



Acta Biológica Colombiana

ISSN: 0120-548X

racbiocol_fcbog@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia Sede

Bogotá

Colombia

MORA COLLAZOS, Alexander; BRAVO MONTAÑO, Enrique
DIVERSIDAD BACTERIANA ASOCIADA A BIOPELÍCULAS ANÓDICAS EN CELDAS
DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS ALIMENTADAS CON AGUAS RESIDUALES

Acta Biológica Colombiana, vol. 22, núm. 1, enero-abril, 2017, pp. 77-84

Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá

Bogotá, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319050490008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN/RESEARCH ARTICLE

DIVERSIDAD BACTERIANA ASOCIADA A BIOPELÍCULAS ANÓDICAS EN CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS ALIMENTADAS CON AGUAS RESIDUALES

Bacterial Diversity Associated with Anodic Biofilms in Microbial Fuel Cells Fed with Wastewater

Alexander MORA COLLAZOS¹, Enrique BRAVO MONTAÑO¹.

¹ Grupo de investigación en Biología de Plantas y Microorganismos, Departamento de Biología, Universidad del Valle. Ciudad Universitaria Meléndez, Calle 13 n.º 100-00. Cali, Colombia.

For correspondence. alexander.mora.collazos@gmail.com

Received: 16th February 2016, **Returned for revision:** 1st August 2016, **Accepted:** 28th November 2016.

Associate Editor: Howard Junca.

Citation/Citar este artículo como: Mora Collazos A, Bravo Montaña E. Diversidad bacteriana asociada a biopelículas anódicas en celdas de combustible microbianas alimentadas con aguas residuales. Acta biol. Colomb. 2017;22(1):77-84. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v22n1.55766>

RESUMEN

El presente trabajo evaluó la diversidad bacteriana asociada a las biopelículas formadas sobre los ánodos de celdas de combustible microbianas, por medio del análisis del gen del ARNr 16S y observaciones por microscopía electrónica de barrido. Se construyeron celdas de combustible microbianas de una cámara que permanecieron en operación durante 30 días utilizando muestras ambientales como inóculo y único sustrato energético; las celdas fueron monitoreadas en función de la producción de energía durante el desarrollo del experimento; al finalizar los ensayos, se realizó la caracterización molecular y observaciones mediante microscopía electrónica de barrido a las biopelículas formadas. Se reportan valores de densidad de potencia máxima de 4,85 mW/m² para el agua residual doméstica y de 1,85 mW/m² para el caso del agua residual industrial, con disminuciones de 71 % de la DBO para el agua residual doméstica y de 59 % de la DBO para el caso del agua residual industrial. Se logró la recuperación de 15 secuencias únicas provenientes de la amplificación del gen del ARNr 16S obtenidas a partir de las biopelículas formadas sobre los ánodos. El análisis filogenético ubicó estas secuencias en la clase *Deltaproteobacteria*. Los dos sustratos ambientales contienen una importante e interesante diversidad microbiana, mostrándolos promisorios para la construcción y operación de MFC y la implementación de procesos de biodegradación de materia orgánica.

Palabras clave: aguas residuales, ARNr 16S, celdas de combustible microbianas, diversidad bacteriana, generación de energía, microscopía electrónica de barrido.

ABSTRACT

This study evaluated the bacterial diversity associated with biofilms formed on the anode of microbial fuel cells (MFC), by analyzing the 16S rRNA gene and observations by scanning electron microscopy. Single chambered MFC were constructed and kept in operation for 30 days using environmental samples as inoculum and sole energy substrate; the MFC were monitored as a function of energy production in the course of the experiment; at endpoint, molecular characterization and observations using scanning electron microscopy was performed to the formed biofilms. Values of maximum power density of 4.85 mW/m² for domestic wastewater and 1.85 mW/m² in the case of industrial wastewater are reported, with declines of 71 % of the BOD for domestic wastewater and 59 % of the BOD in the case of industrial wastewater. Recovery of 15 unique sequences from the amplification of 16S rRNA gene obtained from the biofilms formed on the anodes was accomplished. Phylogenetic analysis placed these sequences in the *Deltaproteobacteria* class. The two environmental substrates contain an important and interesting microbial diversity, showing them very promising for the construction and operation of MFC and implementing biodegradation of organic material.

Keywords: 16S rRNA, electricity generation, microbial diversity, microbial fuel cell, scanning electron microscopy, wastewater.

INTRODUCCIÓN

La tecnología de las celdas de combustible microbianas, MFC por sus siglas en inglés (*Microbial Fuel Cell*), se muestra a futuro como una fuente alternativa de energía, con el beneficio de poder eliminar compuestos tóxicos del ambiente o disminuir los niveles de materia orgánica que son vertidos a las fuentes de agua (Zhou *et al.*, 2013). Las MFC se componen de una o dos cámaras con dos electrodos (ánodo y cátodo) en los cuales se forman biopelículas microbianas capaces de degradar sustratos energéticos; producto del metabolismo microbiano se oxidan compuestos en la cámara del ánodo, produciendo CO₂, protones y electrones, estos últimos son transportados desde el ánodo hasta el cátodo mediante un circuito externo. Los electrones junto con los protones son reducidos a agua en el cátodo, generando energía eléctrica mediante la formación de un gradiente electrónico (Logan y Rabaey, 2012).

