

BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS MICROBIANOS PARA LA MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo durante el comienzo del siglo XXI de las denominadas tecnologías electroquímicas microbianas, TEM, ha supuesto una revolución en la aplicación de procesos biotecnológicos basados en la utilización de microorganismos electroactivos [1–5]. Estas tecnologías se basan en la capacidad de ciertos microorganismos para realizar un proceso de respiración extracelular. Este proceso consiste en la utilización de sustancias insolubles, como por ejemplo materiales conductores de la electricidad, como aceptores y/o donadores de electrones en el metabolismo celular de los microorganismos [6–12].

La posibilidad de utilizar sustancias sólidas para aceptar o donar electrones se vinculó rápidamente a la utilización de electrodos, lo cual proporcionó un nuevo y fuerte impulso en el crecimiento de la electroquímica microbiana y sus aplicaciones. Toda esta ingente actividad científica y tecnológica ha fijado las bases para las múltiples aplicaciones de las TEM.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN
2. BIOSENSOR ELECTROQUÍMICO MICROBIANO
 - 2.1 Sistema bioelectroquímico
 - 2.2 Sistema electrónico
3. APLICACIÓN EN LA MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES
 - 3.1 Ensayos a escala de laboratorio
 - 3.2 Ensayos a escala real
4. CONCLUSIONES
5. REFERENCIAS

AUTORES

Carlos Manchón Vállegas¹
Andrés de Deus Villagra Galiano^{1,2}
Antonio Berná Galiano³
Abraham Esteve-Núñez^{1,2}

¹ Grupo Bioe. Ingeniería Química.
UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, ALCALÁ
DE HENARES, MADRID (ESPAÑA).

² Nanoelectra S.L.
ALCALÁ DE HENARES, MADRID
(ESPAÑA).

³ Instituto IMDEA Agua.
ALCALÁ DE HENARES, MADRID
(ESPAÑA).

Las TEM se han aplicado en la generación de energía y la degradación de materia orgánica mediante las denominadas pilas o celdas de combustible microbiológicas, más conocidas por sus siglas en inglés MFC [1]. Esta aplicación ha merecido gran atención y esfuerzo por ser pionera en utilizar las TEM, pero es en el campo del tratamiento de aguas residuales donde se están desarrollando grandes avances debido a que solventa tres de los grandes problemas tradicionales de las tecnologías convencionales de tratamiento de aguas [2,3]: la necesidad de proporcionar oxígeno al tratamiento de fangos activados con el consiguiente consumo energético; la generación de elevadas cantidades de fango biológico y los costes asociados a su posterior tratamiento; y la producción de olores. Los procesos de tratamiento de aguas residuales basados en TEM han probado su capacidad para minimizar el impacto de estos tres problemas.

Aparte de estos relevantes campos de aplicación, las TEM son susceptibles de ser aplicadas en muchos procesos biotecnológicos tales como bioelectrosíntesis [4] o en biosensores microbianos [13,14].

Especialmente interesante es la aplicación en el campo de los biosensores microbianos, y más concretamente como biosensores electroquímicos microbianos. La utilización de biosensores microbianos, donde se utilizan células completas en lugar de proteínas o enzimas extraídos y concentrados, está muy extendida por las numerosas ventajas que presentan. El coste de estos dispositivos es bajo al eliminarse complejos procesos de extracción, purificación y concentración de los componentes activos [7]. Además, la utilización de microorganismos o biofilms electroactivos proporciona una enorme ventaja frente a los biosensores microbianos convencionales. Los microorganismos electroactivos son, por sí mismos, los elementos transductores de la respuesta metabólica directamente en una señal eléctrica. Esta característica única representa un avance significativo en el campo de los biosensores microbianos, donde se les considera una tercera generación dentro del desarrollo de estos dispositivos [13,14].

