in microbial fuel cells fed different fermentation endproducts', *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 102(1), pp. 361–366. doi: 10.1016/j.biortech.2010.05.017.
- [24] Ahmed, J. and Kim, S. (2011) 'Effect of cathodic biofilm on the performance of air-cathode single chamber microbial fuel cells', *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(10), pp. 3726–3729. doi: 10.5012/bkcs.2011.32.10.3726.
- [25] Li, X. *et al.* (2017) 'Microbial stratification structure within cathodic biofilm of the microbial fuel cell using the freezing microtome method', *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.137.

- [26] Yuan, Y., Zhou, S. and Tang, J. (2013) 'In Situ Investigation of Cathode and Local Biofilm Microenvironments Reveals Important Roles of OH<sup>-</sup> and Oxygen Transport in Microbial Fuel Cells'.
- [27] Botheju, D., Lie, B. and Bakke, R. (2010) 'Oxygen effects in anaerobic digestion - II', *Modeling, Identification and Control*, 31(2), pp. 55–65. doi: 10.4173/mic.2010.2.2.
- [28] Lide DR. 2006. CRC handbook of chemistry and physics. 87th 2006-2007 edn.
- [29] Kolari, M. (2003) *Attachment mechanisms and properties of bacterial biofilms on non-living surfaces Marko Kolari*.
- [30] Chen, F. (2017) 'Blue Light Switchable Bacterial Adhesion as a Key Step toward the Design of Biofilms', (August). doi: 10.1021/acssynbio.7b00197.
- [31] Shteindel, N. (2018) 'High-Throughput Quantitative Measurement of Bacterial Attachment Kinetics on Seconds Time Scale'. *Microbial Ecology*.
- [32] Environ, E. (2011) 'Environmental Science Electroactive biofilms: Current status and future research needs', pp. 4813–4834. doi: 10.1039/c1ee02511b.