Las MFC tienen la capacidad de operar utilizando diferentes fuentes naturales, tales como lagos (Zhao *et al.*, 2012), sedimentos marinos (Dumas *et al.*, 2007; Erable *et al.*, 2013), efluentes provenientes de aguas residuales domésticas (Liu *et al.*, 2004; Logan y Rabaey, 2012) o industriales, (Velasquez-Orta *et al.*, 2011), lo que las convierte en dispositivos versátiles con gran capacidad para operar en diferentes ambientes, presentando ventajas funcionales y operacionales sobre otras tecnologías: permite la conversión directa de un sustrato energético en electricidad, logrando la remoción de materia orgánica y de partículas contaminantes en fuentes de agua, puede operar eficientemente en condiciones ambientales, incluso a bajas temperaturas, no produce emisiones de gases contaminantes, ya que la única emisión es CO₂ que retorna a la atmósfera, tiene el potencial de ser utilizado en lugares carentes de infraestructura eléctrica y no representa peligro en su operación (Rabaey y Verstraete, 2005).

Entendiendo la importancia del componente biológico para el desarrollo de esta biotecnología, el presente trabajo buscó contribuir al conocimiento de la diversidad microbiana asociada y en la búsqueda y caracterización de microorganismos eficientes en la capacidad de transferir electrones al ánodo de las MFC, potencialmente utilizables en procesos biotecnológicos, industriales o de biorremediación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación de la actividad electrogénica de los sustratos ambientales

Se construyeron MFC de una cámara utilizando recipientes de 2,5 L. Los electrodos se construyeron utilizando piezas cilíndricas de grafito. Para el caso del cátodo, el electrodo fue recubierto con catalizador de platino carbono con una carga de 0,1 mg/cm² preparada en una solución de Nafion al 5 %. Las MFC fueron inoculadas y alimentadas con dos tipos de sustratos ambientales, respectivamente: agua

residual doméstica (ARD), proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, situada en La Vorágine, corregimiento de Pance, Municipio de Cali, y agua residual industrial (ARI) de un ingenio azucarero ubicado en el Departamento del Cauca. Las MFC se mantuvieron en funcionamiento durante 30 días, tiempo en el cual se garantizó la formación de biopelícula; el monitoreo de los parámetros electroquímicos se llevó a cabo mediante colecta de voltaje y corriente a través del tiempo y curvas de potencial de celda vs. densidad de corriente. Los valores de potencia y corriente se registraron usando multímetros digitales (UNI-T UT70A). La densidad de potencia fue normalizada con respecto al área geométrica del ánodo.

Análisis de la DBO

Se realizó análisis de la demanda biológica de oxígeno (DBO) a la muestra ambiental, al momento de recolectar la muestra ambiental y al final de los 30 días de operación en las MFC.

Caracterización molecular de la biopelícula anódica

Pasados los 30 días de operación de las MFC, los electrodos fueron retirados del dispositivo, lavados con agua destilada estéril y la biopelícula anódica fue removida de los electrodos con un escalpelo estéril. Utilizando el kit comercial *Power Soil DNA Isolation* (MO BIO) se realizó la extracción de ADN genómico a partir del raspado de la biopelícula anódica; el ADN extraído se amplificó utilizando los cebadores: F345 5'ACTCCTACGGGAGGCAGCAG3' (Muyzer *et al.*, 1993) y Rga3 5'CCCTTTGTACCGGCCATTGT'3 (construido en el presente trabajo). Los amplificados generados se clonaron con el kit *pGEM T easy vector system* I (PROMEGA) y se transformaron por choque térmico células quimiocompetentes de *E. coli* DH5α. Se realizó la purificación de los plásmidos de colonias que tuvieran el inserto, utilizando el kit *UltraClean 6 Minute Mini Plasmid Prep* (MO BIO). Se determinaron las secuencias mediante procedimientos estándares del servicio suministrado por la compañía Macrogen (USA) utilizando los cebadores universales T7-SP6. Las secuencias obtenidas fueron comparadas directamente con las secuencias depositadas en las bases de datos del GenBank y del *Ribosomal Database Project*, usando la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST-N). Las secuencias parciales del gen del ARNr 16S fueron editadas con el programa Chromas LITE versión 2.1, estas se alinearon con el programa *Bioedit Sequence Alignment Editor* (Hall, 1999). La clasificación filogenética fue inferida mediante el método de máxima verosimilitud utilizando el *software* PAUP versión 4.0b10, se realizó una búsqueda heurística; el algoritmo de TBR (*Tree-Bisection-Reconnection*) fue usado para reajustar la topología (*Branch-swapping*); el modelo de substitución nucleotídica fue seleccionado por el criterio de Akaike en ModelTest versión 2.1.3 (Darriba *et al.*, 2012); el soporte estadístico

de los nodos se estimó mediante el bootstrap de máxima verosimilitud con 1000 repeticiones.