Las potenciales aplicaciones como biosensores de los biofilms electroactivos están asociadas a todos los factores que pueden

modificar la actividad metabólica y, en consecuencia la producción de corriente de los microorganismos electroactivos. En un primer momento, las investigaciones estuvieron enfocadas a la detección y cuantificación de diferentes sustratos utilizados como fuente de carbono [15] por los microorganismos: acetato [16,17] y ácidos grasos volátiles [18,19] generados durante procesos de digestión anaerobia, y, de modo más genérico, en la determinación de forma directa de la demanda bioquímica de oxígeno, DBO [20,21]. Estos biosensores permiten reducir drásticamente el plazo de 5 días que se requiere para la determinación del valor de este parámetro de forma convencional. El valor de la corriente eléctrica producida en el biosensor electroquímico microbiano es proporcional a la concentración de materia orgánica biodegradable presente, y la generación de esta corriente eléctrica es prácticamente instantánea.

Además de estas aplicaciones, se debe tener en cuenta que la producción de corriente eléctrica en estos dispositivos biosensores proporciona una información global sobre la actividad metabólica de los microorganismos electroactivos, y su respuesta frente a multitud de factores ambientales externos. Por este motivo, los biosensores electroquímicos microbianos también se han aplicado como herramientas de detección y alerta temprana ante la presencia de sustancias tóxicas [22–25], validando su utilidad como indicadores de calidad de agua.

En este capítulo, se presenta el desarrollo, caracterización y validación de un biosensor electroquímico microbiano como herramienta de monitorización en tiempo real y de forma autónoma de la calidad del agua en corrientes influentes y efluentes en plantas de tratamiento de aguas residuales.

2. BIOSENSORES ELECTROQUÍMICOS MICROBIANOS

Un biosensor electroquímico microbiano viable para su aplicación en la monitorización en tiempo real de la calidad de los efluentes en una planta de tratamiento de aguas requiere de la

integración de dos sistemas diferenciados en un único dispositivo. Por una parte, es imprescindible un sistema bioelectroquímico que sea sensible a los parámetros de calidad del agua y que transforme la respuesta biológica en una señal eléctrica y, por otro lado, es necesario disponer de un sistema electrónico de control, adquisición y transmisión de dicha señal para su acceso en tiempo real.

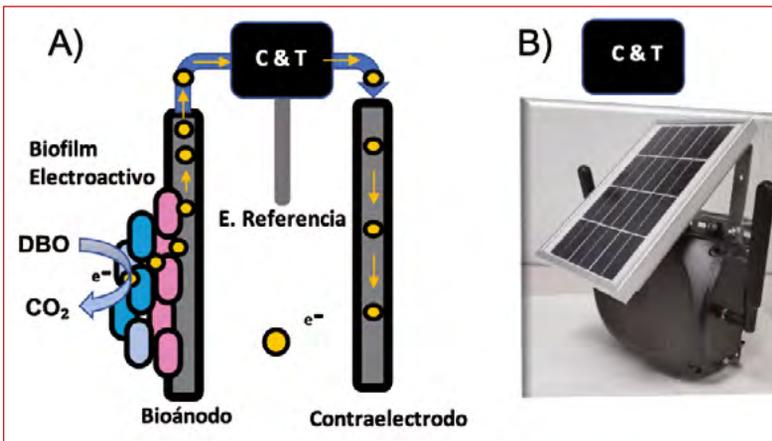
2.1. Sistema bioelectroquímico

El prototipo de biosensor electroquímico microbiano propuesto se compone de dos sistemas integrados, tal y como se muestran en el esquema de la **Figura 1**. La **Figura 1A** representa un esquema del sistema bioelectroquímico de tres electrodos que transforma la respuesta microbiológica del sistema, cuando entra en contacto con una muestra de agua con una determinada composición, en una señal eléctrica.

La elección de un sistema de tres electrodos frente a un sistema de dos electrodos obedece a la mayor sensibilidad y especificidad que aporta el control del potencial electroquímico que el sistema de tres electrodos permite llevar a cabo sobre el bioelectrodo sensor [26].

