



universidad  
de león



# Escuela de Ingenierías Industrial, Informática y Aeroespacial

## GRADO EN INGENIERÍA ELÉCTRICA

Trabajo de Fin de Grado

IMPLEMENTACIÓN DE UN CHIP DE MEDIDA DE LA IMPEDANCIA  
COMPLEJA EN UN GENERADOR BIOELECTROQUÍMICO

IMPLEMENTATION OF A COMPLEX IMPEDANCE MEASUREMENT  
CHIP IN A BIOELECTROCHEMICAL GENERATOR

Autor: Fernando Ruiz Mesa  
Tutor: Adrián Escapa González

(Diciembre, 2021)

**UNIVERSIDAD DE LEÓN**  
**Escuela de Ingenierías Industrial, Informática y**  
**Aeroespacial**

**GRADO EN INGENIERÍA ELÉCTRICA**  
**Trabajo de Fin de Grado**

**ALUMNO:** Fernando Ruiz Mesa

**TUTOR:** Adrián Escapa González

**TÍTULO:** Implementación de un chip de medida de la impedancia compleja en un generador bioelectroquímico

**TITLE:** Implementation of a complex impedance measurement chip in a bioelectrochemical generator

**CONVOCATORIA:** Diciembre, 2021

**RESUMEN:**

A la hora de analizar y caracterizar un sistema bioelectroquímico a través de las propiedades eléctricas de sus elementos constitutivos, cobra especial relevancia la espectroscopía de la impedancia compleja (i.e. EIS). La mayoría de estos análisis se llevan a cabo usando unos potenciostatos equipados con un módulo de análisis para este fin, lo cual implica hablar de instrumentos caros e inmóviles (lo que puede llevar a una distorsión de las mediciones a causa del cableado), y que en cierto modo poseen unas características mejores de las necesarias para hacer una rápida caracterización de experimentos. Además, teniendo en cuenta que la mayoría de experimentos llevan asociada una fase de escalado antes de su implementación cobra mayor peso el poder disponer de un analizador móvil y que aunque sea poco preciso pueda darnos una rápida estimación del estado de nuestro experimento. El lector advertirá que el trabajo comienza planteando la necesidad de nuevas fuentes renovables de energía y con ello pasará a descubrir los sistemas bioelectroquímicos, para más adelante aprender a discernir los tipos de mediciones utilizadas en la caracterización de los mismos y los parámetros más relevantes a la hora de evaluar la viabilidad de un instrumento de medida. La segunda mitad, permitirá al lector dominar el uso de una placa electrónica comercial destinada al análisis a través de la espectrometría de la impedancia compleja y las posibilidades de esta técnica para el estudio de las características capacitivas y resistivas de los electrodos de este tipo de celdas electroquímicas. Finalmente, se expondrán los resultados derivados de la experimentación a la par que se propondrán futuras líneas de trabajo para el interés de futuros alumnos.

**ABSTRACT:**

When analyzing and characterizing a bioelectrochemical system through the electrical properties of its constituent elements, complex impedance spectroscopy (i.e. EIS) takes on special relevance. Most of these analyzes are carried out using potentiostats equipped with an analysis module for this purpose, which implies talking about expensive and immobile instruments (which can lead to a distortion of the measurements due to the wiring), and that in a way they have better characteristics than are necessary for rapid characterization of experiments. In addition, taking into account that most experiments are associated with a scaling phase before their implementation, having a mobile analyzer takes on greater weight and that, although it is not very precise, it can give us a quick estimate of the state of our experiment. The reader will notice that the work begins by raising the need for new renewable sources of energy and with this will go on to discover bioelectrochemical systems, to later learn to discern the types of measurements used in their characterization and the most relevant parameters to the The second half will allow the reader to master the use of a commercial electronic board intended for analysis through complex impedance spectrometry and the possibilities of this technique for the study of characteristics. Capacitive and resistive electrodes of this type of electrochemical cells. Finally, the results derived from the experimentation will be presented at the same time that future lines of work will be proposed for the interest of future students.

**Palabras clave:** BES, MFC, EIS.

**Firma del alumno:**

**VºBº Tutor/es:**

# Índice

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Introducción</b>                                     | <b>4</b>  |
| 1.1. Los objetivos de desarrollo sostenible . . . . .      | 5         |
| 1.2. El residuo es el nuevo recurso . . . . .              | 6         |
| 1.3. Almacenamiento de energía . . . . .                   | 8         |
| 1.4. Estado del arte . . . . .                             | 9         |
| <b>2. Objetivos</b>  | <b>11</b> |
| <b>3. Sistemas bioelectroquímicos</b>                      | <b>12</b> |
| 3.1. Celda de combustible microbiana . . . . .             | 13        |
| 3.1.1. Microorganismos . . . . .                           | 14        |
| 3.1.2. Sustratos . . . . .                                 | 16        |
| 3.1.3. Electroodos . . . . .                               | 17        |
| 3.1.4. Membrana . . . . .                                  | 18        |
| 3.2. Limitaciones . . . . .                                | 19        |
| <b>4. Análisis electroquímico</b>                          | <b>23</b> |
| 4.1. Espectroscopia de impedancia electroquímica . . . . . | 25        |
| 4.2. Análisis bioelectroquímico . . . . .                  | 27        |
| <b>5. Instrumentación</b>                                  | <b>30</b> |
| 5.1. AD5933 . . . . .                                      | 33        |
| 5.2. EVAL AD5933 . . . . .                                 | 35        |
| 5.3. Parámetros . . . . .                                  | 37        |
| <b>6. Experimentación</b>                                  | <b>40</b> |
| 6.1. Error de calibración . . . . .                        | 40        |
| 6.2. Ensayo inicial . . . . .                              | 42        |
| 6.3. Ensayo avanzado . . . . .                             | 44        |
| <b>7. Conclusiones</b>                                     | <b>46</b> |
| 7.1. Futuras líneas de trabajo . . . . .                   | 46        |

## Índice de figuras

|  |    |
|--|----|
| 1.1. Objetivos de desarrollo sostenible. Fuente: [96]. . . . .   | 5  |
| 1.2. Tratamiento de aguas residuales. Fuente: elaboración propia [68]. . . . .                             | 7  |
| 1.3. Sistema de síntesis microbiana. Fuente: [88]. . . . .   | 8  |
| 3.1. Clasificación de sistemas electroquímicos. Fuente: [44]. . . . .                                      | 12 |
| 3.2. Esquema de un MFC simple. Fuente: [62]. . . . .   | 13 |
| 3.3. Mecanismos de transmisión electrónica. Fuente: [66]. . . . .  | 14 |
| 3.4. Rutas metabólicas en microorganismos electrogénos. Fuente: [24]. . . . .                              | 15 |
| 3.5. Resultados obtenidos con distintos sustratos. Fuente: [26]. . . . .                                   | 16 |
| 3.6. Distintas configuraciones de las MFCs. Fuente: [14]. . . . .  | 18 |
| 3.7. Máxima potencia obtenible. Fuente: [101]. . . . .   | 22 |
| 4.1. Modelización eléctrica de la celda básica y diagrama de Nyquist. Fuente:<br>[63]. . . . .             | 24 |
| 4.2. Configuración típica de los electrodos de una celda. Fuente: [32]. . . . .                            | 25 |
| 4.3. Esquema de señal multisenso. Fuente: [15] . . . . .   | 26 |
| 4.4. Circuito equivalente simple de Randles y variación. Fuente: [23]. . . . .                             | 28 |
| 4.5. Equivalencia entre el diagrama de Nyquist y Bode. Fuente: [23]. . . . .                               | 29 |
| 4.6. Variación del rango de frecuencias para el análisis de una batería de litio.<br>Fuente: [12]. . . . . | 29 |
| 5.1. Esquema básico de un potencióstato. Fuente: [90]. . . . .   | 30 |
| 5.2. El origen. Fuente: Elaboración propia. . . . .  | 31 |
| 5.3. Esquema básico del AD5933. Fuente: [18]. . . . .  | 33 |
| 5.4. Esquema funcional de la etapa transmisora. Fuente: [18]. . . . .                                      | 33 |
| 5.5. Diagrama de bloques de la EVAL AD5933. Fuente: [7]. . . . .   | 35 |
| 5.6. Rangos a 3'3V. Fuente: [25]. . . . .  | 35 |
| 5.7. EVAL AD5933. Fuente: elaboración propia. . . . .  | 36 |
| 5.8. Exactitud y precisión. Fuente [87] . . . . .  | 38 |
| 5.9. Curva de límites de sensibilidad. Fuente: [94]. . . . .   | 39 |
| 6.1. Comparativa de errores de impedancia en x1 y x5. . . . .  | 40 |
| 6.2. Comparativa de errores de fase en x1 y x5. . . . .  | 40 |
| 6.3. Comparativa de desviación típica en x1 y x5. . . . .  | 41 |

---

|  |    |
|--|----|
| 6.4. Comparativa del uso de cables cortos y largos. . . . .                      | 41 |
| 6.5. Diagrama de Nyquist experimento I. . . . .                                  | 42 |
| 6.6. Diagrama de Nyquist experimento II. . . . .                                 | 43 |
| 6.7. Diagrama de Nyquist experimento III. . . . .                                | 43 |
| 6.8. Montajes experimentales sobre dummy cell y circuito complejo. . . . .       | 44 |
| 6.9. Resultados obtenidos sobre la dummy cell. . . . .                           | 44 |
| 6.10. Esquema equivalente del circuito complejo y teoría asociada. Fuente: [39]. | 45 |
| 6.11. Esquema equivalente del circuito compuesto y teoría asociado. . . . .      | 45 |
| 6.12. Resultados obtenidos sobre la fruta de temporada. . . . .                  | 45 |

## 1. Introducción

Cito a otros para expresarme mejor.

---

Michel de Montaigne

La concepción de este trabajo surge de la estrecha colaboración estival con el grupo de investigación de Ingeniería Química, Ambiental y Bioprocesos (i.e. IQUIMAB) donde se investiga la generación de energía eléctrica y biocombustibles a través de la asimilación de residuos orgánicos por parte de microorganismos.

Este grupo está compuesto por un diverso equipo de ingenieros, químicos y biólogos, que en la mayor parte de los casos buscan advertir la mejoría en sus experimentaciones bien a través de técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (i.e. HPLC) o bien a través de la espectroscopía de la impedancia compleja (i.e. EIS), siendo esto en la mayoría de los casos un problema debido a la escasez de estos costosos instrumentos y los largos tiempos de reparación en caso de deterioro.

A raíz de esto, surge la ocasión de aventurarse a explorar las alternativas relacionadas al instrumento de análisis de EIS con el objetivo de reducir los tiempos de espera de los investigadores, buscando primero el entender a fondo el funcionamiento y significado de los resultados manifestados por este método de análisis.

En el camino a través de este trabajo, inicialmente se planteará la problemática a nivel global que supone la generación de residuos y cómo estos pueden ser reconsiderados como materia prima dentro de una economía circular. A continuación, se tratarán superficialmente en los métodos de obtención de energía a partir de materia orgánica, con el objetivo de dar paso a las celdas de combustible microbiano. Tras esto, se expondrán las distintas técnicas de análisis electroquímico disponibles a día de hoy para este tipo de celdas, y con ello podremos profundizar en la técnica usada en el grupo IQUIMAB para mejorar la eficiencia de los electrodos. En última instancia, se presentará una comparativa entre la instrumentación usada por los investigadores y una alternativa más económica encontrada en el mercado y que aunque tiene una serie de limitaciones técnicas, también plantea una ventaja en lo que a movilidad se refiere. Al finalizar, se comprenderá a través de la experimentación la facilidad de uso de esta placa y la infinidad de líneas de trabajo que instituye.

## 1.1. Los objetivos de desarrollo sostenible

A lo largo de este año 2021 ha ido cobrando más importancia la sostenibilidad, en especial dentro de la Universidad de León debido a la participación activa de nuestro Vicerrectorado de Internacionalización en la Alianza Universitaria Europea para la Producción y el Consumo Responsables, cuya principal meta sigue el camino marcado por el decimosegundo objetivo de desarrollo sostenible de las naciones unidas [96] y que va ligado a la noción de economía circular, persiguiendo el fin último de que todo producto se plantee para que sirva como materia prima una vez finalice su vida útil.



*Figura 1.1: Objetivos de desarrollo sostenible. Fuente: [96].*

Siendo realistas, tenemos que considerar que en una economía capitalista, tanto el empresario obcecado en reducir sus costes de producción para aumentar el margen de beneficio, como el consumidor final centrado en buscar continuamente bajos precios; preferirán una materia prima barata, sin importar si es una materia virgen o reciclada.

Rechazar, reducir, reutilizar y reciclar son sin duda las cuatro palabras que nos han grabado a fuego desde pequeños en la cabeza y que sin embargo, estas palabras no cobran valor si no entendemos el mal uso que hacemos de las mismas en el día a día. En el artículo 'El viaje no tan circular de los residuos domésticos en España' [84] se expone el hecho de que muchos residuos de nuestra vida cotidiana no son reciclables y esto deriva en que toneladas de basura plástica europea terminen en Malasia [1].

Y es que ningún residuo deja de serlo hasta que se le encuentra valor.

## 1.2. El residuo es el nuevo recurso

A medida que el cambio climático prive a ciertas regiones de este recurso y teniendo en cuenta que el incremento poblacional supone un incremento de la cantidad utilizada, el agua se convierte en un recurso escaso [82]. En consonancia a esta problemática, atiende el sexto objetivo de la ONU al aprovisionamiento de agua y el saneamiento. Partiendo de la lógica del ahorro y la necesidad de no desperdiciar ni una sola gota, queda preguntarse... ¿hay algo más que podamos hacer?

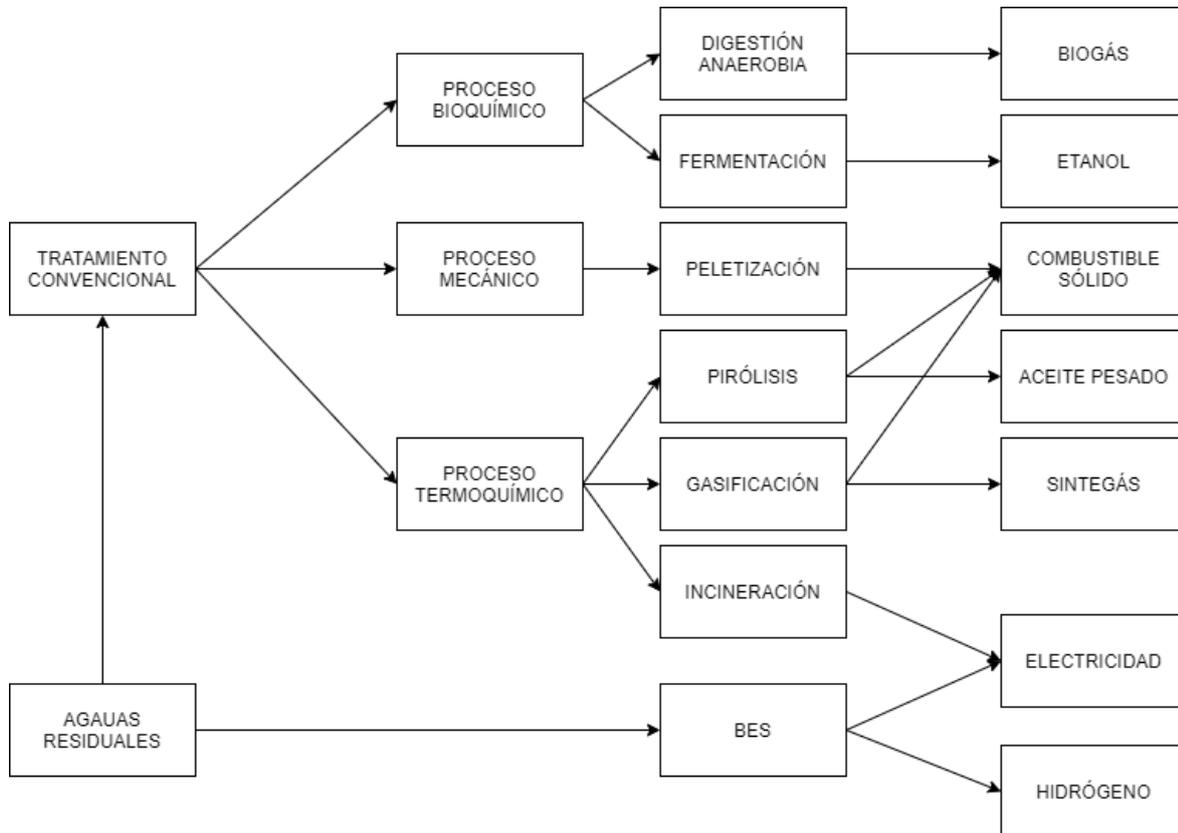
Las aguas residuales han sido consideradas desde la instauración de las estaciones depuradoras como simple agua contaminada que había de ser depurada para devolverla a su ciclo natural, estando compuestas en su mayoría por agua potable (i.e. 99'9%) y en un menor porcentaje por sólidos, gases disueltos y componentes biológicos [77].

Es primordial asegurar correctos valores de todos aquellos parámetros relacionados con factores que pueden dañar el medioambiente (i.e. residuos sólidos, DBO, DQO, acidez, alcalinidad, grasas, aceites, grasas animales, gases, solventes, nutrientes, metales pesados y compuestos orgánicos persistentes) y no obstante no hay que dejar de lado el hecho de que estas aguas poseen un gran potencial energético (e.g. metanización).

La EDAR de la ciudad de León y su alfoz recibe un caudal de entrada de en torno a 330000 habitantes equivalentes [80], un término recogido en el Real Decreto 11/1995 como la carga orgánica biodegradable con una demanda bioquímica de oxígeno de cinco días (DBO 5), de 60 gramos de oxígeno por día [76]. Este concepto engloba a las aguas residuales provenientes de toda actividad humana (e.g. actividad industrial) y es así, que este número supera con creces al número de habitantes reales de nuestra ciudad. El tratamiento de aguas actual incluye varias etapas y consiste en un largo proceso de purificación con unos altos costes energéticos situados en torno a los 16'5  $GWh/año$  (i.e. 50  $kWh/año$  habitante equivalente [83]).

*Grosso modo*, podemos hacer una estimación de los requerimientos energéticos, que en el mejor de los casos en el que no tuviésemos en cuenta la huella de carbono de una placa solar de 1000  $W/m^2$  que funciona durante una media diaria de 6 horas durante todo el año, supondría inutilizar el tamaño de terreno equivalente a un campo de fútbol (i.e. 7140  $m^2$ ) para dedicar exclusivamente a la energía consumida por nuestra EDAR, lo cual plasma la magnitud de este consumo a un nivel global.

Volviendo ahora al tratamiento de las aguas podemos afirmar que si bien es cierto, que el proceso no es óptimo, se han ido desarrollado una serie de procesos para revalorizar los lodos obtenidos del pretratamiento y las depuraciones primaria y secundaria:



*Figura 1.2: Tratamiento de aguas residuales. Fuente: elaboración propia [68].*

A ojos del mundo, es claro que la actividad humana conlleva un perjuicio al medio ambiente y aún así seguimos sin perder la esperanza de alcanzar las cero emisiones netas en un futuro próximo y previo a nuestra extinción. Hasta el día que podamos hacer uso de la energía nuclear de fusión [92] y teniendo en cuenta el miedo infundado de la sociedad por la energía nuclear de fisión, sólo nos queda apoyarnos en la generación de energía a partir a través de fuentes sostenibles y renovables.