Microscopia electrónica de barrido

Se realizaron observaciones de la biopelícula anódica mediante microscopía electrónica de barrido. La biopelícula adherida al electrodo se fijó en una solución de glutaraldehído al 2,5 % en amortiguador fosfato 0,1 M pH 7,2 durante 12 h a 4 °C; las muestras fijadas fueron lavadas dos veces en amortiguador fosfato, posteriormente fueron deshidratadas sumergiendo e incubando la muestra a 4 °C durante diez minutos en concentraciones crecientes de etanol entre 30 % y 99,8 %. Las muestras fueron deshidratadas inmediatamente agregando gotas de hexametildisiloxano, posteriormente se adhirieron a un soporte metálico con cinta de carbono doble faz y fueron recubiertas con una fina capa de oro en un *Sputter Coater Denton Vacuum* modelo Desk IV para su inmediata observación en un microscopio Jeol JSM 6490 LV.

RESULTADOS

Desempeño electroquímico de los sustratos ambientales

Se monitoreó la producción de energía durante 30 días en las MFC, las cuales fueron alimentadas exclusivamente con sustratos de origen ambiental, sin adicionar ningún tipo de compuesto energético o realizar cambios de sustrato. En la figura 1 se observa la densidad de potencia generada por las MFC en función del tiempo; cuando las MFC fueron inoculadas presentaron una fase de latencia durante los primeros siete días del montaje, seguido por un rápido incremento del desempeño electroquímico llegando a una fase en donde la potencia mostró un comportamiento oscilatorio, alcanzándose valores de potencia máxima de 4,85 mW/m² en el día 22 para el caso del ARD y de 1,85 mW/m² en el día 20 en el caso del ARI.

Remoción de materia orgánica

El ARD presentó un valor de DBO inicial de 555,1 mg O₂/L y de 158,4 mg O₂/L al finalizar los ensayos en las MFC mostrando una disminución del 71 %; en el caso del ARI el valor inicial fue de 1527,8 mg O₂/L y de 630 mg O₂/L al finalizar los ensayos mostrando una disminución del 59 % en el parámetro de DBO.

Caracterización de la biopelícula formada sobre los ánodos de las MFC

La figura 2 muestra la biopelícula formada durante 30 días sobre los ánodos de las MFC; la microscopía electrónica de barrido por imágenes de electrón secundario muestra que las estructuras de las biopelículas de los dos ambientes son muy diferentes entre sí, con relación a la estructura de estas y al comparar los diferentes morfotipos bacterianos. Las figuras 2A y 2C corresponden al ánodo de la MFC que fue operada con ARI, en estas se pueden observar bacilos

con extremos redondeados (0,84 µm–1,52 µm x 0,22 µm); bacilos con extremos achatados (3,1–3,9 µm x 0,4 µm), una bacteria filamentosa (6,4 µm x 0,23 µm) (Fig. 2A) y una espiroqueta (6 µm x 0,74 µm) (Fig. 2C); las figuras 2B y 2D corresponden al ánodo de la MFC que fue operada con ARD, en éstas se pueden observar formas que se asemejan a bacilos (2,33–2,83 µm x 0,71 µm), cocobacilos (1,33–1,5 µm x 0,7 µm) y cocos (1,1 µm x 0,8 µm).

Caracterización molecular de la biopelícula

Se recuperaron 48 colonias transformadas de las cuales 15 poseían insertos únicos. Los resultados de la alineación local (BLAST-N) para las secuencias recuperadas muestran tener relación con secuencias de clones no identificados y no clasificados las cuales presentan valores de máxima identidad que van desde 92 % hasta 98 %; se determinó con qué grupo de microorganismos estaban relacionadas las secuencias encontradas, al realizar análisis filogenéticos tomando secuencias de diferentes *Phyla* bacterianos, estas últimas fueron obtenidas de la base de datos almacenadas en el Genbank; el análisis indicó que las 15 secuencias están relacionadas con la clase *Deltaproteobacteria* (Tabla 1).

Con el objetivo de establecer a qué grupo en particular estaban relacionadas las secuencias se tomaron secuencias al azar de géneros diferentes para cada una de las familias pertenecientes a la clase *Deltaproteobacteria*; la inferencia de la historia filogenética se realizó con base en el mejor árbol generado por el método de máxima verosimilitud (Fig. 3); el modelo de sustitución nucleotídica utilizado fue GTR+I+G con 0,4040 como parámetro alfa de la distribución gamma, 0,2050 como la proporción de sitios invariantes, las frecuencias nucleotídicas fueron T=0,2078, C=0,2414, A=0,2332 y G=0,3176. Los análisis combinados de alineamientos realizados en la bases de datos y la reconstrucción filogenética sugiere que: los clones C2, C10, C12, C15, C32 y C46 aislados del ARI, pertenecen al orden *Desulfuromonadales*, familia *Geobacteraceae*; los clones C9, C11, C36 y C47 aislados del ARI y los clones V3 y V12 aislados del ARD pertenecerían al orden *Desulfobacterales*, familia *Desulfobulbaceae*, de estos, solo el clon V12 se ubicó en el género *Desulfurivibrio*; el clon V14 aislado del ARD se ubicó en el orden *Syntrophobacterales*, en la familia *Syntrophaceae* y posiblemente en el género *Syntrophus*; el clon V19 aislado del ARD se ubicó en el orden *Desulfurellales*, familia *Desulfurellaceae*; el clon C44 muestra relación con el grupo *Deltaproteobacteria*; no obstante, no fue posible realizar aproximación a ningún grupo en particular.