Cada uno de los tres electrodos que integran el sistema bioelectroquímico desempeña una función específica. El bioánodo o bioelectrodo sensor, es donde reside el biofilm electroactivo que transforma la actividad metabólica directa y proporcionalmente en una señal eléctrica. Esta actividad metabólica aumentará o disminuirá en presencia o ausencia, respectivamente, de materia orgánica biodegradable, e incluso podrá llegar a verse inhibida por la presencia de un agente tóxico. El electrodo de referencia, en este caso un electrodo de plata/cloruro de plata, es necesario para fijar y controlar el valor del potencial electroquímico en el bioelectrodo sensor. Este electrodo de referencia proporciona un valor constante y conocido del potencial, lo que permite correlacionar la producción de corriente con los diferentes sucesos esperables: presencia o ausencia de materia orgánica, o aparición de agentes tóxicos.

Finalmente, el tercer electrodo es necesario para cerrar el circuito eléctrico y el lazo de control que permite fijar el potencial electroquímico del bioelectrodo sensor. Además, su presencia es necesaria para que la corriente eléctrica circule exclusivamente entre este electrodo y el bioelectrodo sensor. Por este motivo, este tercer electrodo se denomina contraelectrodo o electrodo auxiliar.



■ **Figura 1.** Esquema de biosensor electroquímico microbiano en el que se representan todos sus elementos. A) Sistema bioelectroquímico de detección. B) Sistema electrónico de control, adquisición y envío remoto de datos.

2.2. Sistema electrónico

La **Figura 1B** muestra el sistema electrónico responsable del control del potencial electroquímico del bioelectrodo sensor, de la adquisición de datos y de la transmisión de la señal para su monitorización en línea. La aplicación para la monitorización en línea exige una serie de requisitos específicos que el sistema electrónico debe cumplir. Estos requisitos son autonomía, capacidad de almacenamiento y transmisión de datos en entornos remotos. El desarrollo de este sistema electrónico de control de potencial, adquisición de datos y transmisión de la señal ha sido llevado a cabo en colaboración con la empresa Nanoelectra S. L. [27]. En base a las especificaciones de operación del sistema bioelectroquímico, Nanoelectra diseñó un potencióstato de bajo consumo y gran autonomía acoplado a un

sistema de medida y adquisición de datos, que también lleva a cabo los procesos de envío de la señal eléctrica para su monitorización en línea dentro de una aplicación accesible mediante un ordenador o dispositivo móvil. Todo este sistema electrónico está alimentado eléctricamente por baterías recargables a través de un panel solar externo.

La integración de ambos sistemas constituye el biosensor electroquímico microbiano que se desarrolla en este trabajo para su aplicación en la monitorización en línea de la calidad de los caudales de agua en plantas de tratamiento de aguas residuales. Este capítulo se centra, principalmente, en el desarrollo y validación del sistema bioelectroquímico y el establecimiento de las condiciones de operación adecuadas para su utilización.

3. MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

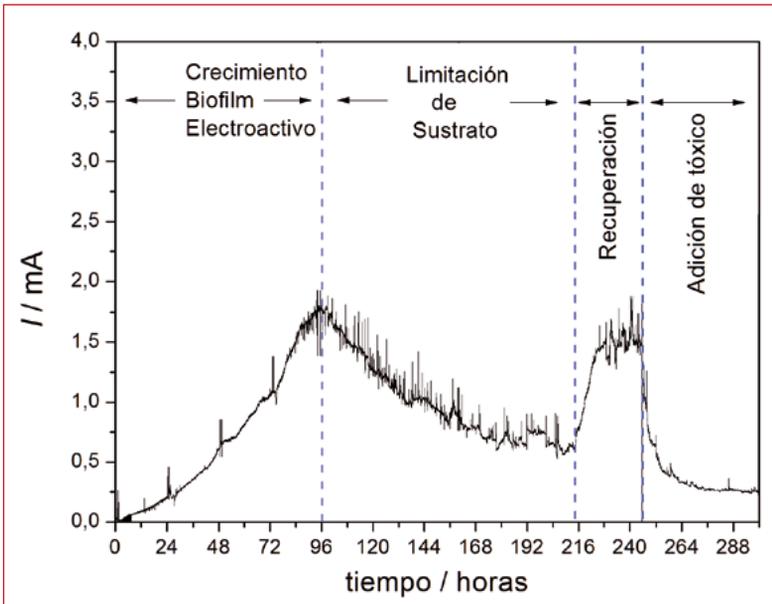
La aplicación de un biosensor electroquímico microbiano para la monitorización en tiempo real de plantas de tratamiento de aguas residuales exige un desarrollo en dos etapas. En un primer paso, se procede a la evaluación en escala de laboratorio y ambiente controlado, de las diferentes situaciones a considerar en el desarrollo del sistema bioelectroquímico. Estas situaciones comprenden las etapas de formación y crecimiento del biofilm electroactivo sobre el bioelectrodo sensor, así como la respuesta del sistema frente a los diferentes eventos que se pretenden identificar.

En una segunda etapa, se lleva a cabo la validación en una planta real de tratamiento de aguas residuales urbanas de una pequeña población. Para este caso se eligió la primera planta depuradora de aguas residuales basada en TEM en el mundo, que está ubicada en Otos, pedanía ubicada en el Parque Natural de Moratalla (Murcia) y propiedad de ESAMUR [28].

3.1. Ensayos a escala laboratorio

Los biosensores electroquímicos microbianos descritos en el apartado 2 se colocaron en la corriente de alimentación de un sistema de tratamiento de aguas residuales a escala laboratorio. Este sistema era alimentado con un agua residual sintética con un valor de DQO alrededor de $640 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Este valor de DQO se suministraba en forma de acetato.

El dispositivo de tratamiento de aguas residuales consistía en un biofiltro electroactivo, denominado METland®, operando en condiciones de anegación con alimentación horizontal y flujo subsuperficial [29,30]. El objetivo del biosensor es doble: como indicador de la calidad del agua, monitorizando la calidad del influente en el sistema de tratamiento para detectar posibles cambios en la carga orgánica de la corriente de alimentación que excedan la capacidad del sistema; y como dispositivo de alerta temprana frente a la presencia de sustancias tóxicas que puedan perjudicar o dañar el reactor biológico encargado del proceso de depuración de aguas residuales.



■ **Figura 2.** Evolución de la corriente eléctrica producida durante las diferentes etapas de funcionamiento de un biosensor electroquímico microbiano polarizado a $0,6 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl).

En la **Figura 2** se muestra la respuesta del sistema en términos de corriente eléctrica producida por el sistema bioelectroquímico en cada una de las diferentes etapas y situaciones en las que se puede encontrar a lo largo de su vida útil operativa.

La primera etapa corresponde al desarrollo y crecimiento del biofilm electroactivo sobre el bioelectrodo sensor. Esta situación, en principio, solamente tendrá lugar una vez, durante el crecimiento del biofilm electroactivo en el bioelectrodo sensor. El resto de las etapas son sucesos que pueden repetirse varias veces durante el período de funcionamiento del biosensor.

Una vez se alcanza un biofilm electroactivo estable, con un valor límite constante en producción de corriente eléctrica, se procede a simular los diferentes episodios relevantes para este estudio.

El primer suceso analizado es el correspondiente a modificaciones de la carga orgánica en el influente a tratar, un suceso muy frecuente en plantas de tratamiento de aguas residuales. La disminución del contenido en carga orgánica de la muestra de agua se llevó a cabo mediante una dilución progresiva con agua. La respuesta de la producción en corriente ante la continua disminución de materia orgánica presente en el medio se refleja en una curva con una pendiente de disminución continuada y suave de $13,8 \mu\text{A}\cdot\text{s}^{-1}$. Este tipo de respuesta indica una buena capacidad de detección y respuesta frente a la disminución del contenido en materia orgánica por parte del biosensor electroquímico microbiano.