La energía solar fotovoltaica, solar térmica, eólica, hidráulica, mareomotriz, de biomasa y geotérmica han marcado la hoja de ruta de la generación renovable hasta hoy, empero la extracción de energía de las aguas residuales apoyada en la electricidad y el hidrógeno como vectores suponen el camino hacia un futuro, que ha de ser apoyado por la inversión y sustentado sobre la dedicación de los grupos de investigación.

### 1.3. Almacenamiento de energía

La tesis del trabajo de fin de grado “La red inteligente y el vehículo eléctrico” [50] esclarecía la grave problemática de una globalización que incrementa la demanda energética apoyada en una infraestructura obsoleta y el avance hacia las fuentes de energía renovables sin reforzar las diferentes estructuras de almacenamiento de energía. Ulteriormente, tras el abandono de la energía nuclear por el miedo infundido en la población tras el accidente de Fukushima, disponemos de menos energías de carga base capaces de suministrarnos electricidad al momento necesario y es por ello, que requerimos de gas natural como instrumento para dotar de flexibilidad al suministro. Asimismo, se ha podido comprobar la dependencia energética del mercado europeo en las economías productoras de gas, que ha degenerado en una crisis de abastecimientos.

Hay varios sistemas de almacenamiento de energía eléctrica actuales que harán posible la descentralización del sistema eléctrico gracias a la absorción excesos de la generación y su rápido abastecimiento de la demanda (e.g. sistemas de bombeo, aire comprimido, volantes de inercia, baterías electroquímicas y los supercondensadores). Siendo los supercondensadores el exponente más prometedor debido a sus altas densidades energéticas y bajos tiempos de descarga. Sin embargo, es la gran olvidada tecnología “Power to gas” la que puede otorgar mayor flexibilidad energética al mundo.

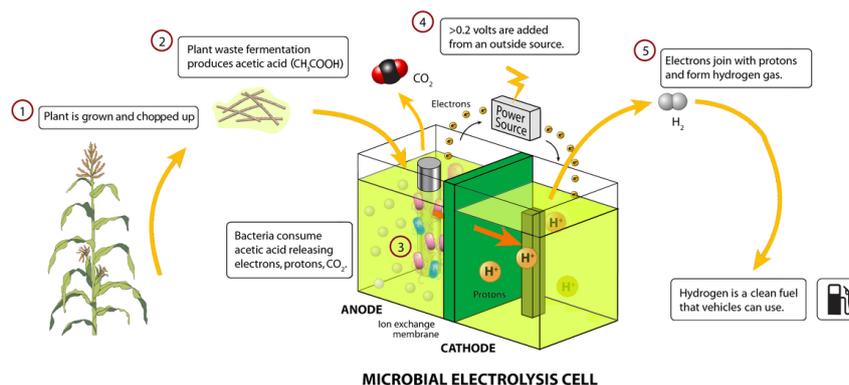


Figura 1.3: Sistema de síntesis microbiana. Fuente: [88].

Esta tecnología se deriva del hecho de que el gas generado (i.e. hidrógeno, metano o syngas) puede ser convertido de nuevo en electricidad o ser empleado como combustible. Este trabajo desarrolla la caracterización de sistemas bioelectroquímicos entre los que se incluye la tecnología P2G conocida como sistemas de síntesis microbiana (i.e. MES).

## 1.4. Estado del arte

Este trabajo de fin de grado tiene un gran componente de revisión bibliográfica y es por ello que podemos dividir el estado del arte en tres subapartados siendo el primero de ellos el que a recientes avances de los sistemas bioelectroquímicos se refiere. Consecutivamente, indagaremos en el desarrollo de tecnologías de análisis portables y finalmente haremos énfasis en la espectroscopía de la impedancia compleja y el AD5933.

### Sistemas Bioelectroquímicos

El sino de los sistemas bioelectroquímicos girará en torno a ciertas aplicaciones: primeramente la **biorremediación** (i.e. tratamiento de aguas residuales, degradación de materiales orgánicos volátiles y extracción de metales pesados [31]), el **bioanálisis** (i.e. sensores basados en MFC garantice un monitoreo y detección rápidos e *in situ* de los analitos tóxicos necesarios para las pruebas de calidad del agua) la **biosíntesis** (i.e. hidrógeno verde y gas natural) y finalmente la **bioenergía** (i.e. generación eléctrica).

En lo que a bioenergía se refiere, los trabajos más recientes han medido capacidades del orden de decenas de faradios por metro cuadrado en los electrodos [54] y han demostrado el incremento de la capacidad eléctrica en los bioelectrodos de nanotubos de carbono y grafeno [53], unido esto a las técnicas de fabricación aditiva porosa [36].

### Espectroscopía de impedancia compleja

Numerosas aplicaciones se han encontrado al análisis de la impedancia compleja, habiéndose hecho uso de la técnica espectroscópica en la mayoría de los casos debido a su carácter no invasivo, es decir, que no afecta a las características de la muestra, carácter que se origina en su naturaleza de baja perturbación y su alta sensibilidad. Reflejado en las notas de aplicación de las distintas casas como es la de Biologic [74], podemos llegar a vislumbrar su gran potencial:

- **Alimentación.** Se ha usado para controlar el crecimiento de levadura en los procesos industriales de elaboración de cerveza [35], observar la madurez [56] y de conservación [71] de una fruta, así como de batatas [70]; detectar la *Salmonella enterica* en muestras de leche cruda [51].

- **Biomedicina.** Se ha estudiado su aplicación en enfermos crónicos [60], así como la monitorización de la malnutrición infantil [61] y la fatiga muscular [47], la resistencia a bacterias [37] [52] e inmunosensores ultrasensibles para la detección de aflatoxina B1 fúngica [46].
- **Circuitos electrónicos y eléctricos.** Se ha estudiado la corrosión en obras de arte [38], la caracterización de baterías eléctricas de capa fina [34], la predicción del estado de las baterías desechadas [64] y la detección del fenómeno de “plating” en baterías de Litio [59].

### Instrumentación

Algunas de las aplicaciones anteriormente mencionadas, ya centran su atención en el desarrollo de prototipos de análisis portables [34] [60] y extrema sencillez, otros trabajos se dedican a la creación de potencióstatos enfocados al ámbito educativo [41].

Algunos prototipos no son móviles, mas podemos destacar la sofisticación en el trabajo de Siegert et. al [45] o Molderez et al. [95], a la hora de proponer diseñar prototipos que permitan la implementación de varios canales de estimulación en paralelo para una posterior caracterización de las biopelículas anódicas en distintos sistemas bioelectroquímicos [65], acortando con ello los tiempos de espera de los laboratorios.

Hay un gran vademécum en lo que se refiere al uso de arduinos para la realización de este tipo de análisis bioelectroquímicos [29] [38] [73] [75], pero como veremos a lo largo del trabajo, esto se hubiese salido mucho del ámbito eléctrico y *tempus fugit*.

Múltiples son los ejemplos de analizadores de impedancia portátiles basados en el AD5933 [27] [33] [49] [72], debido en gran medida al amplio espectro de aplicación.

Entrando ya en materia, encontramos un artículo de la revista Circuit Cellar en Enero del 2019 [91] que hace mención a las vastas expectativas generadas por el chip AD5933 tanto con la tarjeta EVAL AD5933 como con la de la casa tarjeta de Diligent. Este artículo Allison et al. [48], muestran el uso de la EVAL AD5933 para el análisis de impedancia del bíceps braquial, calibrando el instrumento con un circuito paralelo equivalente del músculo que consta de un condensador de 5 nF y un valor resistivo de 1 kOhm, siendo la señal de 2 Vpp para un rango de frecuencia de 10 kHz a 100 kHz.

## 2. Objetivos

Hacer la pregunta indicada supone tener ya la mitad de la solución.

---

C.G. Jung

Se plantea como objetivo principal avanzar en la investigación de un equipo portátil que permita determinar, con un cierto nivel de precisión, la impedancia compleja de una batería bioelectroquímica, para la caracterización capacitiva de nuevos electrodos.

Este objetivo se articula en los siguientes objetivos secundarios que servirán de guía para la estructura de este trabajo:

- Revisión bibliográfica que muestre la relevancia de los sistemas bioelectroquímicos dentro de la sostenibilidad ambiental, al igual que sus técnicas de caracterización.
- Examinación de las soluciones de hardware y software más adecuadas.
- Selección de una solución de bajo costo, que aun sacrificando en cierto modo la precisión del análisis, pueda señalar resultados esclarecedores en los experimentos.
- Análisis de la electrónica del instrumento y sus parámetros limitantes.
- Valoración de la exactitud y precisión del equipo desarrollado tomando referencia en circuitos de valores conocidos que simulen algunas baterías bioelectroquímicas.

### 3. Sistemas bioelectroquímicos

Fue el 14 de Septiembre de 1911 cuando M.C. Potter menciona en su artículo “Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds” [2] por primera vez la posibilidad de generar energía eléctrica a partir de microorganismos, y es en el antropoceno cuando la generación y almacenamiento de energía eléctrica cobran una mayor relevancia a medida que se consumen los últimos recursos fósiles.

Antes de empezar a hablar de las celdas de combustible microbianas, sin embargo, necesitamos adquirir un punto de vista más genérico sobre qué son y cómo funcionan los denominados sistemas bioelectroquímicos (i.e. BES).

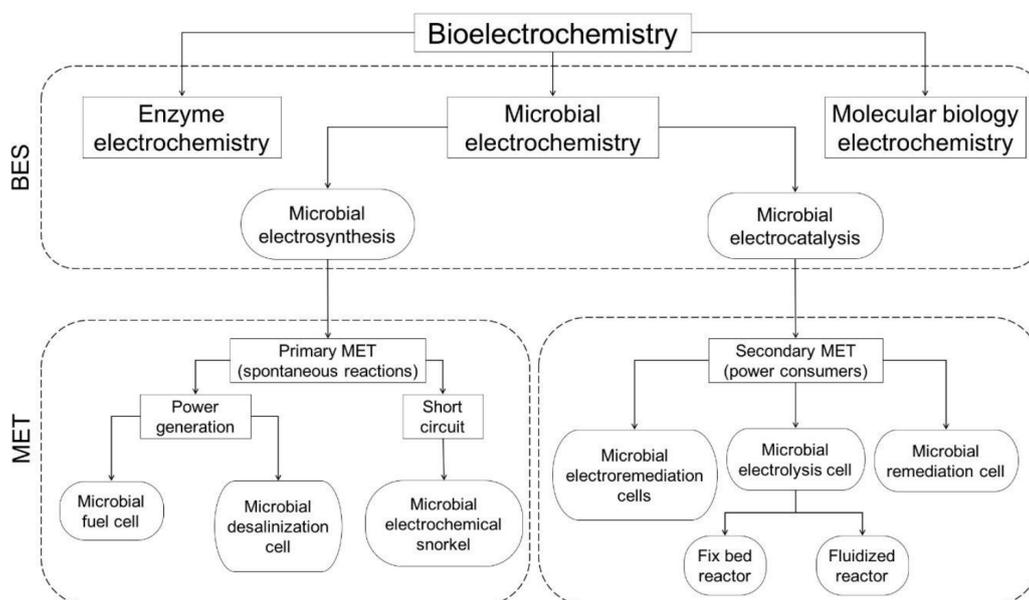


Figura 3.1: Clasificación de sistemas electroquímicos. Fuente: [44].

Los sistemas bioelectroquímicos pueden ser vistos como sistemas electroquímicos convencionales en los cuales al menos una de las reacciones (i.e. anódica y/o catódica) está catalizada biológicamente. Al igual que estos últimos, los BES son reversibles y pueden funcionar a modo de batería (i.e. batería bioelectroquímica) o electrolizador (i.e. electrolizador electroquímico). Cuando operan en modo batería, los BES son capaces de originar energía eléctrica oxidando biológicamente materia orgánica (idealmente materia orgánica residual), mientras que cuando operan en modo electrolizador son capaces de convertir energía eléctrica en energía química (e.g. gas hidrógeno o metano), es decir, en este caso son capaces de operar como sistemas de almacenamiento de energía.

### 3.1. Celda de combustible microbiana

Un MFC estándar consta de dos electrodos separados entre sí por medio de una membrana que mantiene dos cámaras separadas: una cámara anódica y la catódica. Siendo la cámara anódica, aquella en la que el microorganismo degrada la materia orgánica produciendo electrones que se liberan al ánodo a través de una serie de enzimas respiratorias de la célula. La cámara que alberga al cátodo, es donde los electrones reaccionan con un aceptor de electrones terminal que normalmente es el oxígeno [21].

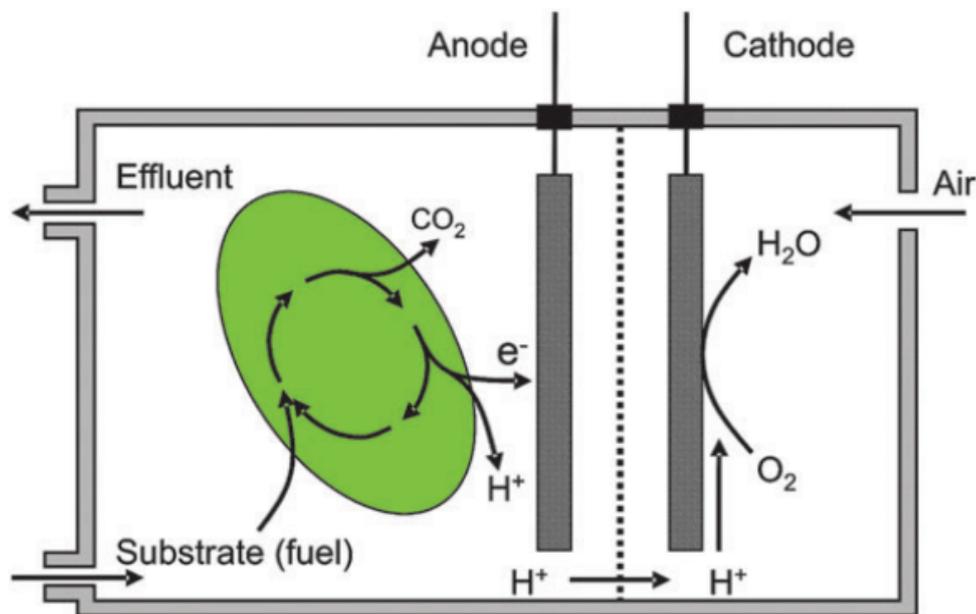


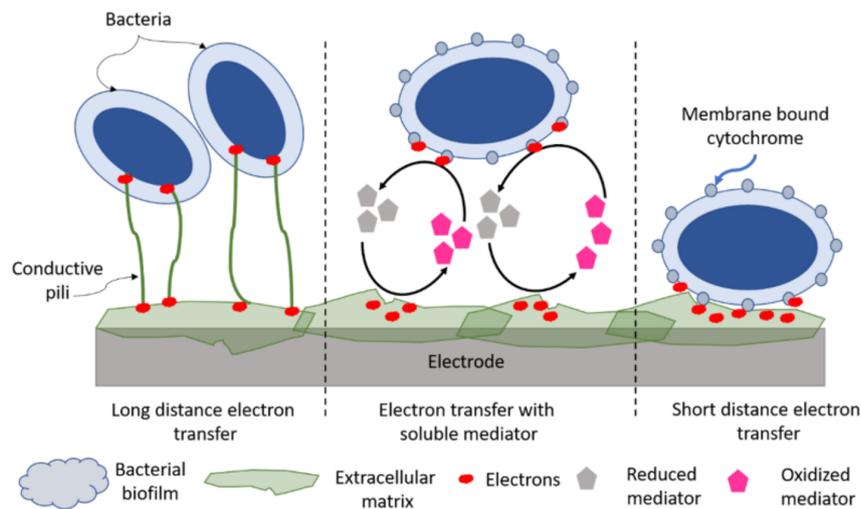
Figura 3.2: Esquema de un MFC simple. Fuente: [62].

Los dos electrodos están conectados por un cable que contiene una carga que permite la transferencia de electrones del ánodo al cátodo. En principio, la membrana que separa el ánodo del cátodo es permeable a los protones producidos en el ánodo, por lo que estos migrarán al cátodo donde podrán combinarse con los electrones transferidos a través del conductor y con el oxígeno, dando lugar a la molécula de la vida (i.e. agua).

En los siguientes subapartados advertiremos a discernir las características de los distintos elementos constitutivos de estas celdas, así como el estado del arte y las limitaciones a las que se enfrenta el futuro de esta tecnología. Como punto de partida, los parámetros que están bajo el punto de mira de los investigadores son los coeficientes de difusión, constantes de velocidad de transferencia de electrones, mecanismos de adsorción, resistencias de transferencia de carga, capacitancias y tamaños de poro [57].

### 3.1.1. Microorganismos

Los microorganismos electrógenos son la base de esta tecnología y actúan generando electricidad al intercambiar electrones con los electrodos a la par que oxidan materia orgánica o inorgánica. Este principio hace uso del hecho de que la transferencia de electrones exocelulares bacterianos juega un papel importante en las comunidades microbianas anaeróbicas que degradan la materia orgánica y las que utilizan aceptores de electrones insolubles (e.g. óxido de hierro (III) y manganeso (IV)) para su crecimiento. Sorprendentemente, varios contaminantes presentes en las aguas residuales (i.e. azufre, colorante azoico, nitrobenzeno, clorofenol, cromo, estrógenos disruptores endocrinos, cobre, uranio, etc.) actúan como mediadores en la transferencia de electrones al ánodo.



*Figura 3.3: Mecanismos de transmisión electrónica. Fuente: [66].*

En la Figura 3.3 podemos observar varios mecanismos de transmisión electrónica, los cuales han ido descubriéndose a lo largo de las últimas décadas [4] [6] [8] y nos permiten tener un mayor entendimiento la conformación de las biopelículas formadas en la superficie de los electrodos. Diferenciamos si el aceptor de electrones se encuentra dentro o fuera del microorganismo, el metabolismo de fermentación y el de respiración.

Al buscar una visión más general de los procesos biológicos electrogénicos, nos cruzamos las rutas metabólicas de los microorganismos, que desgranar la formación de acetatos o formiatos cuando el biocatalizador descompone biológicamente el sustrato. También se produce la producción de cationes. Y que explican la formación de las biopelículas debido a la acción de la NAD para el transporte de los subproductos.

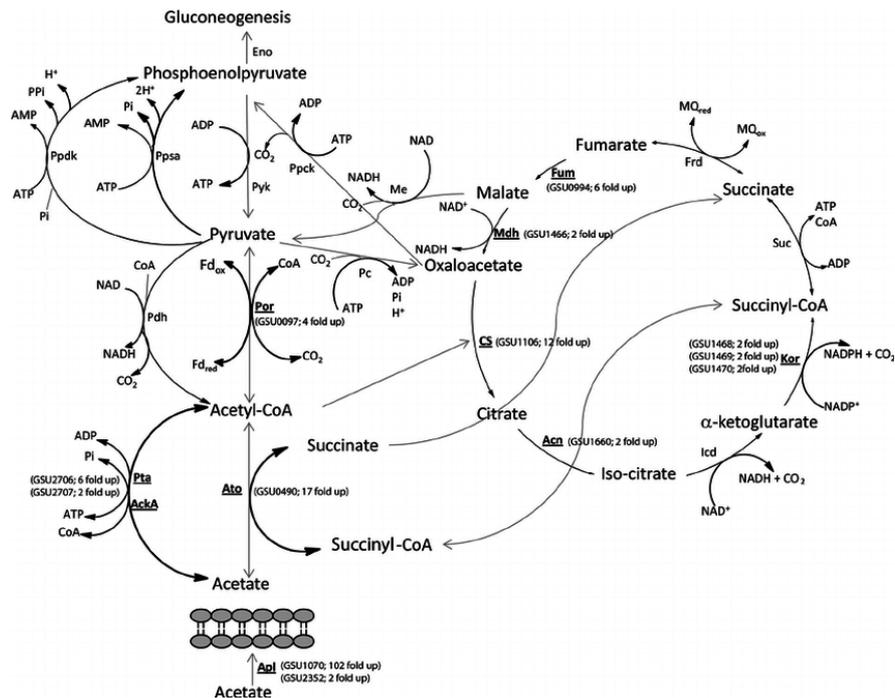


Figura 3.4: Rutas metabólicas en microorganismos electrogénicos. Fuente: [24].