DISCUSIÓN

Los resultados indican, con respecto a la diversidad microbiana, que en los dos ambientes estudiados existen microorganismos que no solo tienen la capacidad de crecer formado biopelículas sobre los ánodos de las MFC (Fig. 2), sino que se muestran como microorganismos electrogénicos,

Tabla 1. Resultado de comparación de las secuencias de los clones mediante las herramientas de BLAST-N y análisis de inferencia filogenética por el método de máxima verosimilitud.

Clon	Resultado BLAST-N			Análisis filogenético	Numero de accesión en el GenBank
	Secuencia más relacionada	% de identidad	Valor E	Grupo taxonómico más relacionado	
C2	Geobacter sp. (AB769234)	98	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083010
C9	Clon de bacteria no cultivada (AB722237)	97	0,0	Orden Desulfobacterales	KM083011
C10	Clon de Geobacter sp. (JQ086879)	97	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083012
C11	Clon de bacteria no cultivada (AB722237)	99	0,0	Orden Desulfobacterales	KM083013
C12	Clon de bacteria no cultivada (HM141838)	99	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083014
C15	Clon de bacteria no cultivada (EF079082)	98	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083015
C32	Clon de bacteria no cultivada (FN824928)	96	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083016
C36	Clon de bacteria no cultivada (JX223151)	92	0,0	Orden Desulfobacterales	KM083017
C44	Clon de bacteria no cultivada (DQ833475)	94	0,0	Deltaproteobacteria no clasificada	KM083018
C46	Clon de Proteobacteria no cultivada (JN038771)	95	0,0	Familia Geobacteraceae	KM083019
C47	Clon de bacteria no cultivada (DQ833475)	98	0,0	Orden Desulfobacterales	KM083020
V3	Clon de bacteria no cultivada (AB240495)	97	0,0	Orden Desulfobacterales	KM083021
V12	Clon de bacteria no cultivada (KC432093)	95	0,0	Familia Desulfobulbaceae	KM083022
V14	Clon de bacteria no cultivada (JN995365)	99	0,0	Familia Syntrophaceae	KM083023
V19	Clon de bacteria no cultivada (EU542511)	94	0,0	Familia Desulfurellaceae	KM083024

al tener la capacidad de transferir los electrones desde un sustrato ambiental al ánodo de las MFC (Fig. 1).

Las MFC alimentadas con sustratos de origen ambiental generaron energía de forma continua durante toda la fase experimental, sin necesidad de enriquecer los sustratos o de realizar cambios de estos, lo cual demuestra que los microorganismos tienen el potencial de generar energía utilizando exclusivamente los diferentes compuestos presentes en la muestra ambiental, indicando que las MFC fueron auto sostenibles en cuando al sustrato energético, conclusión a la cual llegaron también Reimers *et al.* (2006), quienes operaron un dispositivo *in-situ* durante 125 días, el cual generó una densidad de potencia de 34 mW/m²; esta condición favorecería el montaje de dispositivos en sitios remotos, además de representar un factor económico importante al no tener que invertir en el enriquecimiento de los sustratos.

La auto sostenibilidad de las MFC es un parámetro que puede deberse a las complejas interacciones entre los consorcios microbianos y no solo a los microorganismo que conforman la biopelícula; microorganismos por fuera de la biopelícula desempeñarían un papel importante al degradar sustratos complejos en compuestos fácilmente metabolizables por los microorganismos electrogénicos (Pant *et al.*, 2010). Además, el potencial de biodegradación y biorremediación que poseen las MFC y que se evidencia en la reducción de ciertos parámetros, como la DBO, estaría relacionado con el metabolismo de todos los microorganismos en la MFC y no solo a los presentes en la biopelícula; sin embargo, Huggins *et al.* (2013) indican que la presencia de los electrodos puede actuar como catalizador al estimular el aumento de la tasa de degradación de la materia orgánica.