La evaluación de la respuesta del sistema frente a un aumento en el contenido en carga orgánica, un suceso que se puede considerar como el opuesto al anteriormente estudiado, se llevó a cabo mediante la supresión inmediata de la corriente de dilución y el aporte directo del caudal con el contenido en materia orgánica original. El cambio se realiza de forma abrupta para intentar identificar posibles problemas hidráulicos en el diseño del sistema bioelectroquímico y que provoquen la existencia de zonas muertas o con tiempos de residencia hidráu-

lica elevados. La existencia de caminos preferenciales o zonas muertas en el sistema pueden producir un amortiguamiento en la señal eléctrica y el consiguiente retardo en la identificación de cambios en el medio que penalizarían su funcionalidad. La respuesta registrada en la región de la **Figura 2** etiquetada como “recuperación”, permite descartar cualquier problema asociado a estos factores.

El segundo caso relevante que puede tener lugar en las plantas de tratamiento de aguas residuales es la presencia de algún agente tóxico, tales como metales pesados o elevadas concentraciones de salmuera. La detección de la presencia de alguno de estos agentes tóxicos en el agua residual a tratar es una información importante y necesaria para evitar riesgos que pongan en peligro la viabilidad de los procesos biológicos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. El colapso por toxicidad del reactor biológico puede acarrear que la planta de tratamiento quede fuera de servicio por varias semanas, tiempo necesario para la recuperación de la actividad biológica después de uno de estos episodios tóxicos. La función de alerta temprana del biosensor en estos casos es clave para poder proteger a los reactores biológicos. El efecto de la presencia de un agente tóxico se ha simulado mediante la adición de NaCl en el caudal de alimentación, alcanzando una concentración de 20 g/L, valor análogo a los que se pueden encontrar en aguas residuales urbanas después de haberse mezclado con un vertido de salmuera. En la **Figura 2** se observa cómo el valor de la corriente eléctrica del sistema bioelectroquímico disminuye de forma abrupta y rápida ante la presencia de una elevada concentración de NaCl, a razón de $93,8 \mu\text{A}\cdot\text{s}^{-1}$. La corriente eléctrica alcanza valores muy bajos y de forma muy rápida, confirmando la ausencia de cualquier problema de flujo hidrodinámico en el diseño del sensor. El experimento también confirmó que, en el caso de exposiciones breves frente a tóxicos, los daños causados sobre la estructura del biofilm electroactivo no son irreversibles. Cuando el sistema bioelectroquímico vuelve a ser alimentado con un caudal de agua residual sintética libre de tóxico, solamente son necesarias unas pocas horas para que se recupere el nivel de producción de corriente previo al episodio de exposición al tóxico.

Es importante indicar que, no solamente el valor de la corriente eléctrica proporciona información sobre el evento que tiene lugar, la pendiente de la curva de corriente eléctrica frente al tiempo también es útil para la determinación de la naturaleza del episodio que tiene lugar. Los simulacros de episodios de toxicidad muestran cambios mucho más marcados y que se reflejan en el valor de la pendiente de la curva, frente a las respuestas que se observan en los episodios de modificaciones en la carga orgánica del agua monitorizada. Se debe tener en cuenta que la producción de corriente eléctrica es una medida en tiempo real de la actividad metabólica del biofilm electroactivo. Por tanto, esos cambios en el valor de la pendiente de la curva de corriente eléctrica frente al tiempo también será una información para incluir en el análisis que se hace de la respuesta del sistema.