Idealmente, se puede hacer uso de especies que no requieran de un mediador para la transferencia de electrones al reducir el sustrato, tales como *Shewanella putrefactions*, *Geobacteraceae spp.*, *Rhodoferrax ferrireducens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y la *Geobacter sulfurreducens*; sin embargo, es casi imposible inocular nuestras celdas con cultivos puros de microorganismos electrogénicos (e.g. bacterias metanogénicas). Hay amplia bibliografía sobre los resultados de distintas especies [26].

En el artículo escrito por Chabert et al. [30] se plantean aspectos clave que aún no han sido estudiados con la suficiente profundidad como puede ser las comparaciones precisas de los inóculos naturales y sus rendimientos eléctricos. Además, muestra que las cepas de bacterias directamente aisladas de las biopelículas electroactivas han mostrado un rendimiento electroquímico más alto que sus cepas tipo. Otra línea de trabajo, es la composición y organización espacial de cada especie bacteriana dentro de la biopelícula, así como sus intercambios de señalización, lo cuales, pueden ser cruciales para la expresión de genes necesarios para producir citocromos, nanocables y mediadores.

Se ha innovado haciendo uso combinado de microalgas para llevar a cabo una fotosíntesis oxigénica en el cátodo y cianobacterias en el ánodo para captar  $CO_2$  [40]. También, se ha buscado crear simbiosis con los humedales de purificación de agua [44].

### 3.1.2. Sustratos

Haciendo referencia a la Figura 3.4, entendamos que no hay una ruta metabólica específica de cada especie, sino que muchas especies hacen uso de distintos compuestos y generan distintos compuestos según las condiciones del medio (e.g. pH) y su nivel de crecimiento poblacional (e.g. metabolitos secundarios).

| Wastewater                       | Species  | Initial concentration             | Voltage, current and/or power density                          | COD removal (%) |
|----------------------------------|--|-----------------------------------|--|-----------------|
| Chemical wastewater              | Mixed culture  | 6200 mg/L COD                     | 272 mV, 5.43 mA  | 35.4            |
| Synthetic Wastewater             | Mixed culture  | 10,540 mg/L COD                   | 304 mV, 6.08 mA  | 62.9            |
|                                  |  | 2.64 kg COD/m <sup>3</sup> d      | pH 7: 226 mV, 0.84 mA, 7.43 mW/m <sup>2</sup>                  | 43.8            |
| Domestic wastewater              | Mixed culture  | 3.54 kg COD/m <sup>3</sup> d      | pH 6: 297 mV, 0.82 mA, 7.83 mW/m <sup>2</sup>                  | 35.2            |
|                                  |  |                                   | pH 7: 291 mV, 0.82 mA, 7.69 mW/m <sup>2</sup>                  | 43.2            |
| Swine wastewater                 | Mixed culture  | 4.9 kg COD/m <sup>3</sup> d       | pH 6: 308 mV, 0.93 mA, 8.89 mW/m <sup>2</sup>                  | 41.9            |
|                                  |  |                                   | 289.61 mA/m <sup>2</sup> , 125.4 mW/m <sup>2</sup>             | 23.8            |
| Rice mill wastewater             | Mixed culture  | 2200–2250 mg/L COD                | About 480 mV, 60 mW/m <sup>2</sup>                             | 81              |
| Palm oil mill effluent           | Mixed culture  | 200 mg/L COD                      | 610 mV, 226.3 mW/m <sup>2</sup>                                | 66.1            |
|                                  |  |                                   | 622 mW/m <sup>2</sup> , 32%CE                                  | 23              |
| Dairy wastewater                 | <i>E. coli</i> (DH5-a)                                   | 1200 mg/L COD                     | 400 ± 15 mV, 5.7 ± 0.2 W/m <sup>3</sup>                        | 80 ± 10         |
| Domestic wastewater              | Anaerobic consortia                                      | 545 mg/L COD                      | 300 ± 10 mV, 3.2 ± 0.2 W/m <sup>3</sup>                        | 75 ± 7          |
| Pharmaceutical wastewater        |  | 12,000 mg/L COD                   | 346 mV, 120 mW/m <sup>2</sup>                                  | 85.8            |
| Human feces wastewater           | Mixed culture  | 450 mg/L COD                      | 548 mV, 209 mA/m <sup>2</sup> , 70.8 mW/m <sup>2</sup>         | 88              |
| Bad wine                         | <i>Acetobacter aceti</i> and <i>Gluconobacter roseus</i> | 7.8 ± 0.2 g/L COD                 | 535 mV, 7.13 A/m <sup>3</sup> , 3.82 W/m <sup>3</sup> , 45% CE | 59              |
| Agriculture wastewater           | <i>S. oneidensis</i> MR-1                                | 397 ± 15 mg/L COD                 | 0.23 mA, 13 mW/m <sup>2</sup>                                  | 64.5            |
| Domestic wastewater              | <i>S. oneidensis</i>                                     | 671 ± 20 mg/L COD                 | 0.38 mA, 36 mW/m <sup>2</sup>                                  | 73.9            |
| Paper wastewater                 |  | 1250 ± 15 mg/L COD                | 0.3 mA, 28 mW/m <sup>2</sup>                                   | 34.8            |
| Food/Dairy wastewater            | <i>Bacteroidetes thermophiles</i>                        | 1562 ± 20 mg/L COD                | 0.66 mA, 13 mW/m <sup>2</sup>                                  | 83.0            |
| Alcohol distillery wastewater    |  | 9.7 ± 0.6 kg COD/m <sup>3</sup> d | 11.5 ± 0.3 mA, 0.36 ± 0.01 W/m <sup>2</sup> , 81 ± 2% CE       | 76 ± 3          |
| Dye wastewater                   | <i>S. oneidensis</i>                                     | 350 mg/L Acid Orange 7            | 38 mW/m <sup>2</sup>   | 73.7 ± 15       |
| Dye wastewater                   | Mixed culture  | 76.5 mg/L Reactive Blue 221       | 620 mV, 28 mW/m <sup>2</sup>                                   | 84              |
| Molasses mixed sewage wastewater | Mixed culture  | 9978 mg/L COD                     | 762 mV, 382.5 mW/m <sup>2</sup>                                | 59              |

Figura 3.5: Resultados obtenidos con distintos sustratos. Fuente: [26].

Aunque existe una amplia variedad de sustratos (ver Figura 3.5), nos centraremos en las aguas residuales, ya que tienen una matriz de compuestos muy diversa, por lo que las concentraciones generalmente se expresan en concentración elemental total, como carbono total (i.e. CT), carbono orgánico total (i.e. TOC), demandas químicas y biológicas de oxígeno (i.e. DQO y DBO) como una medida indirecta del contenido de carbono degradable, total nitrógeno (i.e. TN), nitrógeno amoniacal total (i.e. TAN).

Algunos de los compuestos anteriores pueden afectar al funcionamiento de los BES, al inhibir el crecimiento microbiano y reducir la generación de energía o hidrógeno. Aunque una fuente de nitrógeno, generalmente amoníaco, ión amonio o ión nitrato, es esencial para el crecimiento microbiano, una alta concentración de amoníaco puede conducir a la inhibición del sustrato y reducir la producción de energía de los BES.

### 3.1.3. Electrodo

Los electrodos son los conductores eléctricos sólidos que están en contacto con el medio fluido de la celda y transportan la corriente eléctrica hacia el circuito externo. Dentro de una celda electrolítica distinguimos entre el ánodo (i.e. electrodo negativo) en el cual se produce la oxidación y el cátodo (i.e. electrodo positivo) en el cual se produce la reducción del estado de oxidación al recibir electrones.

A la hora de caracterizar el electrodo ideal, podríamos basar nuestro criterio de selección en características puramente electrolíticas tales como una alta conductividad, una transferencia de masa mejorada y una gran superficie, sin dejar de lado el un espectro de aptitudes que pasa desde la resistencia mecánica, la biocompatibilidad [22] y estabilidad química, hasta llegar a el bajo coste y la escalabilidad.

El rendimiento de los BES depende del material del electrodo y es por ello que se busca una solución que case bien con los parámetros mencionados:

- **Ánodo.** Entre todos los materiales ideales para el ánodo se incluyen el fieltro de carbono, la malla de carbono, el cepillo de fibra de grafito y la tela de carbono. En una búsqueda por reducir el costo de los electrodos se han sintetizado e investigado diferentes electrodos a base de carbono derivados de los desechos de carbono. Además, se ha producido una gran inmersión de las tecnologías de fabricación aditiva en este ámbito, lo cual abre la puerta a configuraciones más porosas y por ende, mayor superficie de contacto y transferencia electrónica [67].
- **Cátodo.** Los materiales más adecuados son el platino negro, el platino y grafito. Los electrodos recubiertos de platino se utilizan debido a su eficacia y superioridad en la generación de energía y es que, a pesar de su alto coste, es el catalizador más conocido para aquellas reacciones de reducción de oxígeno, sabiéndose que en aquellos cátodos sin platino se produce una reducción de oxígeno deficiente. Diferentes aceptores de electrones han sido probados en lugar del oxígeno con el fin de superar la deficiente tasa de reducción/oxidación (e.g. ferricianuro de potasio, permanganato, mercurio 2+, cromo hexavalente, nitrato, uranio, hipoclorito de sodio, acero inoxidable, níquel, aleaciones de níquel y carburo de tungsteno). Igualmente, existe una estrategia aún más disruptiva conocida como biocátodo, que utiliza la biopelícula aeróbica en la superficie como aceptor de electrones.

### 3.1.4. Membrana

El modelo clásico de los sistemas bioeléctricos, está basado en una configuración de dos cámaras y separadas por una membrana de intercambio iónico (e.g. Nafion), aunque también se estén empezando a utilizar las membranas iónicas líquidas [55].

Las membranas requieren el desarrollo de materiales con una serie de propiedades especiales tales como propiedades antiincrustantes, reducción de oxígeno del sustrato cruzado, rentable y alta estabilidad [67]. La nanotecnología y biónica están desarrollando materiales de membrana híbridos con propiedades favorables y bajo costo [43].

En los sistemas que hacen uso de una sola cámara, el ánodo y el cátodo pueden sumergirse en el mismo electrolito. Un ejemplo de esto es el sistema desnitrificación bioelectroquímica [42] que presenta la ventaja de una fuente ilimitada de electrones en el cátodo mientras, a la par que evita la necesidad de añadir la materia orgánica.

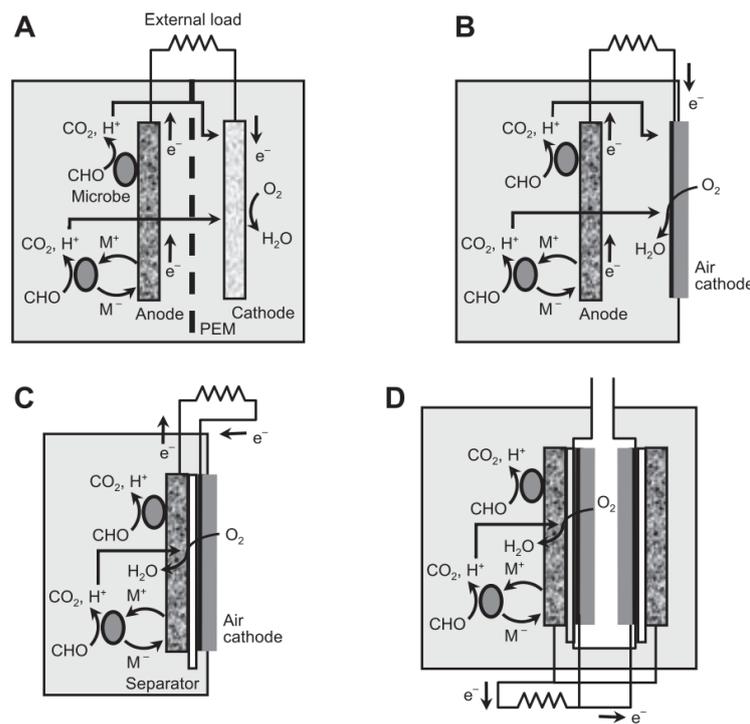


Figura 3.6: Distintas configuraciones de las MFCs. Fuente: [14].

Para culminar con los aspectos relativos a los elementos constitutivos de las MFCs, se presentan en la Figura 3.6 distintas combinaciones: MFC de doble cámara cátodo de oxígeno, uno de cámara simple y cátodo de aire, uno de cátodo de aire de cámara única con separador de conjunto de electrodos de tela y otro de electrodo cassette.

## 3.2. Limitaciones

Las aplicaciones en entornos reales enfrentan desafíos relacionados con los elementos constituyentes de la celda, que iremos desgranando a continuación, teniendo siempre en cuenta que la mayor parte de las investigaciones han sido realizadas principalmente en condiciones y escalas de laboratorio, podemos esperar que esto afecte en el rendimiento.

### Microorganismos

Hemos de entender el amplio espectro de microorganismos presentes en estas celdas, los cuales pueden hacer uso de los distintos mecanismos de transferencia de electrones, determinando cada uno de ellos de forma distinta a la eficiencia global del sistema, poseyendo cada uno de ellos una especificaciones ambientales concretas y que puede que no casen con otros microorganismos y no den pie a la formación de culturas mixtas.

Asimismo, si operamos de continuo como proponen los estudios de Sevda et al [28], a medida que el flujo de electrolitos aumente por encima del consumo del sustrato y el crecimiento de nuestro cultivo, nuestra generación de energía eléctrica se verá minada. Esto se une al delicado equilibrio termodinámico anódico que deja poca energía libre para el crecimiento bacteriano y supone una baja proliferación bacteriana, a la par que una menor generación de lodos comparada con los sistemas aerobios convencionales. En su tesis doctoral, Escapa [21] identifica los siguientes parámetros que condicionan el desarrollo y proliferación de los microorganismos:

- El **pH** y sus variaciones a nivel interno y externo habitúan a afectar la actividad bacteriana, la adaptación a condiciones ácidas o básicas y la disociación de ciertos compuestos como el amoníaco, los sulfuros y los ácidos orgánicos entre otros; observándose una degradación del sustrato mayor en condiciones neutras [16]. En los sistemas bicamerales, donde la membrana de intercambio catiónico se interpone entre la cámara anódica y catódica, se crea un gradiente de pH que puede afectar negativamente al rendimiento de nuestro cultivo celular [10].
- La **temperatura** y su efecto en el rendimiento del sistema aún no está claro, pero al estudiar la influencia en la actividad de biopelículas electroquímicamente activas, se encontró que cuando la temperatura está en el rango entre 30 y 45 °C, las corrientes catalíticas aumentan siguiendo la ley de Arrhenius [20].

- La **fuerza iónica del electrolito** es la resistencia de la solución entre electrodos y se ha identificado como un limitante del rendimiento de nuestros sistemas [13]. Al enfrentarnos a aguas residuales y sus bajas conductividades y fuerzas iónicas, la solución consiste en reducir el espaciado de los electrodos, ya que la conductividad es inversamente proporcional a la distancia entre electrodos [9].
- El **potencial aplicado** es proporcional a la producción de hidrógeno en celdas de electrosíntesis en el rango comprendido entre los 0'4 y 1'2 V, ya que a potenciales inferiores generalmente no se producen cantidades significativas de hidrógeno ni se elimina la materia orgánica (i.e. los potenciales de activación prevalecen sobre el resto de sobrepotenciales) y a potenciales superiores la transferencia electrónica se ve limitada por la actividad metabólica de los microbios electrogénicos [17].

### Sustratos

Hay una amplia variedad de sustratos (e.g. celulosa, almidón y azúcares complejos), mas al pensar en el desarrollo sostenible, nos centramos en aguas residuales urbanas, que tienen la ventaja de poseer concentraciones de cationes distintos de los protones (e.g.  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ) suele cien veces mayor que la concentración de protones, aumentando con ello la fuerza iónica mencionada en el apartado anterior y por ende el rendimiento.

La gran diversidad de poblaciones bacterianas presentes en los ánodos, las cuales pueden metabolizar un amplio rango de sustratos orgánicos (e.g. azúcares simples, lípidos, proteínas, polisacáridos, y ácidos grasos), dotan a nuestra celda microbiana de una cierta versatilidad y flexibilidad para su uso en una línea de tratamiento de aguas.

Al calcular la resistencia interna a partir del tramo lineal del barrido de frecuencias, se puede observar la proporcionalidad inversa de este parámetro frente al aumento de la carga orgánica, lo cual podría justificar en parte la tendencia en el consumo de energía. Esto supone que a cargas orgánicas medias bajas, al aplicar tensiones por encima de la tensión umbral de activación, la reacción se ve controlada por difusión [21].

## Electrodos

Partimos de que los materiales que componen los electrodos han de exhibir un alto flujo de electrones, transferencia de masa, gran área de superficie, porosidad, resistencia mecánica, escalabilidad, biocompatibilidad, estabilidad química y un coste más aysuso.

Ahora bien, el cuello de botella se da realmente en cátodos, debido principalmente a la baja cinética para la reacción de desprendimiento de hidrógeno (limita la corriente circulante y la remoción de materia orgánica en el lado anódico), la recirculación de hidrógeno (aumenta artificialmente el consumo de energía) y la proliferación de biomasa (convierte parte del hidrógeno producido en metano).

Se necesitan nuevas configuraciones de celda para disminuir el costo de capital, reducir el costo de mantenimiento y mejorar la eficiencia de nuestros sistemas BES. Usando múltiples ánodos y/o cátodos en lugar de un único electrodo de gran tamaño, el proceso de reemplazo y mantenimiento será más fácil, más simple y breve en tiempo.

## Membranas

Hay una serie de desventajas asociadas al uso de las membranas en los sistemas, como la reducción de la permeabilidad de los protones, la pérdida de sustratos y la retrodifusión de oxígeno, la bioincrustación, la resistencia interna y el gradiente de pH.

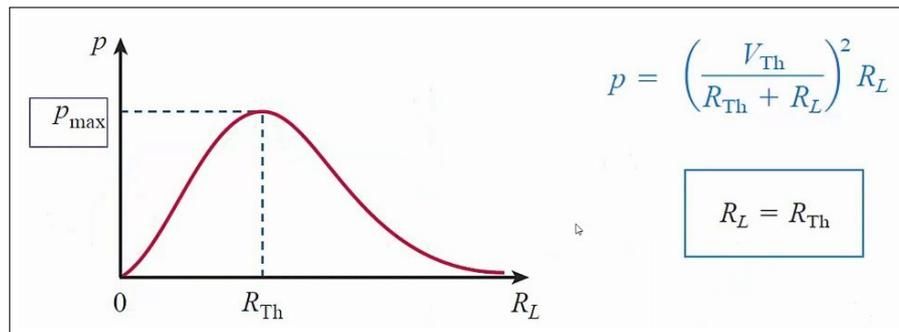
Estas carencias afectan el rendimiento de los BES basados en membranas y crean preocupaciones técnicas en términos de diseño, mantenimiento y escalado tecnológico.