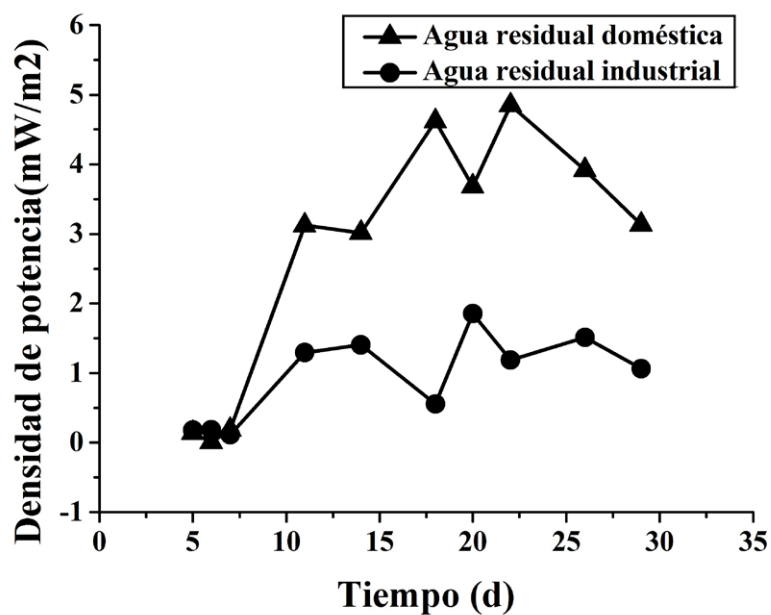


Figura 1. Densidad de potencia generada a través del tiempo por los dos ambientes monitoreados.

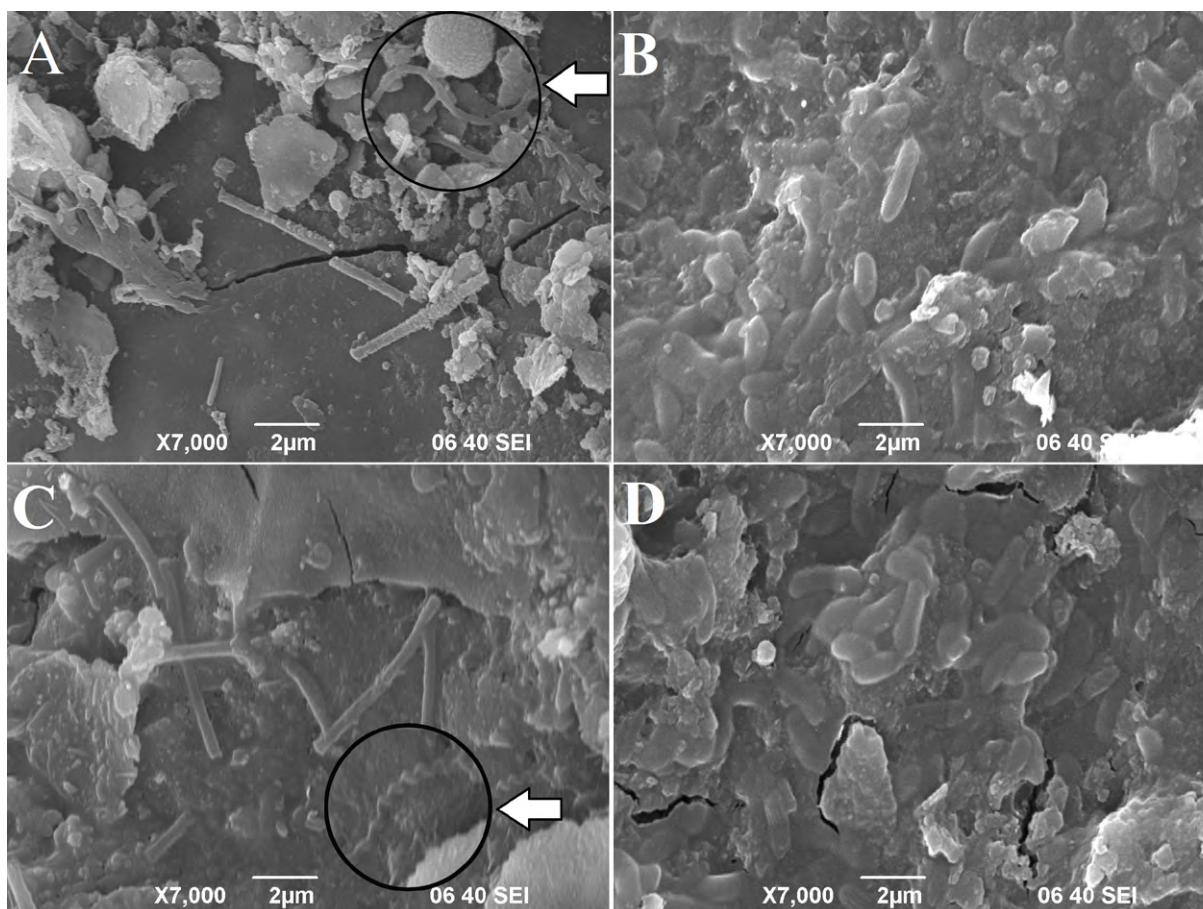


Figura 2. Microscopía electrónica de barrido por imágenes de electrón secundario de las biopelículas formadas sobre los ánodos de las MFC después de 30 días operación: (A) y (C) corresponden a la biopelícula formada por las bacterias presentes en el ARI; (B) y (D) corresponden a la biopelícula formada por bacterias presentes en el ARD.

Se registró una disminución del 71 % de la DBO en el caso de la MFC alimentada con ARD y de 59 % para el caso de la MFC alimentada con ARI; valores significativamente altos, que estaría demostrando el potencial de remoción de materia orgánica que presentan estos dispositivos. Se han reportado dispositivos de mayor complejidad con la capacidad de remoción entre 80-90 % (Huang *et al.*, 2011). La autosostenibilidad de la MFC combinada con las eficiente tasas de disminución de la DBO han llevado al desarrollo de biosensores con la capacidad de medir la DBO (Hsieh y Chung, 2014).