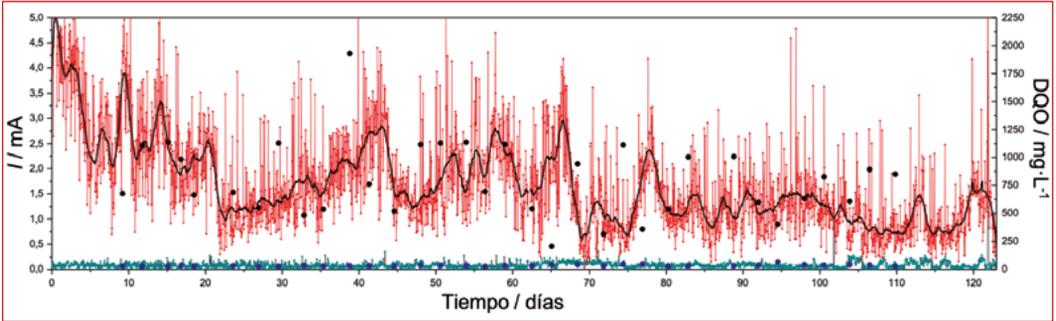
Los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio con agua residual sintética permiten comenzar la segunda etapa de evaluación del funcionamiento del sistema bioelectroquímico en condiciones de agua residual real.

3.2. Ensayos a escala real

Los ensayos a escala real consistieron en la implantación de dos biosensores electroquímicos microbianos en una planta de tratamiento de aguas residuales de una pequeña población. El primer biosensor se utilizó para monitorizar la calidad del agua a tratar en el influente previo a los reactores biológicos, y el segundo biosensor se ubicó en la corriente de salida de la planta para monitorizar la calidad del efluente vertido. Además, se correlacionó la corriente eléctrica producida por cada biosensor con el correspondiente valor de DQO en el caudal de agua que fluía por la ubicación de cada biosensor.

Estos datos de corriente eléctrica y valores de DQO se reflejan en la **Figura 3**. También se incluye un ajuste polinómico de los datos de corriente eléctrica del biosensor de entrada para atenuar el ruido generado por el flujo turbulento de agua a través de dicho biosensor. Este biosensor se encuentra ubicado en una arqueta de reparto donde el agua de entrada genera

turbulencias sobre la posición del biosensor, provocando ruido en la medida de corriente eléctrica.

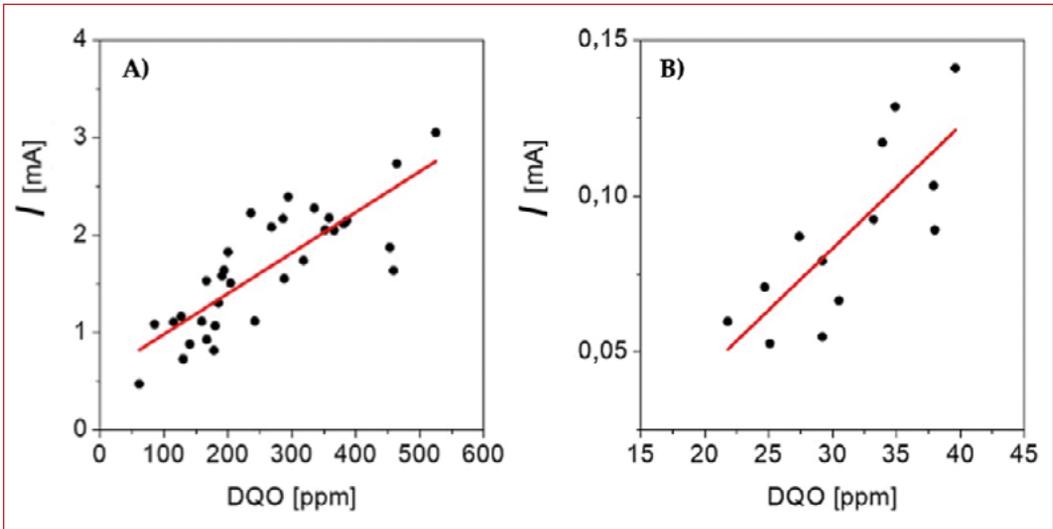


■ **Figura 3.** Corriente eléctrica producida por los biosensores electroquímicos microbianos (0,6 V vs. Ag/AgCl) colocados en el caudal de alimentación previo a los reactores biológicos (—●—) y en el de salida de la planta de agua residual (—●—), y valores de DQO medidos en el caudal de alimentación (●) y en la salida de la planta (●). Se incluye un ajuste polinómico de la corriente eléctrica producida en el biosensor colocado en el caudal de entrada (—).