Al intentar paliar estos obstáculos relacionados con la membrana (e.g. polimérica), se tiende a pensar en la utilización de sistemas sin membrana, sin tener en cuenta tanto el cruce de oxígeno del compartimento del cátodo al compartimento del ánodo, así como el cruce del sustrato en la dirección inversa, disminuye la eficiencia colúmbica, la generación de energía y la actividad de los microorganismos.

No podemos desestimar la biopelícula formada en la superficie del cátodo como otro problema que enfrenta la aplicación de MFC sin membrana, ya que disminuye la tasa de reacción de reducción de oxígeno en la superficie del cátodo. Aunque, se implementen soluciones como catalizadores antibacterianos (e.g. nanopartículas de plata) o nuevas configuraciones basadas en un ánodo doble para evitar el cruce de combustible y la formación de biopelículas en el cátodo utilizando un ánodo adicional.

### Máxima potencia obtenible y transferible

Una celda de combustible microbiana puede considerarse como un tipo de batería y puede modelarse como una fuente de energía ideal en serie con su resistencia interna, independientemente de la asociación paralelo serie que se haga en la realidad.



*Figura 3.7: Máxima potencia obtenible. Fuente: [101].*

El teorema de máxima transferencia de potencia establece que el valor de resistencia a la que se esté conectando la fuente ha de tener igual valor que la interna de la fuente.

Uno de los grandes retos a los que se enfrentan estas celdas es por tanto la medición continua de esta resistencia interna a lo largo del experimento con el fin de poder reducir las pérdidas de potencia, al igual que ocurre en tecnologías de generación fotovoltaica, a las que podemos copiar el uso del MPPT (i.e. Maximum Power Point Tracker) [19].

Actualmente, se plantea el uso de los supercondensadores y electrónica de potencia apoyada en transistores MOSFET para altas frecuencias de descarga. con el objetivo de hacer uso de nuestra celda como un condensador y cargarlo hasta un punto de interés.

$$E_C = \frac{1}{2} \cdot CV^2 \quad (3.1)$$

Gracias a la Ecuación 3.1 sabemos que la energía que puede aportar un condensador está directamente relacionada con el cuadrado de su tensión, por lo que nos gustaría trabajar con altos niveles de tensión si es posible, sabiendo que el potencial máximo alcanzable en un MFC es teóricamente del orden de 1'1 V [11] y que debido a pérdidas e irreversibilidades potenciales, este voltaje cae en funcionamiento debajo de 0'6 V.

## 4. Análisis electroquímico

Play is the highest form of research.

---

Albert Einstein

En nuestras baterías bioelectroquímicas hay una serie de parámetros de carácter externo y difíciles de controlar como son **pH, composición y temperatura** y otros controlables que son **parámetros eléctricos**, donde focalizaremos nuestra atención. Hay un amplio abanico de técnicas de análisis electroquímico provistas por las grandes casas de instrumentación [93] [97] [98] hacen uso de la estimulación eléctrica para analizar la reactividad química en la superficie de una muestra o una solución a través de un potenciostato para controlar las velocidades de reacción de oxidación y reducción:

- Técnicas pontenciostáticas. El potencial del WE es constante y la corriente se monitoriza en función del tiempo.
- Técnicas potenciodinámicas. El potencial generalmente aumenta lentamente y se mide la corriente en función del voltaje.
  - Análisis de Tafel. Se obtiene la velocidad de corrosión en equilibrio al ajustar el potencial para que la corriente sea nula (i.e. potencial de corrosión).
  - Voltamperometría cíclica (i.e. CV). Se obtiene la pasivación y ruptura de la misma a través de subidas y bajadas cíclicas del voltaje.

Hay gran variedad de técnicas potenciodinámicas más allá de las anteriores, como son la resistencia de circuito variable (i.e. VCR), la voltamperometría de barrido lineal (i.e. LSV), la interrupción de corriente (i.e. CI), la espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), la modulación de ancho de pulso (R-PWM) y el algoritmo de observación de perturbaciones (i.e. P/O); aportando cada cual distinta información. En el estudio llevado a cabo por Littfinski et al. [63], se compararon los datos obtenidos a través de estas y se encontró una gran concordancia entre las resistencias óhmicas obtenidas por la CI, la EIS y la R-PWM. Asimismo, se observó esta correspondencia en las resistencias de activación utilizando EIS y R-PWM.

Suponiendo un funcionamiento en continuo de nuestras celdas bioelectroquímicas, concebiríamos el método de análisis perfecto como aquel que permitiese ir conociendo la resistencia interna de nuestro circuito a la par que van variando las condiciones del experimento, con el fin de poder extraer la máxima potencia de nuestro circuito. Volviendo ahora al estudio comparativo anterior, se esclarece la gran relevancia del método R-PWM para la obtención de los valores de resistencia óhmica y de activación a tiempo real y la consecuente optimización simultánea de las densidades de potencia, las cuáles al ser contrastadas con los métodos de la VCR y la LSV y el algoritmo P/O, indican que se pueden alcanzar densidades de potencia teóricas de hasta el 95 % [63].

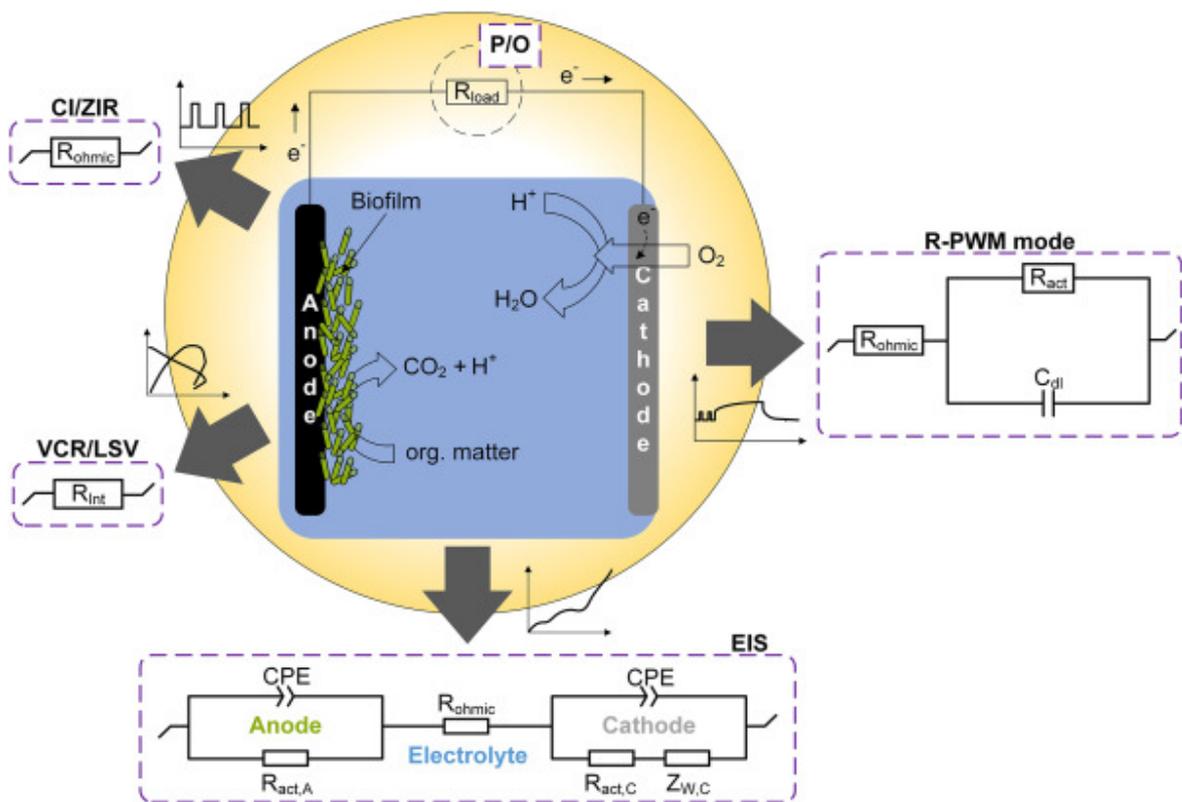


Figura 4.1: Modelización eléctrica de la celda básica y diagrama de Nyquist. Fuente: [63].

Aunque aún es pronto para entrar en la modelización de las celdas, hay que tener en cuenta que no todos los métodos de análisis nos proveen de la misma información y como muestra la Figura 4.1 el EIS es una de las técnicas más completas de análisis.

## 4.1. Espectroscopia de impedancia electroquímica

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) es también conocida como Espectroscopía dieléctrica y mide las propiedades dieléctricas de un medio en función de la frecuencia de modo que solemos representar la impedancia en estos casos a través de un diagrama de Nyquist o un diagrama de Bode, proveyendo el diagrama de Nyquist la ventaja de que una vez se determine el modelo eléctrico a estudiar podemos inferir directamente los valores de los elementos eléctricos como condensadores y resistencias, simultáneamente a las características de acumulación y pérdida de energía en el sistema.

Esta excitación multifrecuencia permite medir de varias reacciones electroquímicas que tienen lugar a diferentes velocidades y la medición de la capacitancia del electrodo. Las mediciones de impedancia electroquímica dependen en cada caso específico tanto del mecanismo bajo el punto de mira, así como de todos los parámetros extrínsecos. Sin embargo, una de las grandes complicaciones experimentales es el comportamiento no estacionario a bajas frecuencias y la necesidad de usar electrodos de referencia.

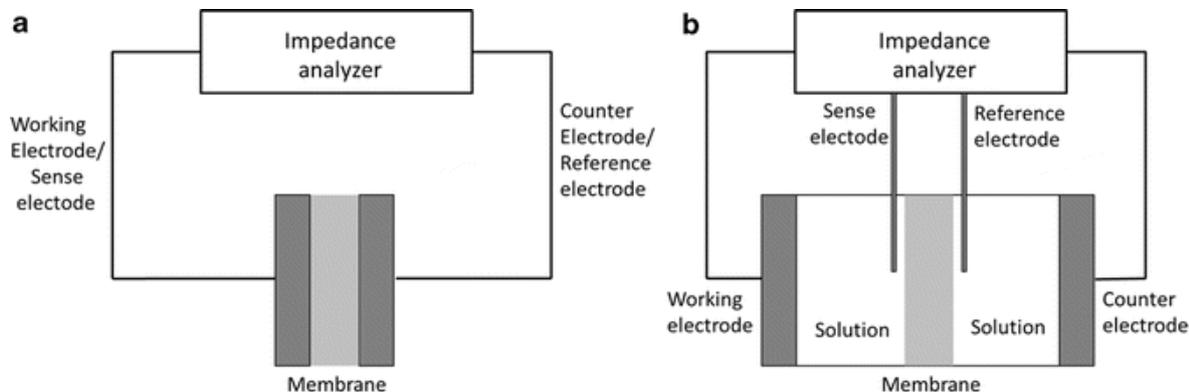
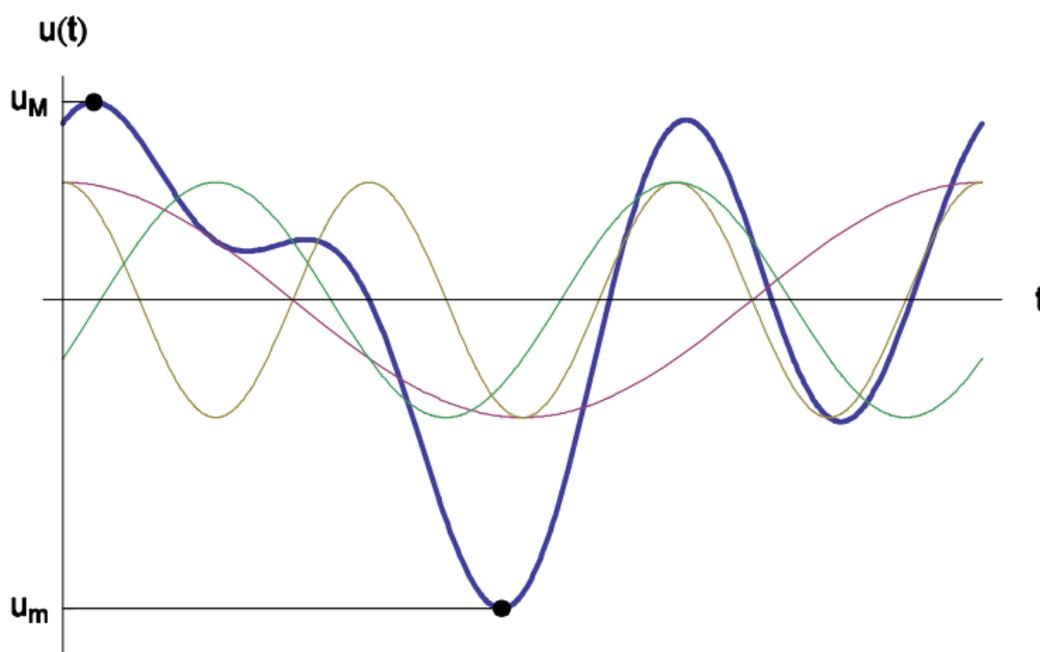


Figura 4.2: Configuración típica de los electrodos de una celda. Fuente: [32].

En los experimentos electroquímicos encontramos normalmente elementos comunes, siendo el primero un electrodo de trabajo (i.e. WE) que es el material en investigación y el cual se oxida de forma controlada. El segundo es el denominado contraelectrodo (i.e. CE) en el cual se dan las reacciones complementarias para mantener el equilibrio de carga y que suele ser un material inerte (e.g. platino). Y en última instancia el electrodo de referencia (i.e. RE) próximo a la superficie del WE para controlar el potencial.

Existe una variante del EIS conocida como excitación multiseno, la cual consiste en aplicar la suma de varias frecuencias a nuestra celda con el objetivo de reducir los tiempos de análisis en especial en el rango de las bajas frecuencias (ver Figura 4.3).



*Figura 4.3: Esquema de señal multiseno. Fuente: [15] .*

Utilizamos el conocido como multiseno de Schroeder [79], siendo definido este como la suma de unas sinusoides a diferentes frecuencias que tienen las mismas amplitudes y diferentes fases, buscando siempre minimizar el factor de cresta evitando que la respuesta del sistema pueda comenzar a ser no lineal y rehuendo que aparezca ruido.

A la hora de realizar nuestro experimento con la Dummy Cell nos basaremos en el modelo más sencillo de nuestra celda de combustible microbiano, que sólo dispone de la impedancia en forma de media circunferencia en el diagrama de Nyquist relacionada con la resistencia de transferencia iónica y la capacidad de los electrodos.

Es en este sencillo caso y de forma teórica que podríamos delimitar la impedancia compleja a través de la medida de tan sólo tres frecuencias puntuales y la utilización de una plantilla para dibujar nuestra semicircunferencia (e.g. Triangle Circumcenter [81]), partiendo de la base tener las magnitudes de la parte real e imaginaria (e.g. el AD5933 Eval Software provee de la frecuencia, impedancia, fase, real, imaginaria y magnitud).

## 4.2. Análisis bioelectroquímico

Hay ciertas condiciones que garantizan el correcto funcionamiento de este método: la **linealidad**, la **estabilidad** y la **causalidad**. La linealidad del proceso se asegura buscando el voltaje de entrada que genere menos armónicos en la señal de salida, mientras se mantiene el voltaje a circuito abierto (i.e. OCV) en el análisis.

La estabilidad supone que a frecuencias tan bajas como  $1mHz$  (i.e. ciclos de  $1000s$ ), la forma de onda permanezca estable y se garantice la validez de nuestros resultados. Estos parámetros aquí descritos permiten considerar este método como no destructivo.

Un circuito eléctrico lineal cruzado por corriente alterna puede incluir la interacción de tres elementos principales: la **resistencia**, la **capacitancia** y la **inductancia**. Variando cada uno de estos parámetros según las condiciones del experimento como: la **temperatura**, la **agitación** y la **concentración de la solución**.

A través de la resistencia modelizamos la oposición que presenta la solución entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia al movimiento de los iones. Su valor es independiente de la frecuencia y no introduce desfase alguno entre tensión y corriente.

A través de la capacitancia modelizamos la acumulación de cargas que se produce en el cátodo de trabajo. Como observamos en la Ecuación 4.1, su valor depende de la frecuencia, siendo éste mayor a menores frecuencias; e introduce un desfase de  $90^\circ$  en la corriente respecto a la tensión.

$$Z_C = \frac{-1}{j\omega C} \quad (4.1)$$

A través de la inductancia modelizamos la adsorción de cargas que se produce en el cátodo de trabajo. Como observamos en la Ecuación 4.2, su valor depende de la frecuencia, siendo éste mayor a mayores frecuencias; e introduce un desfase de  $90^\circ$  en la tensión respecto a la corriente.

$$Z_L = j\omega L \quad (4.2)$$

Sin embargo, el modelo se construye como una combinación de fenómenos a través de la asociación en serie o en paralelo de las distintas modelizaciones que se realicen.

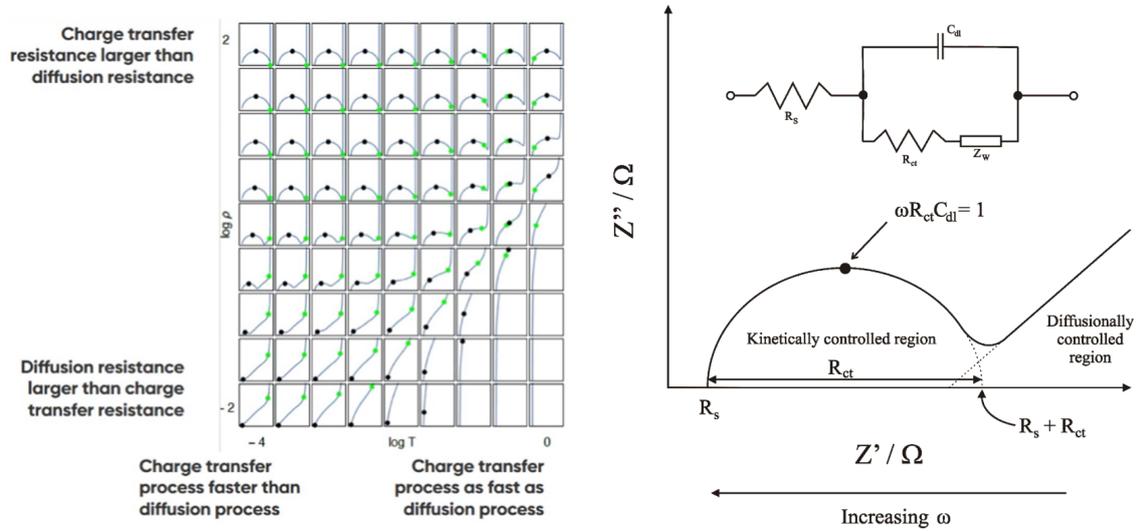


Figura 4.4: Circuito equivalente simple de Randles y variación. Fuente: [23].

La Figura 4.4 muestra cómo los procesos farádicos de los electrodos se modelizan por una resistencia de activación en paralelo a un condensador que representa un elemento de fase constante que describe el comportamiento no ideal de electrodos que tienen una estructura superficial tridimensional rugosa y porosa. Asimismo, se añade un elemento Warburg que describe los procesos de limitación de la difusión catódicos. Finalmente, la resistencia óhmica conectada en serie representa la resistencia de material y electrolito.

$$Z = \sqrt{R^2 + I^2} \tag{4.3}$$

$$\varphi = \tan^{-1}\left(\frac{I}{R}\right) \tag{4.4}$$

La impedancia total y su fase, se pueden calcular de manera sencilla gracias a las fórmulas anteriores, lo que nos dará pie a realizar su representación gráfica e intuir sus relaciones con los fenómenos propuestos con anterioridad en la Figura 4.4.