La caracterización molecular de la biopelícula (Fig. 3; Tabla 1.) indica que las secuencias encontradas pertenecen al *Phylum Proteobacteria*, clase *Deltaproteobacteria*; los clones se agruparon en cuatro órdenes diferentes (*Desulfuromonadales*, *Desulfobacterales*, *Syntrophobacterales* y *Desulfurellales*). Al interior de estos grupos se encuentran microorganismos anaerobios, facultativos y algunos con metabolismo

aerobio, quimiolitótrofos, quimioorganotrofos o quimioautótrofos, que pueden utilizar como último aceptor electrónico hierro y sulfato y como donadores de electrones pueden utilizar diversos compuestos orgánicos, que van desde compuestos orgánicos simples, ácidos grasos de cadena larga, alcoholes, cauchos, resinas compuestos aromáticos, hasta hidrocarburos alifáticos o aromáticos (Brenner *et al.*, 2005). Las características pertenecientes a la clase *Deltaproteobacteria* indicarían que en estos ambientes se encuentran microorganismos con la capacidad para biodegradar compuestos de interés.

Sun *et al.* (2011) indican que la mayor diversidad encontrada en cuatro configuraciones diferentes de ánodos, estaba representada por secuencias de microorganismos no cultivables y pertenecientes a la clase *Deltaproteobacteria*; Miran *et al.* (2015) reportaron que el género más abundante encontrado en sus dispositivos fue *Desulfovibrio*, perteneciente a la clase *Deltaproteobacteria*; igualmente, Wang

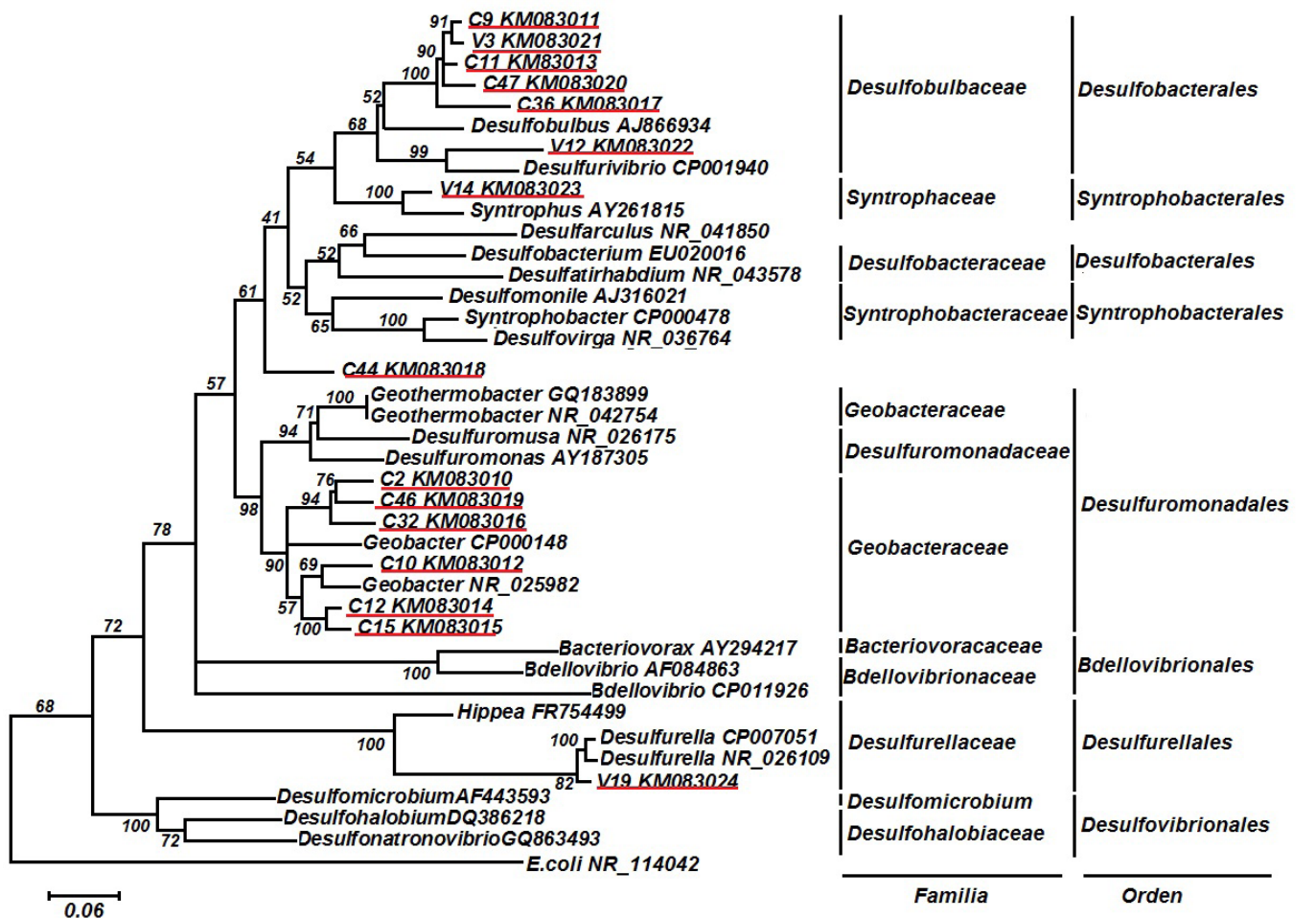


Figura 3. Inferencia filogenética de las secuencias encontradas al compararlas con secuencias de las diferentes familias de la Clase *Deltaproteobacteria*.