Como se observa en la **Figura 3**, la corriente eléctrica producida por el biosensor colocado en el punto previo a la alimentación de los reactores biológicos es significativamente más elevada que el valor análogo registrado en el caudal de salida de la planta. Concretamente, un orden de magnitud mayor, pasando de valores con picos entre 3,0 y 4,0 mA en la entrada hasta valores alrededor de 0,1 mA. Esta diferencia proporciona un valor cuantificable de un parámetro genérico como es la calidad del agua, y específicamente del contenido en materia orgánica biodegradable antes y después del tratamiento en la planta. Cuando los valores de DQO en los caudales de agua se traducen en valores de corriente eléctrica, se observa claramente que el tratamiento biológico de la planta es capaz de disminuir el contenido en DQO. Los valores de DQO en la entrada del tratamiento secundario suelen oscilar entre 650 y 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que los valores de salida no superan valores de 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, por debajo de la cifra que la legislación marca como límite para el vertido (125 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) [31]. La forma de pico y valle de ambas curvas se observan superpuestas y, además, la curva de corriente tiene la ventaja de proporcionar una imagen completa del comportamiento durante las 24 horas de funcionamiento.

Los datos de los valores de corriente eléctrica registrados en cada uno de los biosensores presentan la misma tendencia y

comportamiento que los cambios en valor de DQO en el agua monitorizada, y permiten, por tanto, establecer una correlación clara y directa entre ambas medidas. Esta correlación se muestra en la **Figura 4** para los biosensores colocados en el influente de los reactores biológicos y el efluente de la planta.



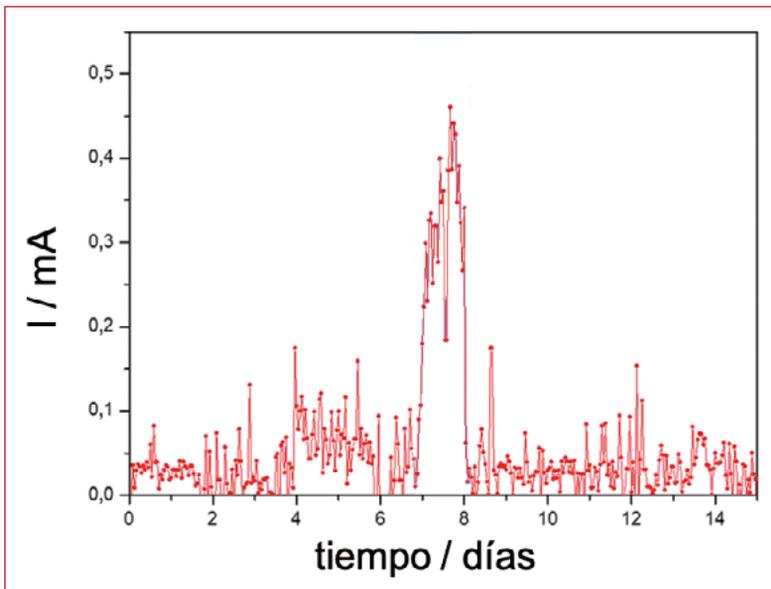
■ **Figura 4.** Ajuste lineal (—) de la relación entre la corriente eléctrica producida por los biosensores electroquímicos microbianos y el valor de DQO (·) determinado en los caudales de entrada (A) y de salida (B) del tratamiento biológico de la planta de tratamiento de aguas residuales.