Sin embargo, distintos circuitos equivalentes pueden llevar a una misma modelización de los datos obtenidos en el diagrama de Nyquist y es por ello que el fin último de la modelización pasa por el uso de ecuaciones que modelicen unívocamente nuestro caso de estudio. A partir de la obtención de las capacitancias obtenemos las áreas efectivas de captura de electrones. Hay una serie de herramientas en internet, como cuadernos de Jupyter en Python que nos permiten realizar un análisis de los datos en caso de que no dispongamos de un programa de casa una comercial (e.g. GitHub [85]).

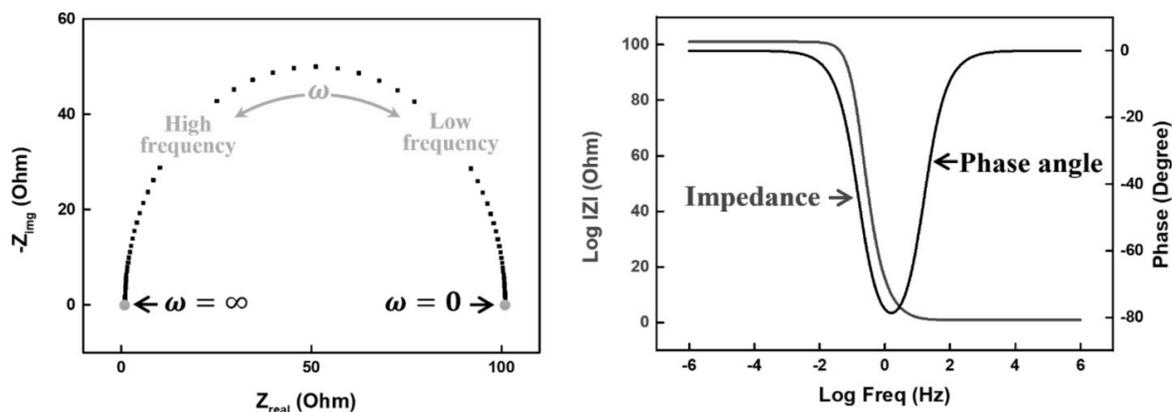


Figura 4.5: Equivalencia entre el diagrama de Nyquist y Bode. Fuente: [23].

Una vez hayamos modelizado esta celda básica podremos obtener sus valores a través de un Diagrama de Nyquist, haciendo un tratamiento correcto de nuestros datos, entendiendo una sucesión lógica de puntos una como la mostrada en la Figura 4.5. Al introducir un parámetro de agitación podríamos obtener un modelo tridimensional y estudiar con un algoritmo de búsqueda de mínimos los puntos de mayor eficiencia.

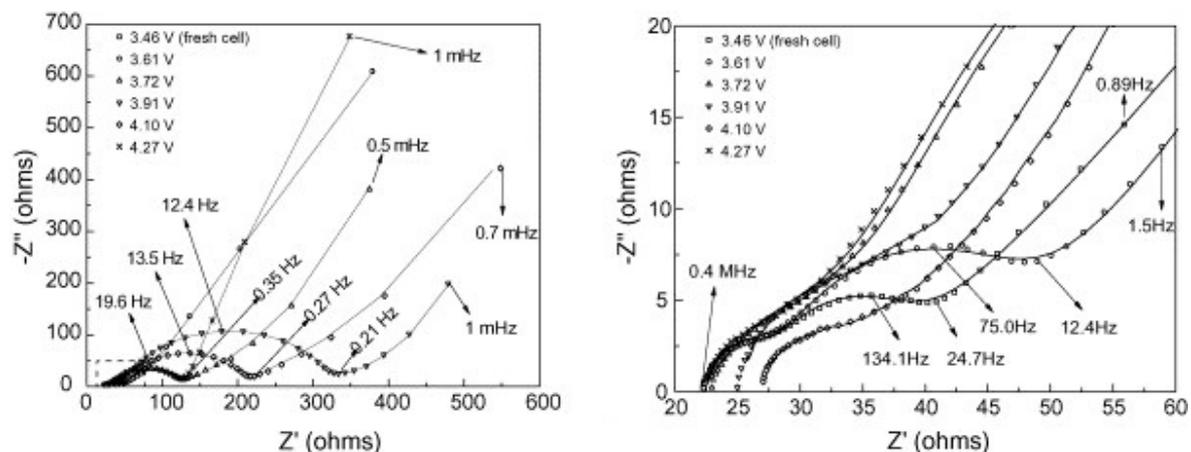


Figura 4.6: Variación del rango de frecuencias para el análisis de una batería de litio.

Fuente: [12].

La concepción principal que se planteaba este trabajo pasaba por la posibilidad de trabajar en un rango de frecuencias comprendidos entre 1 y 100kHz, lo cual tiene serias limitaciones como al observar que, los rangos de barrido de frecuencias de otros estudios como el mostrado en la Figura 4.6 pueden ser inferiores a 1Hz a la hora de hallar los puntos críticos para hallar los parámetros resistivos y capacitivos del MFC.

## 5. Instrumentación

Economy does not lie in sparing money, but in spending it wisely.

---

Thomas Huxley

En este apartado se indaga en el análisis del prototipo de bajo costo de la casa Analog Devices para la medida de la impedancia de una batería bioelectroquímica y su validación a través de una *Dummy Cell*, lo cual parte de un tortuoso sendero hacia la identificación de la opción óptima en facilidad de entendimiento, precio y desempeño.

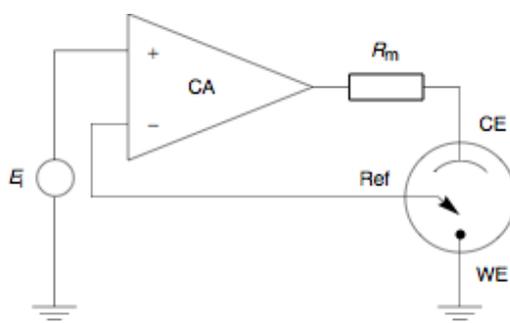
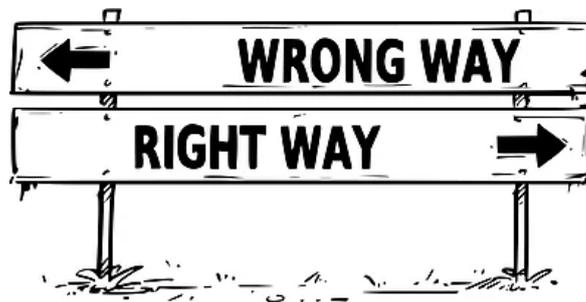


Figura 5.1: Esquema básico de un potenciostato. Fuente: [90].

Las mediciones de cualquier experimento tienen que replicarse varias veces *in situ* para conseguir resultados estadísticos válidos y relevantes, por lo que es necesario disponer de unos analizadores móviles, altamente fiables y flexibles (e.g. biocompatibles). Siendo necesario un control exacto de las condiciones experimentales con el fin de poder hacer comparaciones fidedignas, lo que supone para un ensayo que haga uso señales a pequeñas frecuencias y voltajes, dotarlo de una mayor estabilidad eléctricamente. Potenciostato, es el término que hará referencia a todo instrumento que permita monitorear los parámetros de entrada a nuestro sistema a la par que capte las respuesta, manteniendo siempre los valores de tensión estables a lo largo de nuestro experimento.

La ciencia en torno al uso de potenciostatos avanza a paso lento pero muy seguro, debiéndose esto a la compartición de información dentro de la comunidad y sobre todo, al ingente esfuerzo puesto en la experimentación. Aunque es normal que cuando uno comienza a abrirse paso en un nuevo área de investigación se encuentra abrumado y sobrecogido por la cantidad de nueva información.

Es así como la propia ignorancia y las ganas de comenzar, pueden hacer que uno dé pasos en falso y escoja un camino errado, como fue el caso de este humilde redactor, que tras haber comprendido desde un carácter global la ciencia y las técnicas que se hallaban detrás de esta gran promesa de energía renovable, se dispuso a enfocar su trabajo de fin de grado pecando de provenir de un trasfondo como ingeniero electrónico, y fue por ello que sus primeros pasos fueron encaminados por el camino del arma más plurivalente de la que se dispone en el área y que no se trata de otra que el Arduino.



*Figura 5.2: El origen. Fuente: Elaboración propia.*

Este desafío pasaba por erigir un instrumento a partir de componentes discretos, para luego más tarde crear un interfaz amigable entre el microcontrolador y el usuario. El primer paso, generar la señal sinusoidal a través de síntesis digital directa (i.e. DDS) con elementos como el AD9850 o el ICL8038 [3], ambos generadores de pulsos PWM que conjuntamente a la acción de un filtro paso bajo y una lógica de origen digital, generan sinusoides que cubren un amplio rango de frecuencias (i.e. 0.01 a 300 kHz).

Partiendo de que las señales de voltaje usadas en el EIS son de muy poca amplitud y superpuestas al voltaje a circuito abierto característico del sistema, el segundo hito consistiría en la adición de una etapa con amplificadores operacionales (i.e. OpAmps) para sumar ambas señales y reducir el tamaño de la sinusoide proveniente del DDS.

Aquí ya hubiésemos llegado a poder alimentar a nuestra celda electroquímica y quedaría ahora la etapa de captación de la señal medida a través de un amplificador de transimpedancia muy sensible debido a la baja amplitud de la señal amperimétrica. Posteriormente se requeriría un conversor analógico-digital (i.e. ADC) para suplir las deficiencias que hubiese supuesto utilizar el ADC interno de baja resolución de Arduino, ya que sí o sí los datos internamente se trabajan de forma digital.

Ahora bien, una vez alcanzado el culmen de la aparentemente sencilla circuitería, comenzarían los problemas de interpretación de los datos recibidos, recordando que, para hallar el valor de la impedancia compleja es necesario comparar simultáneamente el módulo y el desfase del voltaje cedido a la celda y del amperaje recibido de la misma, teniendo en cuenta las ganancias de las etapas que hayamos amplificado y reducido. Aunque es fácil entender la diferencia de fase a través del concepto del **zero crossing**, la lectura de datos secuencial del Arduino debido a la naturaleza multiplexada de las entradas requería de un conocimiento más profundo sobre el funcionamiento del reloj interno de los arduinos y las características asociadas a las incertidumbres del mismo, ya que al trabajar a muy altas frecuencias, es posible que el Arduino no fuese capaz de mantener el ritmo de lectura si se superaba frecuencia de la señal interna de reloj.

Si el lector ha llegado hasta aquí después de comprender el esfuerzo que supuso la exhaustiva revisión bibliográfica de una temática inédita para esta pobre alma en pena, también se percatará que aún ni siquiera nos adentramos en la concepción del interfaz y el código necesarios para hacer uso de este circuito.

El código genérico necesario para dominar nuestro proyecto se halla en GitHub [89], aunque ha de ser adaptado desde un prototipo de Raspberry Pi en lenguaje Python. Mas yo no buscaba un diseño innovador enfocado a ingenieros con conocimientos de programación, sino algo entendible y funcional para todos aquellos compañeros que proviniesen de otras ramas del conocimiento como puede ser el caso de la biología.

El interfaz se haría a través de LabVIEW, una herramienta que permite el control y adquisición a tiempo real de señales procedentes de microcontroladores (e.g. Arduino y Raspberry Pi) y que trabaja a través de diagramas de bloques en lugar de código, lo cual provee de mucha información de un sólo vistazo.

En este punto estaban atados todos los cabos teóricos del prototipo en cuestión, aunque se podía maquinar el simplificar la polivalencia del Arduino disminuyendo su tamaño y coste, migrando hacia su microprocesador aislado (i.e. AT Mega 328 P [3]) u otro microprocesador cualquiera como el STM32 [58]. Esa chispa se propagó hacia la búsqueda de nuevos circuitos integrados dedicados específicamente a el análisis EIS, momento en el que el previo ingente esfuerzo teórico se vio sumido en las sombras y una nueva luz nació iluminando con una esperanza renovada la ambición experimental, su nombre es el **AD5933**.

## 5.1. AD5933

El AD5933 es un sistema convertidor de impedancia de alta precisión que combina un generador de frecuencia integrado con un convertidor analógico a digital (i.e. ADC) de 12 bits y velocidad de muestreo de un millón de muestras por segundo (i.e. MSPS).

Su característica principal es la salida programable (i.e.  $I^2C$ ) de voltaje pico a pico realizando un barrido en frecuencia de hasta  $100kHz$ , con una resolución  $< 0.1Hz$ , abarcando su rango de medición de impedancia desde los  $1k\Omega$  hasta el límite de  $10M\Omega$ , siendo ampliable de  $100\Omega$  hasta  $1k\Omega$  con circuitos adicionales (e.g. EVAL AD5933).

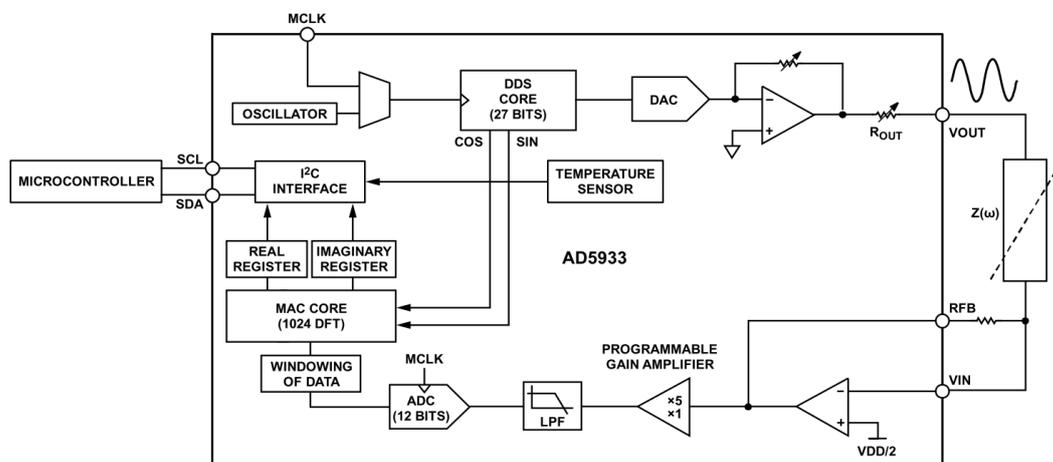


Figura 5.3: Esquema básico del AD5933. Fuente: [18].

Fijándonos en la Figura 5.3 identificamos los pines Vout y Vin entre los cuales se conecta la impedancia a evaluar en paralelo a la impedancia de referencia estimada. Mas, es necesario comprender a fondo las características de nuestro sistema electrónico para valorar si sus especificaciones se adaptan realmente a las necesidades específicas.

La medición de la impedancia con este dispositivo se puede dividir en tres etapas distintas: la etapa de transmisión, la etapa de recepción y la etapa de procesamiento:

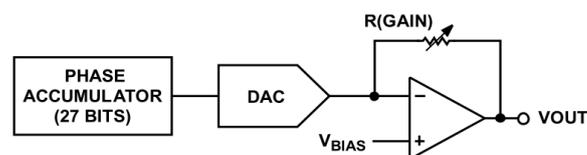


Figura 5.4: Esquema funcional de la etapa transmisora. Fuente: [18].

- **Etapa transmisora.** La etapa transmisora que (ver Figura 5.4), genera la señal a la frecuencia que se le indique [78] y le suma un valor de voltaje en continua. Entendiendo  $V_{out}$  como el voltaje sinodal generado y  $V_{in}$  como tierra virtual, siendo entre ellos donde se observarán los efectos de la impedancia compleja.
- **Etapa receptora.** Una vez que nuestra señal eléctrica ha atravesado la celda electroquímica, el chip AD5933 utiliza un amplificador de transimpedancia para convertir la corriente que fluye a través de la impedancia desconocida en una señal de voltaje, un conversor analógico digital muestreará la señal continua a lo largo de un período convirtiéndola en una serie de valores discretos en el tiempo.
- **Etapa procesadora.** Los valores de la etapa anterior serán transformados en conjunto de valores en el dominio de la frecuencia gracias a la aplicación de la Transformada Discreta de Fourier (i.e. DFT) en procesador de señal digital. Matemáticamente se intuye que el resultado no podrá transformarse inversamente para reconstruir la señal, a no ser que se de un muestreo periódico en el tiempo. Una vez calibrado el sistema, la magnitud y la fase relativa de la impedancia se puede calcular muy fácilmente en cada punto de frecuencia a lo largo del barrido. Esto se hace fuera del chip utilizando el contenido del registro real e imaginario, que se puede leer desde la interfaz serial  $I^2C$  a través de un un microcontrolador.

La impedancia de un sistema se puede medir utilizando varias técnicas, entre las que se encuentran los puentes de corriente alterna, las curvas de Lissajous, la detección sensible a la fase (i.e. PSD), los analizadores de respuesta de frecuencia (i.e. FRA) y la transformada de Laplace y nuestra preciada transformada rápida de Fourier (FFT). El gran éxito en la implementación de estas últimas transformadas en el ámbito de la computación se debe a los algoritmos de la Transformada Rápida de Fourier (FFT).

## 5.2. EVAL AD5933

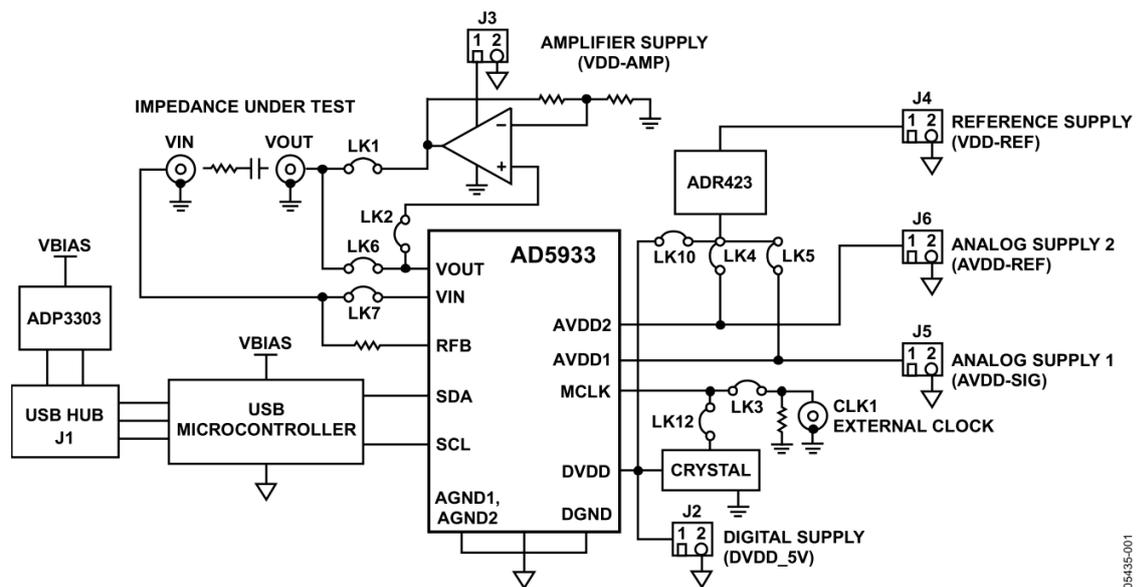


Figura 5.5: Diagrama de bloques de la EVAL AD5933. Fuente: [7].