et al. (2014) y Cabezas *et al.* (2015) reportaron que la clase *Deltaproteobacteria* se encontraba en mayor abundancia que otros grupos bacterianos en la biopelícula formada sobre los ánodos de sus dispositivos; tendencia que ha sido reportada en aguas residuales y continentales, y en sedimentos marinos. También se ha observado que la mayor abundancia está representada por organismos del *Phylum Proteobacteria* (Sokhee *et al.*, 2014). Al parecer, los microorganismos de la clase *Deltaproteobacteria* presentan afinidad para conformar la biopelícula sobre los ánodos de las MFC.

Las biopelículas microbianas están conformadas por diferentes estratos, cada uno con complejas agrupaciones (Rochex *et al.*, 2009); donde microorganismos pueden ocupar regiones específicas condicionando la estructura de la biopelícula (Tian *et al.*, 2016); además, la estatura y composición de una biopelícula cambia a lo largo del tiempo impulsada por cambios ambientales, disponibilidad de nutrientes y factores intrínsecos a las biopelículas (Ribas *et al.*, 2009; Luria *et al.*, 2016).

Los datos de este trabajo derivan de la elaboración de librerías genómicas, lo cual representa limitaciones en el análisis de las comunidades microbianas; se asume que las secuencias recuperadas correspondan a los grupos más abundantes; no obstante, la complejidad, estructura y cambios en el tiempo de las biopelículas, requiere de la implementación técnicas donde se destaca la secuenciación de nueva generación (Luria *et al.*, 2016; Tian *et al.*, 2016).

La densidad de potencia generada por una MFC no podrá llegar a ser igual o mejor que la de una pila de combustible químico (Zhou *et al.*, 2013), sin embargo, esto no estaría indicando que la tecnología de las MFC no sea promisorio; las MFC ofrecen un medio económico para el tratamiento de aguas residuales, donde al parecer el electrodo actuaría como catalizador del proceso al aumentar las tasas de consumo de sustrato. Además, al ser sistemas anaerobios, evitan los costos de aireación y por el contrario, generan energía en el proceso (Huggins *et al.*, 2013). La tecnología de las MFC podría direccionarse al acople de procesos que acompañen la producción de energía con la descontaminación de cuerpos de agua y procesos de biorremediación, de aquí la importancia de conocer y caracterizar los microorganismos asociados a la biopelícula en búsqueda de conocimientos que permitan desarrollar de forma efectiva esa biotecnología.

CONCLUSIONES

Atendiendo a las limitaciones y beneficios que ofrecen las MFC, los estudios sobre esta biotecnología debería centrarse en temas de biorremediación, diversidad microbiana, relaciones entre consorcios microbianos, en el diseño y optimización de dispositivos *in-situ* amigables con el medio ambiente, que permitan la obtención de energía eléctrica acoplados a sistemas de medición o procesos de biorremediación. Las MFC tendrían la capacidad de producir

energía eléctrica de baja potencia, operada en ambientes naturales, donde el uso de los sustratos ambientales como única fuente de energía, haría auto sostenibles los dispositivos. El *Phylum Proteobacteria*, específicamente la clase *Deltaproteobacteria*, se muestra como un grupo de interés no solo por su versatilidad metabólica y su potencial en biorremediación sino además, por la posible afinidad que presenta por conformar mayoritariamente biopelículas formadas sobre los ánodos de las MFC. Se recomienda el uso de técnicas como DGGE y secuenciación de nueva generación las cuales aportarían información valiosa y más precisa sobre la estructura y la composición de las biopelículas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Valle y al Programa Nacional de Jóvenes Investigadores e Innovadores (2012) de Colciencias, por su apoyo económico-financiero. A los profesores Neyla Benítez del Departamento de Biología y William Lizcano del Departamento de Química de la Universidad del Valle por su asesoría y acompañamiento a lo largo de la investigación. Al Laboratorio de Biotecnología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) por su colaboración.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCIAS

- Brenner D, Krieg N, Staley J. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 2: The *Proteobacteria* Part C, The *Alpha*-, *Beta*-, *Delta*-, and *Epsilonproteobacteria*, Second Edition, New Delhi, India: Springer US; 2005. p.922-926.
- Cabezas A, Pommerenke B, Boon N, Friedrich, M W. *Geobacter*, *anaeromyxobacter* and *anaerolineae* populations are enriched on anodes of root exudate-driven microbial fuel cells in rice field soil. *Environ Microbiol Rep.* 2015;7(3):489-497. Doi:10.1111/1758-2229.12277
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods.* 2012;9(8):772. Doi:10.1038/nmeth.2109
- Dumas C, Mollica A, Féron D, Basséguy R, Etcheverry L, Bergel A. Marine microbial fuel cell: use of stainless steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochim Acta.* 2007;53(2):468-473. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2007.06.069
- Erable B, Lacroix R, Etcheverry L, Féron D, Delia, M L, Bergel A. Marine floating microbial fuel cell involving aerobic biofilm on stainless steel cathodes. *Bioresour Technol.* 2013;142:510-516. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.063
- Hall T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser.* 1999;41:95-98.