A la hora de comprender los problemas prácticos a los que puede llevar la placa así como el entendimiento de los datos generados es de especial utilidad esta página [99].

El circuito integrado AD5933 tiene una serie de limitaciones relacionadas con su amplificador de salida de excitación, al igual que el amplificador de transimpedancia utilizado para la entrada de medición de corriente, aunque sí se pueden solventar [91].

| Range nº | DC Offset Voltage | V p-p |
|----------|-------------------|-------|
| 1        | 1'48              | 1'98  |
| 2        | 0'76              | 0'97  |
| 3        | 0'31              | 0'383 |
| 4        | 0'173             | 0'173 |

Figura 5.6: Rangos a 3'3V. Fuente: [25].

El amplificador de transimpedancia de entrada está referenciado justo a  $VDD/2$ , lo que significa que no puede usar los cuatro rangos de voltaje de salida directamente, ya que la señal de onda sinusoidal que se genera está referenciada a uno de los cuatro valores de polarización diferentes ya mostrados anteriormente en la Figura 5.6.

Tanto el amplificador de excitación como el amplificador de transimpedancia deben manejar suficiente corriente para medir el dispositivo a su impedancia mínima esperada. Si el voltaje de excitación fuese de 0'97 V<sub>pp</sub> y enfrentase un mínimo de 100 ohm, requeriría de un amplificador para alcanzar la corriente de excitación de 9'7 mA, viéndose afectada sino la precisión de lectura de la impedancia de forma adversa.

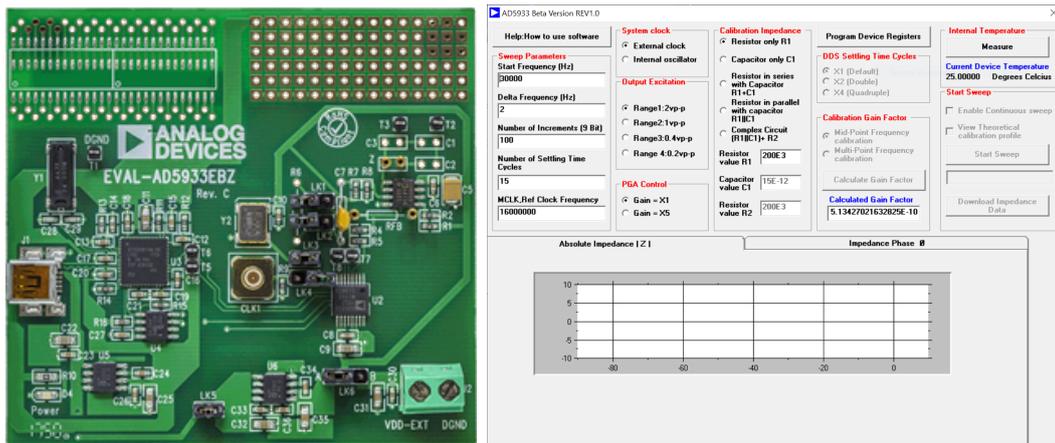


Figura 5.7: EVAL AD5933. Fuente: elaboración propia.

El EVAL AD5933 cuesta en torno a 60€ en Farnell y 50€ en Mouser Electronics. El EVAL AD5933 contiene la circuitería analógica adicional para abordar las dos limitaciones enumeradas anteriormente y su MCU Cypress Semiconductor CY7C68013, diseñado específicamente para conectar un bus USB de ordenador a un puerto I2C, ejecuta el firmware descargado en el MCU desde el ordenador a través del puerto USB.

Analog Devices proporciona un controlador de Windows para la MCU CY7C68013. También proporcionan una DLL para que se descargue el firmware en el CY7C68013 y que este pueda ser controlado a través de la aplicación escrita en Visual Basic 6.

El circuito TIA externo en el EVAL AD5933 incluye solo un rango de conversión de corriente a voltaje y esto puede ser demasiado limitante, aunque se podría quitar la resistencia de retroalimentación en la placa y agregar circuitos para ampliar los rangos.

Esta placa contiene un módulo de cristal de 16 MHz para proporcionar la señal de reloj del AD5833 y tiene puentes para permitir el uso de otra fuente de señal reloj. Teóricamente algunos componentes SMD podrían intercambiarse por otros valores.

### 5.3. Parámetros

Hay una serie de parámetros presentes en los métodos de análisis que hay que tener en mente a la hora de delimitar el alcance y limitaciones de nuestro experimento y sin los que no podemos considerar este como válido o fidedigno. En este apartado se pretende vislumbrar la senda para ser más cautos a la hora de revisar las fuentes de error de nuestra instrumentación y entender su significado e implicaciones.

#### **Especificidad o selectividad**

Se entiende como la extensión en la que un método puede utilizarse para determinar elemento particular sin interferencias de otros componentes con un comportamiento similar [5]. En nuestro caso será de vital importancia modelar correctamente todo fenómeno que se producen en la celda para poder inferir la selectividad del resultado. En la mayoría de los casos es posible encontrarnos frente a una interferencia en la determinación de nuestro elemento de interés debido a la presencia de un error sistemático bien sea constante e independiente de la concentración o proporcional a la concentración del elemento. Es por esto mismo que todo método de análisis requiere un calibrado previo.

#### **Linealidad e intervalo de trabajo de respuesta lineal**

Este parámetro representa la capacidad de nuestro método para producir señales analíticas directamente proporcionales a la concentración de analito (dentro de un intervalo dado de concentraciones) de forma que sean determinadas con exactitud y precisión. En nuestro caso, nos encontraremos con una zona lineal muy restringida en la que se han de cumplir las condiciones de Kramers-Kronig [100].

Esta linealidad puede requerir de una serie de transformaciones matemáticas y hace uso de la estadística y los métodos de regresión para avalar la validez de la misma. Normalmente se considera necesario el ensayo de siete puntos, con tres réplicas de cada uno, así como la determinación de cada réplica. Entre los métodos más comunes para evaluar la linealidad encontramos el análisis de los residuos, el coeficiente de correlación lineal, el coeficiente de determinación, el análisis de la varianza de la regresión y la detección de datos anómalos en el calibrado.

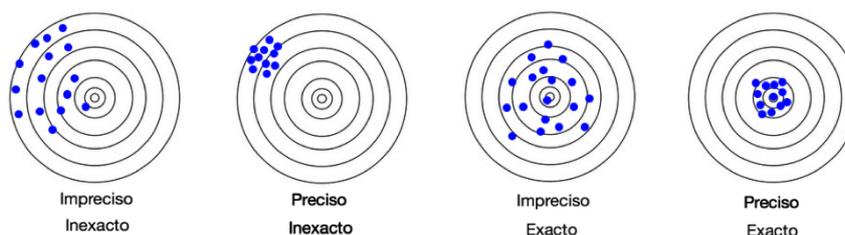
## Exactitud

Representa la proximidad entre el resultado obtenido y el valor verdadero a través de la interpretación de los errores sistemáticos o la tendencia del método analítico.

## Precisión

Representa el grado de concordancia entre un ensayo individual y el método recursivo de ensayo, siendo interpretada a través de la dispersión y su coeficiente de desviación estándar de las medidas alrededor a su valor medio. Es un parámetro complejo que debe considerar tres niveles distintos:

- La **repetibilidad** o precisión en un mismo ensayo, la cual expresa la precisión bajo las mismas condiciones operativas en un intervalo de tiempo corto (e.g. un mismo analista haciendo uso de un mismo equipo un día concreto).
- La **precisión intermedia** o precisión entre días, la cual expresa las posibles variaciones dentro de un laboratorio (e.g. el uso de distintos equipos por manos de diferentes analistas en días distintos).
- La **reproducibilidad** o fortaleza, la cual expresa la precisión entre laboratorios en el caso de tratarse de un ensayo o estudio colaborativo.



*Figura 5.8: Exactitud y precisión. Fuente [87] .*

En la Figura 5.8 podemos observar la diferencia de concepto entre la exactitud y la precisión, la cual es normalmente pasada por alto por el común de los mortales, pero es clave al determinar la validez del análisis que estemos llevando a cabo. El valor del cociente entre la precisión y la exactitud que puede degradar a nuestro experimento de cuantitativo a cualitativo, si supera un valor marcado del 35 %.

## Sensibilidad

Entendemos la sensibilidad de un método analítico como la mínima cantidad de analito que puede producir un resultado significativo, es decir, una variación significativa de la señal entregada por nuestro sensor.

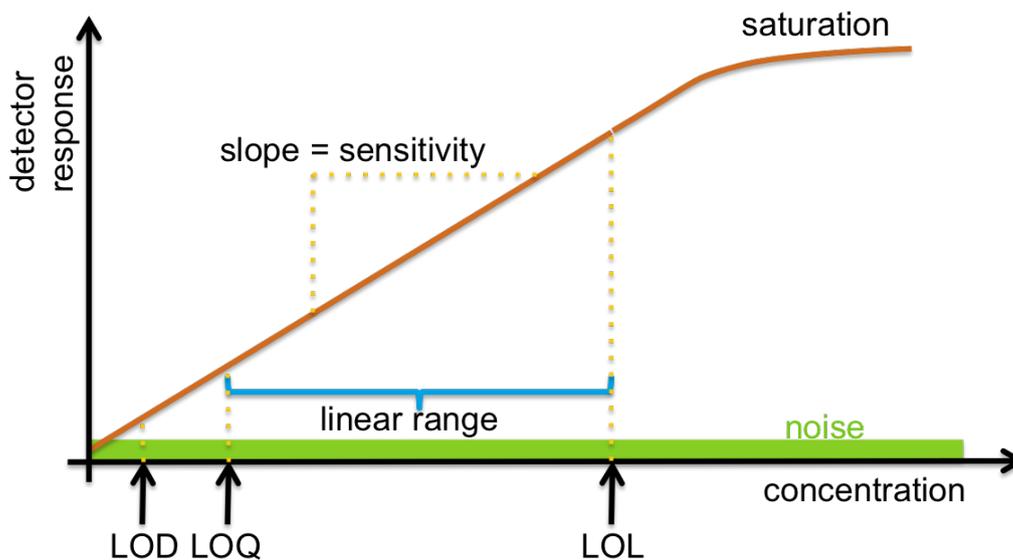


Figura 5.9: Curva de límites de sensibilidad. Fuente: [94].

La Figura 5.9 muestra los parámetros más importantes relacionados con la sensibilidad de un instrumento y se clarifica la relación entre una mayor pendiente y una mayor sensibilidad o respuesta por parte del instrumento. Por lo pronto, podemos identificar que hay una zona lineal y útil de medición delimitada por el LOD o **límite de detección inferior** (i.e. menor señal de analito detectable y diferenciable del ruido de fondo) y el LOL **límite de detección superior** a partir del cual se produce la saturación de nuestro sensor y por ende dejamos de encontrarnos en la región lineal. Cabe mencionar en última instancia el LOQ o límite de cuantificación con el que podemos estar completamente seguros de que nuestra medida no se verá afectada por el ruido.

## Robustez

La robustez es el último parámetro y se entiende como la **no** influencia de las variables operativas y del entorno sobre los resultados del ensayo, es decir, frente a condiciones tales como cambios de equipo, personal, etc.

## 6. Experimentación

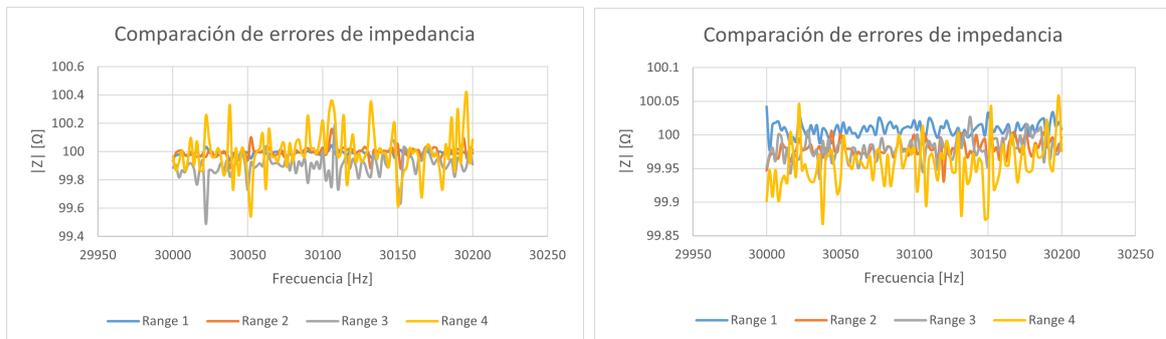
Errar es de humanos, perdonar es divino, rectificar es de sabios.

---

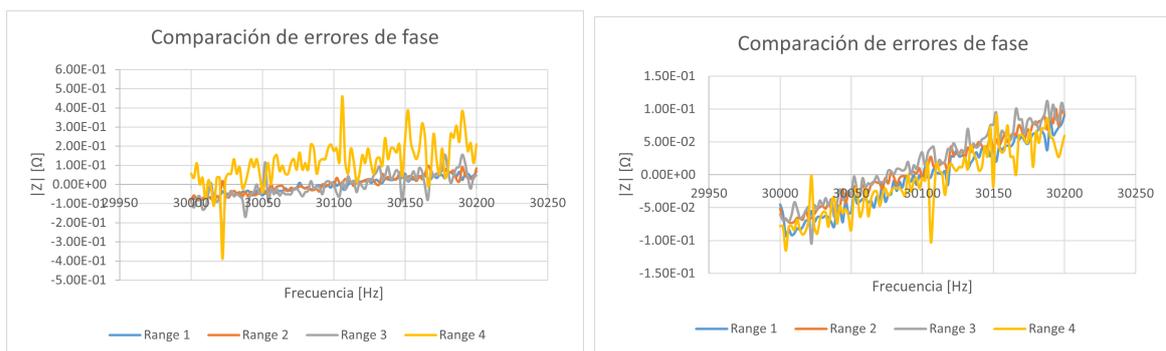
Alexander Pope

### 6.1. Error de calibración

Nuestro primer experimento consiste en observar el error cometido al hacer un barrido a través de los cuatro rangos de medida posibles en la resistencia mínima medible con precisión según las especificaciones de nuestro instrumento (i.e. 100 ohm).

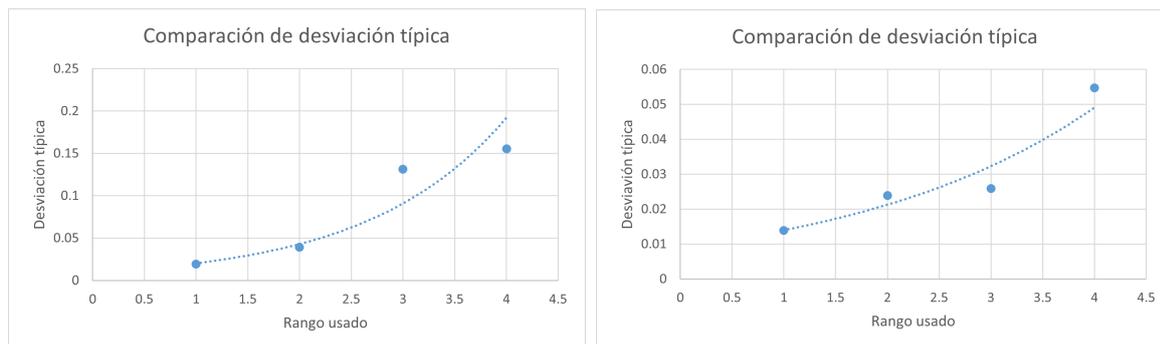


*Figura 6.1: Comparativa de errores de impedancia en  $x1$  y  $x5$ .*



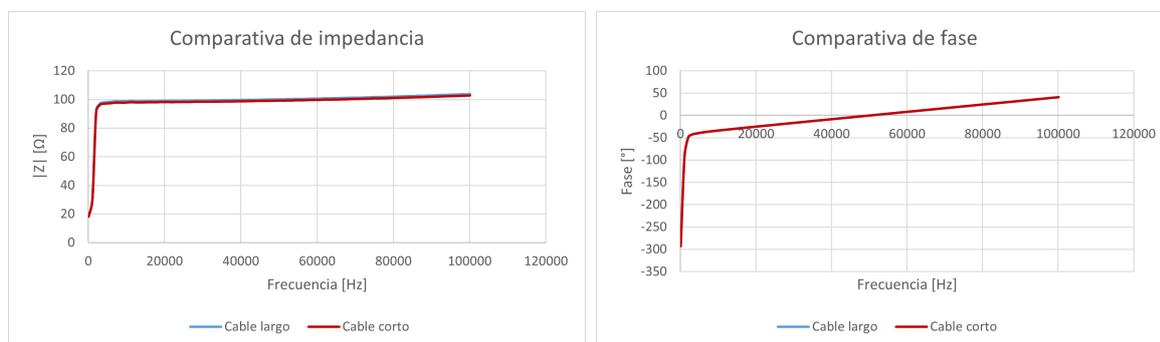
*Figura 6.2: Comparativa de errores de fase en  $x1$  y  $x5$ .*

Ahora bien, es cierto que a medida que reducimos la amplitud del voltaje de pico a pico aumentamos el error y con ello las desviaciones típicas de los resultados obtenidos, siendo este es el precio a pagar por mantenernos en la zona lineal, según lo estudiado. Es intuitivo pensar que a menores intensidades mayor será la distorsión que obtengamos.



*Figura 6.3: Comparativa de desviación típica en  $x_1$  y  $x_5$ .*

Siguiendo con esta línea de comprobación de errores y pensando en la calibración, cabía preguntarse el posible efecto inductivo que podría añadirse al usar cables largos. Aunque parezca un esfuerzo hecho en vano ya que en ambos casos se superponen, era necesario cerciorarse de este problema que se puede llegar a dar en los ensayos. Concretamente, hemos seleccionado un cable de 1 m, ya que este prototipo es portátil.

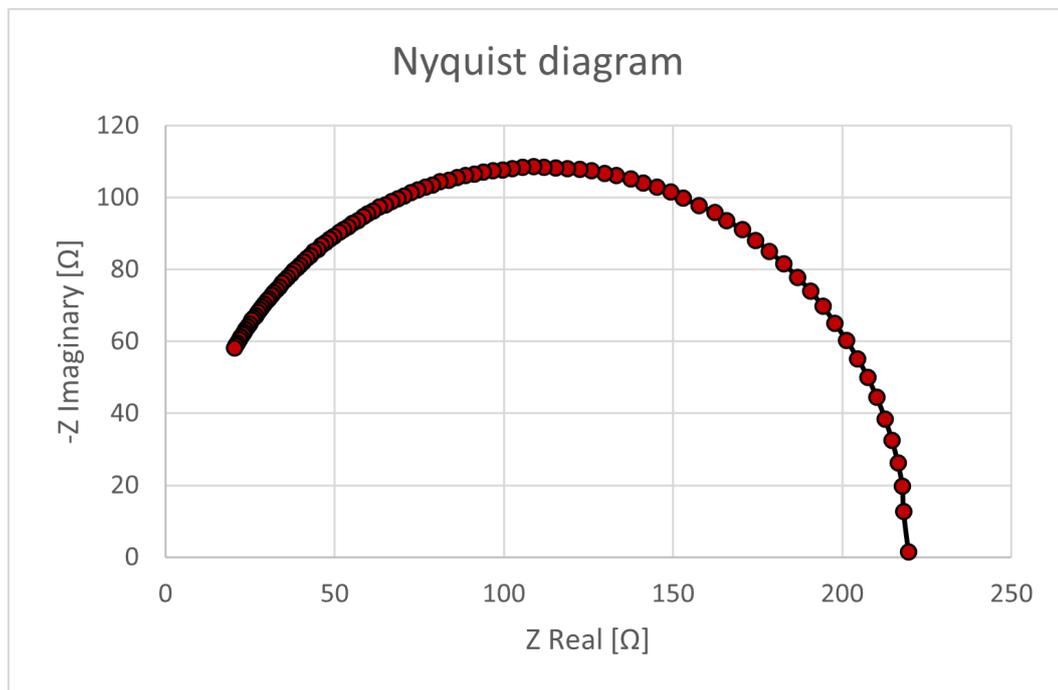


*Figura 6.4: Comparativa del uso de cables cortos y largos.*

Ahora cabe preguntarse, qué hubiese pasado si se hubiese dado este efecto inductivo. La respuesta es sencilla y sirve como introducción al método de análisis de datos que se sigue en la experimentación y es tan simple como eliminar el error de calibración de la medida experimental que recibamos, consiguiendo desligar así, el error instrumental.

En el rango de frecuencias que utilizado de aquí en adelante (i.e. 100 Hz a 100 kHz), se produce una transición en la fase a lo largo del experimento que habrá que suprimir y es por ello que este humilde estudiante creó un vídeo en YouTube con el objetivo de facilitar la comprensión de los cálculos realizados en Excel para lo obtención de los diagramas presentes a partir de ahora y poder transmitir de forma sencilla su uso.

## 6.2. Ensayo inicial

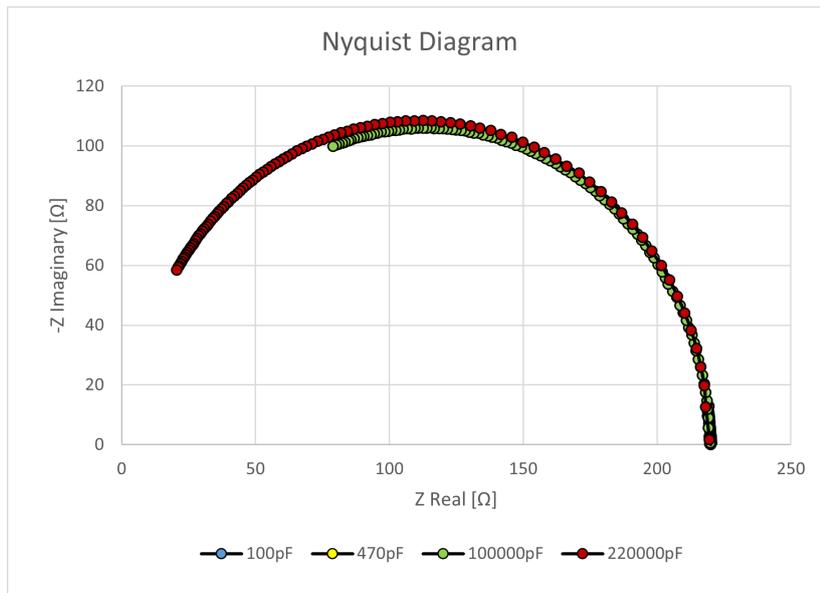


*Figura 6.5: Diagrama de Nyquist experimento I.*

Ahora se muestran los resultados mostrados en el vídeo de **YouTube** [86] en el que se realizó el experimento con una resistencia de calibración de 220 ohm y una impedancia de medición compuesta del paralelo entre una resistencia de 220 ohm y un condensador de 220000 pF, haciendo un barrido que parte de los 100Hz haciendo 100 saltos de 1000 Hz, usando el rango 4 y una ganancia quíntupla en la transimpedancia. Comprobamos que, una de las limitaciones de nuestro prototipo es el límite de frecuencia de 100 kHz, reflejado como el punto que se encuentra más cercano al origen.

Al actuar sobre el error de calibración que se produce al actuar sobre un rango tan amplio de frecuencias, comprobamos que los resultados obtenidos no se desvían de los que cabe esperar ni de los obtenidos por otros investigadores como Wang et. al [69]. Desarrollar esta eliminación del error a través de Excel parece lógico tras ver el vídeo, pero el llegar a dicha conclusión fue una tarea que consumió mucho tiempo y paciencia.

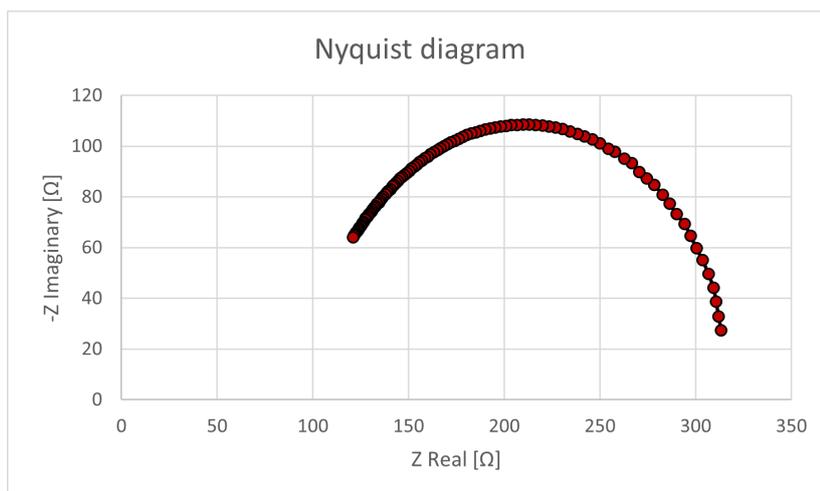
En el segundo experimento de diagramas de Nyquist se comprueba el efecto de ir incrementando el valor de este condensador (i.e. 100pF, 470pF, 10000pF, 22000pF) colocado en paralelo a la resistencia de 220 ohm, manteniendo el resto de los parámetros.



*Figura 6.6: Diagrama de Nyquist experimento II.*

Observamos pues en la Figura 6.6 como los valores de capacidades pequeños no alcanzan a dibujar la semicircunferencia, pero cómo a medida que estos aumentan podemos apreciar con nitidez la forma de la semicircunferencia y leer bien los valores.

El siguiente experimento va un paso más allá y busca incluir la resistencia óhmica en serie a nuestro conjunto paralelo, la aproximación más fidedigna sin incluir un Warburg.



*Figura 6.7: Diagrama de Nyquist experimento III.*

Observamos que excluyendo los valores a muy bajas frecuencias del experimento, se vislumbra que hemos incluido una resistencia en serie de un valor de 100 ohms.

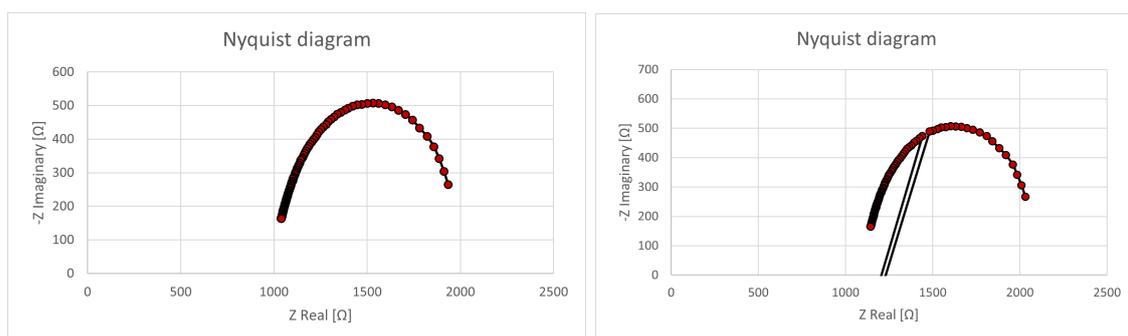
### 6.3. Ensayo avanzado

En este apartado final de la experimentación se ha buscado aproximarse lo máximo posible a las condiciones de las celdas bioelectroquímicas a través de ciertos circuitos equivalentes provistos por la casa comercial utilizada por este grupo de investigación, además de otros circuitos relacionados con estudios teóricos y con su aplicabilidad real.



*Figura 6.8: Montajes experimentales sobre dummy cell y circuito complejo.*

En todos los casos que siguen, calibraremos nuestra EVAL AD5933 con 1200 ohm y seguiremos las pautas definidas previamente, trabajando en el rango alto de frecuencias. Primero obtendremos los diagramas de Nyquist de una dummy cell sencilla de BioLogic y luego nos adentraremos en el circuito más complejo que refleja la realidad del biofilm.



*Figura 6.9: Resultados obtenidos sobre la dummy cell.*

En el primer caso de la dummy cell de BioLogic se aprecia con facilidad la lectura de los valores de impedancia resistiva y capacitiva. Sin embargo, al conectar el cable negro al pin azul superior derecho para incrementar la resistencia en serie en 100 ohms aparece un efecto inductivo durante una de las frecuencias, sin aparente explicación.

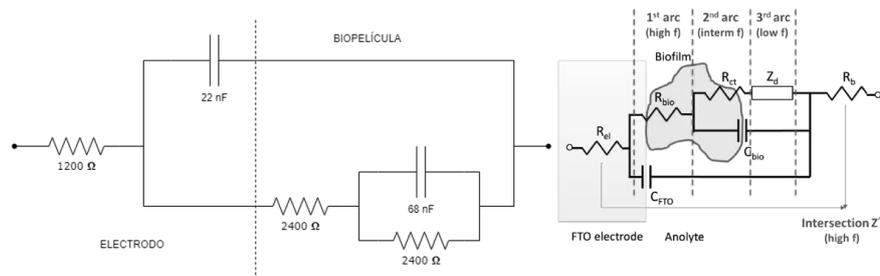


Figura 6.10: Esquema equivalente del circuito complejo y teoría asociada. Fuente: [39].

La teoría propuesta por el tutor de este trabajo sugiere la formación de un doble lóbulo al hacer uso del circuito complejo mostrado en la Figura 6.8 y la Figura 6.10.

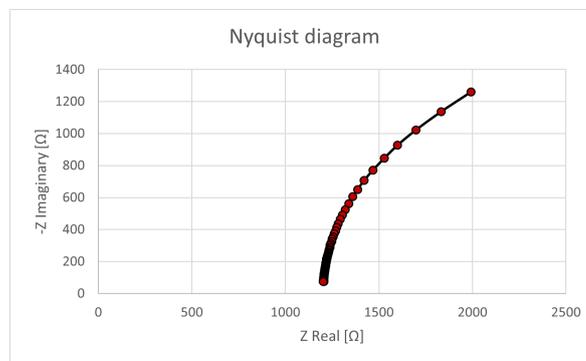


Figura 6.11: Esquema equivalente del circuito compuesto y teoría asociada.

Sin embargo como se muestra en la figura teórica, así como en la Figura 6.11, la limitación en altas frecuencias de nuestro instrumentos impide la visualización total.

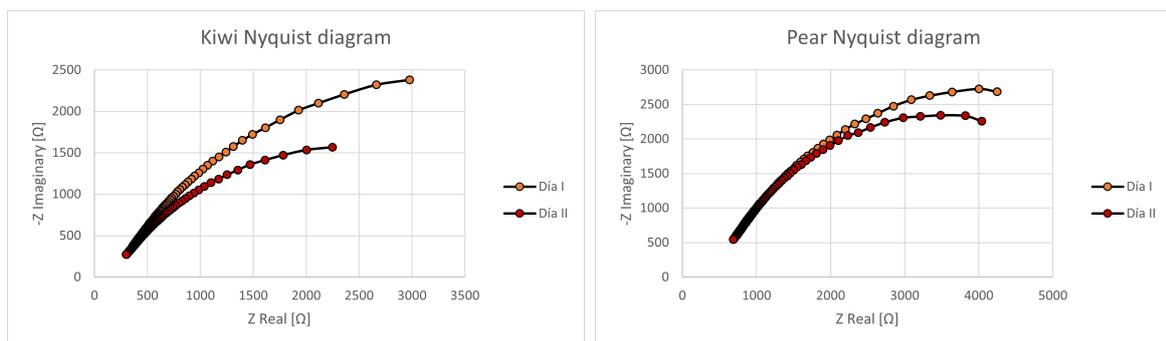


Figura 6.12: Resultados obtenidos sobre la fruta de temporalada.

Por último y como muestra de la interdisciplinaridad de esta técnica de análisis, mostramos el avance de la impedancia compleja de dos piezas de fruta (i.e. kiwi y pera) en un periodo de maduración de tres días, infiriendo una caída de la resistencia.

## 7. Conclusiones

Useful endings must be inconclusive.

---

Samuel R. Delany

La idea principal en torno a la que se ha desarrollado este trabajo es buscar nuevos instrumentos de medida para la caracterización de los sistemas bioelectroquímicos, llegándose en última instancia a las siguientes conclusiones:

- Se ha hecho una exhaustiva bibliográfica de los sistemas bioelectroquímicos, buscando argumentar su cabida dentro de los objetivos de desarrollo sostenible.
- Se ha conseguido validar la placa EVAL AD5933 en circuitos de simulación MFCs, haciendo uso de un rango de frecuencias comprendido entre los 100 y los 100kHz.
- Se ha comprendido y desarrollado el análisis en Excel de los datos obtenidos, realizando un videotutorial para que nuevos alumnos puedan entender el proceso.

Y con todo ello se ha cumplido el objetivo principal de hacer posible el uso de este instrumento móvil y de bajo coste en procesos de laboratorio y escalado de las MFCs.

### 7.1. Futuras líneas de trabajo

Fruto de la realización de este trabajo, queda patente el amplio campo de desarrollo de nuevas tecnologías e ideas que pueden ser desarrollada por tantos otros alumnos y no solo aquellos provenientes del ámbito ingenieril:

- Conseguir un modelo del diagrama de Nyquist de la impedancia electroquímica, haciendo uso de solo tres frecuencia aleatoriamente seleccionadas.
- Hacer uso de esta placa de evaluación para caracterizar y modelizar baterías, pudiendo así caracterizar su desgaste a lo largo de su vida útil.
- Estudio de la interrelación de los parámetros biológicos presentes en la celda al hacer uso de distintas colonias de bacterias electrógenas.
- Caracterización de ánodos porosos basados en carbono, diseñados y elaborados a través de técnicas de fabricación aditiva.

## Referencias

- [1] Hui Ling Chen y col. «The plastic waste problem in Malaysia: management, recycling and disposal of local and global plastic waste». En: *SN Applied Sciences* 3 (123). DOI: 10.1007/s42452-021-04234-y. URL: <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04234-y>.
- [2] «Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds». En: *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* 84.571 (sep. de 1911), págs. 260-276. DOI: 10.1098/RSPB.1911.0073. URL: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspb.1911.0073>.
- [3] «Precision Waveform Generator/Voltage Controlled Oscillator». En: (1998).
- [4] Byung Hong Kim y col. «Electrochemical activity of an Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors». En: *Biotechnology Techniques* 13.7 (1999), págs. 475-478.
- [5] Y Gohshi, H Müller y ; E A G Zagatto. «INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY ANALYTICAL CHEMISTRY DIVISION COMMISSION ON GENERAL ASPECTS OF ANALYTICAL CHEMISTRY\* SELECTIVITY IN ANALYTICAL CHEMISTRY (IUPAC Recommendations 2001)». En: *Pure Appl. Chem* 73.8 (2001), págs. 1998-1999.
- [6] Korneel Rabaey y col. «A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency». En: *Biotechnology letters* 25.18 (2003), págs. 1531-1535.
- [7] Analog Devices. «MSPS 12-Bit Impedance Converter, Network Analyzer». En: (2005), págs. 1-31. URL: [www.analog.com](http://www.analog.com).
- [8] Gemma Reguera y col. «Extracellular electron transfer via microbial nanowires». En: *Nature* 435.7045 (2005), págs. 1098-1101.
- [9] MM Ghangrekar y VB Shinde. «Performance of membrane-less microbial fuel cell treating wastewater and effect of electrode distance and area on electricity production». En: *Bioresource Technology* 98.15 (2007), págs. 2879-2885.

- [10] René A Rozendal y col. «Performance of single chamber biocatalyzed electrolysis with different types of ion exchange membranes». En: *Water research* 41.9 (2007), págs. 1984-1994.
- [11] René Alexander Rozendal. *Hydrogen production through biocatalyzed electrolysis*. 2007.
- [12] Su-Qin Liu y col. «Kinetic study on  $\text{Li}_2.8(\text{V}_{0.9}\text{Ge}_{0.1})_2(\text{PO}_4)_3$  by EIS measurement». En: *Journal of Alloys and Compounds* 450.1 (2008), págs. 499-504. ISSN: 0925-8388. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2006.11.131>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838806019645>.
- [13] Bruce E Logan. *Microbial fuel cells*. John Wiley & Sons, 2008.
- [14] Kazuya Watanabe. «Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy». En: *Journal of Bioscience and Bioengineering* 106.6 (2008), págs. 528-536. ISSN: 13891723. DOI: 10.1263/jbb.106.528. URL: <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.106.528>.
- [15] Bio-Logic. «EC-Lab Software: Techniques and Applications». En: August (2009), págs. 1-175.
- [16] S Veer Raghavulu y col. «Effect of anodic pH microenvironment on microbial fuel cell (MFC) performance in concurrence with aerated and ferricyanide catholytes». En: *Electrochemistry Communications* 11.2 (2009), págs. 371-375.
- [17] B Tartakovsky y col. «High rate membrane-less microbial electrolysis cell for continuous hydrogen production». En: *International Journal of Hydrogen Energy* 34.2 (2009), págs. 672-677.
- [18] Analog Devices. «1 MSPS, 12 Bit Impedance Converter Network Analyzer, Datasheet AD5933». En: *Datasheet* (2010), pág. 40. URL: <http://www.analog.com/en/rfif-components/direct-digital-synthesis-dds/ad5933/products/product.html>.
- [19] L Woodward y col. «Comparison of real-time methods for maximizing power output in microbial fuel cells». En: *AIChE Journal* 56.10 (2010), págs. 2742-2750.