- Hsieh MC, Chung YC. Measurement of biochemical oxygen demand from different wastewater samples using a mediator-less microbial fuel cell biosensor. *Environ Technol.* 2014;35(17-20):2204-2211. Doi:10.1080/09593330.2014.898700
- Huang J, Yang P, Guo Y, Zhang K. Electricity generation during wastewater treatment: an approach using an AFB-MFC for alcohol distillery wastewater. *Desalination.* 2011;276(1-3):373-378. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2011.03.077
- Huggins T, Fallgren PH, Jin S, Ren ZJ. Energy and performance comparison of microbial fuel cell and conventional aeration treating of wastewater. *J Microb Biochem Technol.* 2013. Doi:http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.S6-002
- Luria CM, Amaral-Zettler L, Ducklow H, Rich J. Seasonal succession of free-living bacterial communities in coastal waters of the western antarctic peninsula. *Front Microbiol.* 2016;7(3):1731. Doi:http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01731
- Liu H, Ramnarayanan R, Logan B E. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ Sci Technol.* 2004;38(7):2281-2285. Doi:10.1021/es034923g
- Logan BE, Rabaey K. Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies. *Science.* 2012;337(6095):686-690. Doi:10.1126/science.1217412
- Miran W, Nawaz M, Kadam A, Shin S, Heo J, Jang J, Lee DS. Microbial community structure in a dual chamber microbial fuel cell fed with brewery waste for azo dye degradation and electricity generation. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22(17):13477-13485. Doi:10.1007/s11356-015-4582-8
- Muyzer G, de Waal E, Uitterlinden, A. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *J Appl Environ Microbiol.* 1993;59(3):695-700.
- Pant D, Van-Bogaert G, Diels L, Vanbroekhoven K. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresour Technol.* 2010;101(6):1533-1543. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.017
- Rabaey K, Verstraete, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends Biotechnol.* 2005;23(6):291-298. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.04.008
- Reimers C, Girguis P, Stecher H, Tender L, Rychelynck N, Whaling P. Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep. *Geobiology.* 2006;4(2):123-136. Doi:10.1111/j.1472-4669.2006.00071.x
- Ribas M, Chinalia F, Pozzi E, Foresti E. Microbial succession within an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (ASBBR) treating cane vinasse at 55°C. *Braz Arch Biol Technol.* 2009;52(4):1027-1036. Doi:http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132009000400028
- Rochex A, Massé A, Escudié R, Godon J, Bernet N. Influence of abrasion on biofilm detachment: evidence for stratification of the biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2009;36(3):467-470. Doi:10.1007/s10295-009-0543-x
- Sokhee P, Mi-Hwa Y, Seung-Mok L, Sang-Eun O, Hojeong K, Jae-Kyu Y. Power generation and anode bacterial community compositions of sediment fuel cells differing in anode materials and carbon sources. *Int J Electrochem Sci.* 2014;9(1):315-326.
- Sun Y, Wei J, Liang P, Huang X. Electricity generation and microbial community changes in microbial fuel cells packed with different anodic materials. *Bioresour Technol.* 2011;102(23):10886-10891. Doi:10.1016/j.biortech.2011.09.038.
- Tian H, Yan Y, Chen Y, Wu X, Li B. Process performance and bacterial community structure under increasing influent disturbances in a membrane-aerated biofilm reactor. *J Microbiol Biotechnol.* 20016;26(2):373-384. Doi:10.4014/jmb.1506.06072
- Velasquez-Orta S, Head I, Curtis T, Scott K. Factors affecting current production in microbial fuel cells using different industrial wastewaters. *Bioresour Technol.* 2011;102(8):5105-5112. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.059
- Wang Z, Lee T, Lim B, Choi C, Park J. Microbial community structures differentiated in a single-chamber air-cathode microbial fuel cell fueled with rice straw hydrolysate. *Biotechnol Biofuels.* 2014;7(1):9. Doi:10.1186/1754-6834-7-9
- Zhao J, Li X, Ren Y, Wang X, Jian C. Electricity generation from Taihu Lake cyanobacteria by sediment microbial fuel cells. *J Chem Technol Biotechnol.* 2012;87(11):1567-1573. Doi:10.1002/jctb.3794
- Zhou M, Wang H, Hassett D, Gu T. Recent advances in microbial fuel cells (MFCs) and microbial electrolysis cells (MECs) for wastewater treatment, bioenergy and bioproducts. *J Chem Technol Biotechnol.* 2013;88(4):508-518. Doi:10.1002/jctb.4004