- [20] Benyi Xiao, Fang Yang y Junxin Liu. «Enhancing simultaneous electricity production and reduction of sewage sludge in two-chamber MFC by aerobic sludge digestion and sludge pretreatments». En: *Journal of hazardous materials* 189.1-2 (2011), págs. 444-449.
- [21] Adrian Escapa. «Biocatalyzed electrolysis for wastewater treatment and hydrogen production». En: (2012). URL: [http://buleria.unileon.es/xmlui/bitstream/handle/10612/2889/tesis\\_a9981d.PDF?sequence=1](http://buleria.unileon.es/xmlui/bitstream/handle/10612/2889/tesis_a9981d.PDF?sequence=1).
- [22] Nikhil S. Malvankar y Derek R. Lovley. «Microbial Nanowires: A New Paradigm for Biological Electron Transfer and Bioelectronics». En: *ChemSusChem* 5.6 (2012), págs. 1039-1046. DOI: <https://doi.org/10.1002/cssc.201100733>. eprint: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cssc.201100733>. URL: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cssc.201100733>.
- [23] Edward P Randviir y Craig E Banks. *Electrochemical Impedance Spectroscopy - an overview*. Vol. 5. 0. 2013, págs. 1098-1115. ISBN: 1612471196. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/electrochemical-impedance-spectroscopy>.
- [24] Pravin Shrestha y col. «Transcriptomic and Genetic Analysis of Direct Interspecies Electron Transfer». En: *Applied and Environmental Microbiology* (feb. de 2013). DOI: 10.1128/AEM.03837-12.
- [25] Miguel Usach. «AN-1252: How to Configure the AD5933/AD5934». En: *Analog Devices* (2013), pág. 12. URL: <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/application-notes/AN-1252.pdf>.
- [26] Minghua Zhou y col. «Microbial fuel cells and microbial electrolysis cells for the production of bioelectricity and biomaterials». En: *Environmental Technology (United Kingdom)* 34.13-14 (2013), págs. 1915-1928. ISSN: 1479487X. DOI: 10.1080/09593330.2013.813951.
- [27] Liviu Breniuc, Valeriu David y Cristian Gyozo Haba. «Wearable impedance analyzer based on AD5933». En: *EPE 2014 - Proceedings of the 2014 Inter-*

- national Conference and Exposition on Electrical and Power Engineering Epe* (2014), págs. 585-590. DOI: 10.1109/ICEPE.2014.6969977.
- [28] Surajbhan Sevda y col. «Shift to Continuous Operation of an Air-Cathode Microbial Fuel Cell Long-Running in Fed-Batch Mode Boosts Power Generation». En: *International Journal of Green Energy* 13 (mayo de 2014), págs. 71-79. DOI: 10.1080/15435075.2014.909363.
- [29] Purva Bhatnagar. *A microcontroller-based Electrochemical Impedance Spectroscopy Platform for Health Monitoring Devices*. Inf. téc. 2015.
- [30] Nicolas Chabert, Oulfat Amin Ali y Wafa Achouak. «All ecosystems potentially host electrogenic bacteria». En: *Bioelectrochemistry* 106 (2015), págs. 88-96. ISSN: 1878562X. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2015.07.004. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelechem.2015.07.004>.
- [31] Y. V. Nancharaiah, S. Venkata Mohan y P. N.L. Lens. «Metals removal and recovery in bioelectrochemical systems: A review». En: *Bioresource Technology* 195 (2015), págs. 102-114. ISSN: 09608524. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.06.058. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.058>.
- [32] Enrica Fontananova. «Impedance Spectroscopy, Membrane Characterization by». En: *Encyclopedia of Membranes*. Ed. por Enrico Drioli y Lidietta Giorno. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016, págs. 1025-1027. ISBN: 978-3-662-44324-8. DOI: 10.1007/978-3-662-44324-8\_863. URL: [https://doi.org/10.1007/978-3-662-44324-8\\_863](https://doi.org/10.1007/978-3-662-44324-8_863).
- [33] Mohd Akmal Mhd Yusoff. «Development of an AD5933-based Impedance Meter Prototype for Impedimetric Sensor Applications». En: *Procedia Chemistry* 20 (2016). 11th Asian Conference on Chemical Sensors, págs. 56-59. ISSN: 1876-6196. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.07.009>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876619616300171>.
- [34] Thomas Dobbelaere, Philippe M. Vereecken y Christophe Detavernier. «A USB-controlled potentiostat/galvanostat for thin-film battery characterization». En: *HardwareX* 2 (2017), págs. 34-49. ISSN: 24680672. DOI: 10.1016/j.ohx.2017.

- 08.001. arXiv: 1701.07650. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2017.08.001>.
- [35] Christoph Slouka y col. «Low-frequency electrochemical impedance spectroscopy as a monitoring tool for yeast growth in industrial brewing processes». En: *Chemosensors* 5.3 (2017). ISSN: 22279040. DOI: 10.3390/chemosensors5030024.
- [36] Bin Bian y col. «3D printed porous carbon anode for enhanced power generation in microbial fuel cell». En: *Nano Energy* 44 (2018), págs. 174-180. ISSN: 2211-2855. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2017.11.070>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211285517307644>.
- [37] Ariel L Furst y Matthew B Francis. «Impedance-based detection of bacteria». En: *Chemical reviews* 119.1 (2018), págs. 700-726.
- [38] S. Grassini y col. «A simple Arduino-based EIS system for in situ corrosion monitoring of metallic works of art». En: *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation* 114 (ene. de 2018), págs. 508-514. ISSN: 02632241. DOI: 10.1016/j.measurement.2016.07.014. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.measurement.2016.07.014>.
- [39] Annemiek Heijne y col. «Quantification of bio-anode capacitance in bioelectrochemical systems using Electrochemical Impedance Spectroscopy». En: *Journal of Power Sources* 400 (ago. de 2018), págs. 533-538. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2018.08.003.
- [40] Ronald Huarachi-Olivera y col. «Bioelectrogenesis with microbial fuel cells (MFCs) using the microalga *Chlorella vulgaris* and bacterial communities». En: *Electronic Journal of Biotechnology* 31.November (2018), págs. 34-43. ISSN: 07173458. DOI: 10.1016/j.ejbt.2017.10.013. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.10.013>.
- [41] Yuguang C. Li y col. «An Easily Fabricated Low-Cost Potentiostat Coupled with User-Friendly Software for Introducing Students to Electrochemical Reactions and Electroanalytical Techniques». En: *Journal of Chemical Education* 95.9 (2018), págs. 1658-1661. ISSN: 19381328. DOI: 10.1021/acs.jchemed.8b00340.

- [42] Elisa Marx Sander, Bernardino Virdis y Stefano Freguia. «Bioelectrochemical denitrification for the treatment of saltwater recirculating aquaculture streams». En: *ACS Omega* 3.4 (2018), págs. 4252-4261. ISSN: 24701343. DOI: 10.1021/acsomega.8b00287.
- [43] Sasan Nasirahmadi y Behrouz Akbari-adergani. «Microbial fuel cell with a nano-membrane and two expired medicinal drug-feeding cathode: a novel strategy». En: *International Journal of Energy and Environmental Engineering* 9.3 (2018), págs. 249-256.
- [44] Carlos A. Ramírez-Vargas y col. «Microbial electrochemical technologies for wastewater treatment: Principles and evolution from microbial fuel cells to bioelectrochemical-based constructed wetlands». En: *Water (Switzerland)* 10.9 (2018), págs. 1-29. ISSN: 20734441. DOI: 10.3390/w10091128.
- [45] Michael Siegert. «A Scalable Multi-Channel Software Potentiostat». En: *Frontiers in Energy Research* 6.November (2018), págs. 1-4. ISSN: 2296-598X. DOI: 10.3389/fenrg.2018.00131.
- [46] Zeineb Ben Abdallah y col. «Development of an ultrasensitive label-free immunosensor for fungal aflatoxin B1 detection». En: *Biochemical Engineering Journal* 150 (2019). ISSN: 1873295X. DOI: 10.1016/J.BEJ.2019.107262.
- [47] Todd J. Freeborn y Bo Fu. «Time-course bicep tissue bio-impedance changes throughout a fatiguing exercise protocol». En: *Medical Engineering and Physics* 69 (2019), págs. 109-115. ISSN: 1350-4533. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2019.04.006>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350453319300712>.
- [48] Allison Garcia y Ahmet C. Sabuncu. «Electrical System for Bioelectric Impedance using AD5933 Impedance Converter». En: *SMU Journal of Undergraduate Research* 4.Spring 2019 (2019), págs. 2-8. DOI: 10.25172/jour.4.1.3.
- [49] Lucas J. Koerner y Thomas W. Secord. «An embedded electrical impedance analyzer based on the AD5933 for the determination of voice coil motor mechanical properties». En: *Sensors and Actuators A: Physical* 295 (2019), págs. 99-112. ISSN: 0924-4247. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sna>.

- 2019.05.037. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424719302900>.
- [50] Fernando Ruiz. «La red inteligente y el vehículo eléctrico». En: (2019).
- [51] Kritika Saini y col. «Rapid detection of Salmonella enterica in raw milk samples using Stn gene-based biosensor». En: *3 Biotech* 9.11 (2019). ISSN: 21905738. DOI: 10.1007/S13205-019-1957-4.
- [52] «SAM composition and electrode roughness affect performance of a DNA biosensor for antibiotic resistance». En: *Biosensors* 9.1 (2019). ISSN: 20796374. DOI: 10.3390/BIOS9010022.
- [53] Carlo Santoro y col. «Supercapacitive paper based microbial fuel cell: High current/power production within a low cost design». En: *Bioresource Technology Reports* 7 (2019), pág. 100297. ISSN: 2589-014X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100297>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589014X19301872>.
- [54] Abraham Gomez Vidales y col. «The influence of addition of iridium-oxide to nickel-molybdenum-oxide cathodes on the electrocatalytic activity towards hydrogen evolution in acidic medium and on the cathode deactivation resistance». En: *Electrochimica Acta* 302 (2019), págs. 198-206. ISSN: 0013-4686. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.02.030>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468619302646>.
- [55] Péter Bakonyi y col. «Development and Application of Supported Ionic Liquid Membranes in Microbial Fuel Cell Technology: A Concise Overview». En: *Membranes* 10.1 (2020). ISSN: 2077-0375. DOI: 10.3390/membranes10010016. URL: <https://www.mdpi.com/2077-0375/10/1/16>.
- [56] Pietro Ibba y col. «Bio-impedance and circuit parameters: An analysis for tracking fruit ripening». En: *Postharvest Biology and Technology* 159 (2020), pág. 110978. ISSN: 0925-5214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110978>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521419304983>.

- [57] Tao Li y col. «Microbial Fuel Cell-Membrane Bioreactor Integrated System for Wastewater Treatment and Bioelectricity Production: Overview». En: *Journal of Environmental Engineering* 146.1 (2020), pág. 04019092. ISSN: 0733-9372. DOI: 10.1061/(asce)ee.1943-7870.0001608.
- [58] «This is information on a product in full production. STM32F205xx STM32F207xx». En: (2020). URL: [www.st.com](http://www.st.com).
- [59] David E. Brown y col. «Detecting onset of lithium plating during fast charging of Li-ion batteries using operando electrochemical impedance spectroscopy». En: *Cell Reports Physical Science* 2.10 (2021), pág. 100589. ISSN: 2666-3864. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2021.100589>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666386421003040>.
- [60] Kanika Dheman y col. «ImpediSense: A long lasting wireless wearable bio-impedance sensor node». En: *Sustainable Computing: Informatics and Systems* 30 (2021), pág. 100556. ISSN: 2210-5379. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.suscom.2021.100556>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210537921000470>.
- [61] Tsinuel Girma y col. «Utility of bio-electrical impedance vector analysis for monitoring treatment of severe acute malnutrition in children». En: *Clinical Nutrition* 40.2 (2021), págs. 624-631. ISSN: 0261-5614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.06.012>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026156142030323X>.
- [62] Francisco Hernández-Fernández y col. «MONTAJE Y ESTUDIO DE UNA PILA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA PARA LA PRODUCCIÓN DE ELECTRICIDAD CON DEPURACIÓN SIMULTÁNEA DE AGUAS RESIDUALES». En: (dic. de 2021).
- [63] Tobias Littfinski y col. «A comparative study of different electrochemical methods to determine cell internal parameters of microbial fuel cells». En: *Journal of Power Sources* 494.February (2021), pág. 229707. ISSN: 03787753. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2021.229707. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2021.229707>.

- [64] Fan Luo y col. «Rapid prediction of the state of health of retired power batteries based on electrochemical impedance spectroscopy». En: *Journal of Energy Storage* 41 (2021), pág. 102866. ISSN: 2352-152X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.est.2021.102866>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352152X21005880>.
- [65] Tom R. Molderez y col. «A chip-based 128-channel potentiostat for high-throughput studies of bioelectrochemical systems: Optimal electrode potentials for anodic biofilms». En: *Biosensors and Bioelectronics* 174 (2021), pág. 112813. ISSN: 18734235. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112813. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112813>.
- [66] Abanti Shama Afroz y col. «Towards Bio-Hybrid Energy Harvesting in the Real-World: Pushing the Boundaries of Technologies and Strategies Using Bio-Electrochemical and Bio-Mechanical Processes». En: (2021). DOI: 10.3390/app11052220. URL: <https://doi.org/10.3390/app11052220>.
- [67] Hafiz Muhammad Adeel Sharif y col. «Recent innovations for scaling up microbial fuel cell systems: Significance of physicochemical factors for electrodes and membranes materials». En: *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 129 (2021), págs. 207-226. ISSN: 1876-1070. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2021.09.001>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876107021005277>.
- [68] «Value added products from wastewater using bioelectrochemical systems: Current trends and perspectives». En: *Journal of Water Process Engineering* 39. September 2020 (2021), pág. 101737. ISSN: 22147144. DOI: 10.1016/j.jwpe.2020.101737. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101737>.
- [69] Shangshang Wang y col. «Electrochemical impedance spectroscopy». En: *Nature Reviews Methods Primers* 1 (jun. de 2021), pág. 41. DOI: 10.1038/s43586-021-00039-w.
- [70] Takashi Watanabe y col. «Bio-electrical impedance analysis of “silk sweet” sweet potato tissues under low-temperature storage using a novel indicator, LTO». En: *Biosystems Engineering* 206 (2021), págs. 1-5. ISSN: 1537-5110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.101737>.

- [//doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.03.009](https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.03.009). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1537511021000684>.
- [71] Younju Lee y Takashi Watanabe. «Bio-electrochemical impedance analysis of frozen Japanese pear tissues: And the relationships among the physical properties, total polyphenol content, and oxidase activity». En: *LWT* 153 (2022), pág. 112499. ISSN: 0023-6438. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112499>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821016522>.
- [72] «Piezo-impedance based fatigue damage monitoring of restrengthened concrete frames». En: *Composite Structures* 280 (2022), pág. 114868. ISSN: 0263-8223. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.114868>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263822321013076>.
- [73] *An Arduino-based EIS with a Logarithmic Amplifier for Corrosion Monitoring*. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6860873> (visitado 17-07-2020).
- [74] *Application notes - Biologic*. URL: [https://www.biologic.net/document\\_type/application-notes/?query=eis&subtypes%5B%5D=166](https://www.biologic.net/document_type/application-notes/?query=eis&subtypes%5B%5D=166) (visitado 23-09-2021).
- [75] *Arduino-based Portable System for Bioelectrical Impedance Measurement*. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6860044> (visitado 17-07-2020).
- [76] *BOE.es - BOE-A-1995-27963 Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas*. URL: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1995-27963> (visitado 01-11-2021).
- [77] *Composición de las Aguas Residuales – Estructplan*. URL: <https://estrucplan.com.ar/composicion-de-las-aguas-residuales/> (visitado 07-08-2021).
- [78] *DDS Devices Generate High-Quality Waveforms Simply, Efficiently, and Flexibly — Analog Devices*. URL: <https://www.analog.com/en/analog-dialogue/>

- articles/dds-generates-high-quality-waveforms-efficiently.html (visitado 14-11-2021).
- [79] «EC-Lab Software: Techniques and Applications». En: ().
- [80] *EDAR de Leon — iAgua*. URL: <https://www.iagua.es/data/infraestructuras/edar/leon> (visitado 03-08-2021).
- [81] *EF1034197 - Triangle Circumcenter.xlsm — Con la tecnología de Box*. URL: <https://app.box.com/s/dturnhbkjtm3s0ojxdnn> (visitado 06-08-2021).
- [82] *El Agua*. URL: <https://portal.esval.cl/educacion/el-agua/> (visitado 07-08-2021).
- [83] *El consumo energético en las depuradoras de España — Formación de ingenieros*. URL: <https://www.tecpa.es/consumo-energetico-depuradoras-espana/> (visitado 03-08-2021).
- [84] *El viaje no tan circular de los residuos domésticos en España — Ecología — Clima y Medio Ambiente — EL PAÍS*. URL: <https://elpais.com/clima-y-medio-ambiente/2021-05-02/el-viaje-no-tan-circular-de-los-residuos-domesticos-en-espana.html> (visitado 03-08-2021).
- [85] *Electrochemical Impedance Spectroscopy/EIS20200412.ipynb at master · nick-gould/Electrochemical Impedance Spectroscopy · GitHub*. URL: [https://github.com/nick-gould/Electrochemical-Impedance-Spectroscopy/blob/master/EIS\\_2020\\_04\\_12.ipynb](https://github.com/nick-gould/Electrochemical-Impedance-Spectroscopy/blob/master/EIS_2020_04_12.ipynb) (visitado 23-09-2021).
- [86] *EVAL AD5933 Bioelectrochemical Impedance - YouTube*. URL: <https://www.youtube.com/watch?v=AxM3sqcRvCs> (visitado 05-12-2021).
- [87] *Exactitud y precisión*. URL: [http://formacion.intef.es/pluginfile.php/246707/mod\\_resource/content/1/exactitud\\_y\\_precisin.html](http://formacion.intef.es/pluginfile.php/246707/mod_resource/content/1/exactitud_y_precisin.html) (visitado 04-12-2021).
- [88] *Fitxer:Microbial electrolysis cell.png - Viquipèdia, l'enciclopèdia lliure*. URL: [https://ca.wikipedia.org/wiki/Fitxer:Microbial\\_electrolysis\\_cell.png](https://ca.wikipedia.org/wiki/Fitxer:Microbial_electrolysis_cell.png) (visitado 13-11-2021).
- [89] *GitHub - kbknudsen/PyEIS: PyEIS: A Python-based Electrochemical Impedance Spectroscopy simulator and analyzer*. URL: <https://github.com/kbknudsen/PyEIS> (visitado 05-08-2021).

- [90] *Grenoble INP-Phelma - école d'ingénieurs en physique, électronique, matériaux*. URL: <https://phelma.grenoble-inp.fr/> (visitado 14-11-2021).
- [91] *Impedance Spectroscopy Using the AD5933 - Circuit Cellar*. URL: <https://circuitcellar.com/research-design-hub/impedance-spectroscopy-using-the-ad5933/> (visitado 21-06-2021).
- [92] *La fusión nuclear - Foro Nuclear*. URL: <https://www.foronuclear.org/descubre-la-energia-nuclear/preguntas-y-respuestas/sobre-fusion-nuclear/la-fusion-nuclear/> (visitado 01-11-2021).
- [93] *Materials Analysis Application Notes — Solartron Analytical*. URL: <https://www.ameteki.com/library/application-notes/solartron-analytical> (visitado 16-09-2021).
- [94] *Method Validation*. URL: <http://www.inf.fu-berlin.de/lehre/WS14/ProteomicsWS14/LUS/lu4a/276/index.html> (visitado 06-08-2021).
- [95] Tom R Molderez y Marian Verhelst. «An Affordable Multichannel Potentiostat with 128 Individual Stimulation and Sensing Channels». En: ().
- [96] *Objetivos y metas de desarrollo sostenible – Desarrollo Sostenible*. URL: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/> (visitado 03-08-2021).
- [97] *PalmSens4 - PalmSens*. URL: <https://www.palmsens.com/product/palmsens4/> (visitado 10-11-2021).
- [98] *Potentiostats - Biologic*. URL: [https://www.biologic.net/product\\_category/potentiostats-galvanostats/](https://www.biologic.net/product_category/potentiostats-galvanostats/) (visitado 01-11-2021).
- [99] *Problems with measuring Capacitance and selecting calibration capacitance in AD5933 EVAL Evaluation board. - QA - Direct Digital Synthesis (DDS) - EngineerZone*. URL: <https://ez.analog.com/dds/f/q-a/533895/problems-with-measuring-capacitance-and-selecting-calibration-capacitance-in-ad5933-eval-evaluation-board> (visitado 23-09-2021).
- [100] *Relaciones de Kramers-Kronig - Wikipedia, la enciclopedia libre*. URL: [https://es.wikipedia.org/wiki/Relaciones\\_de\\_Kramers-Kronig](https://es.wikipedia.org/wiki/Relaciones_de_Kramers-Kronig) (visitado 04-08-2021).

- [101] *Teorema de máxima transferencia de potencia - YouTube*. URL: <https://www.youtube.com/watch?v=uPcY8fedBdA> (visitado 28-11-2021).