Estos resultados muestran una dependencia lineal entre la corriente eléctrica producida por la actividad metabólica de los microorganismos del biosensor y el contenido en DQO del agua monitorizada. Estos resultados deben relativizarse, pues no se pueden considerar como referencias absolutas para cualquier agua monitorizada con este tipo de sensores. En cada aplicación concreta y con un agua de composición determinada, se deberá llevar a cabo un proceso de calibración que permita establecer la relación lineal existente en cada caso.

Por otro lado, el bajo nivel de corriente eléctrica registrado por el biosensor ubicado en el efluente de salida (línea verde en la **Figura 3**) podría deberse a una peor detección de cambios en la concentración de materia orgánica biodegradable por parte del sistema. El efluente de la planta presenta un contenido en

materia orgánica biodegradable muy bajo y una limitación de nutrientes muy acusada, ambos elementos necesarios para el mantenimiento vital de los microorganismos que integran el biofilm electroactivo. Es importante determinar si, en estas condiciones, este biosensor conserva intactas su capacidad de detección y respuesta, ya que la estabilidad y robustez de estos dispositivos se pone a prueba en unas condiciones reales extremas que no se han ensayado en el laboratorio por períodos tan largos.

En la **Figura 5**, se muestran los valores de corriente eléctrica registrados durante un período de dos semanas. En ese período, se realizó un episodio de limpieza de las arquetas situadas a continuación de los reactores biológicos, causando un aumento de la carga contaminante del agua de salida. Esta diferencia en la calidad del efluente de salida de la planta fue detectada por el biosensor electroquímico microbiano colocado en dicho punto. Los valores de corriente eléctrica registrados esos días, aún se corresponden con valores de los parámetros de calidad de agua dentro de los límites de vertido [31].



■ **Figura 5.** Registro de la corriente eléctrica producida por un biosensor electroquímico microbiano colocado en el caudal de salida de la planta de tratamiento de aguas residuales.

Además, como prueba final, se procedió a trasladar el biosensor del efluente a la ubicación del influente. Una vez reubicado, en cuestión de unos segundos, el biosensor alcanzó valores de corriente eléctrica dentro del mismo rango que los registrados por el biosensor que habitualmente monitorizaba el influente.

Todos estos resultados son evidencias de la robustez, sensibilidad y viabilidad de los biosensores electroquímicos microbianos como herramienta para la monitorización en línea de los caudales de agua dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

4. CONCLUSIONES

Estos resultados permiten validar los biosensores electroquímicos microbianos como una herramienta útil y novedosa para la monitorización de la calidad del agua en tiempo real en plantas de tratamiento de aguas residuales. La monitorización en línea y tiempo real es un valor añadido de la utilización de estos sistemas frente a la metodología convencional.

Los resultados obtenidos a escala de laboratorio, con agua residual sintética de composición conocida, han podido ser corroborados en un ambiente real, con un agua residual mucho más compleja en la composición química, así como en el contenido en carbono orgánico. En esta situación, la corriente eléctrica producida por los biosensores electroquímicos microbianos sigue siendo una medida válida de la calidad del agua en tiempo real.

El contenido en materia orgánica del influente en plantas de tratamiento de aguas residuales suele estar sujeto a modificaciones estacionales, períodos de verano o invierno, actividades puntuales o episodios meteorológicos repentinos que pueden aumentar o disminuir el contenido en materia orgánica del agua a tratar. La capacidad de detección de diferentes niveles de carga orgánica en las corrientes tiene una aplicación rápida y directa en la evaluación de la efectividad de los tratamientos biológicos mediante la monitorización y comparación de la co-

riente producida por dos biosensores electroquímicos microbianos colocados a la entrada y la salida del tratamiento.

Además, los parámetros de operación de los distintos equipos que componen la línea de tratamiento de aguas en dichas plantas dependen en gran medida de este valor de contenido en materia orgánica, y su desconocimiento impide un funcionamiento óptimo al tener que operar en condiciones sobredimensionadas. La información proporcionada por los biosensores electroquímicos microbianos en tiempo real sobre el contenido en materia orgánica es susceptible de ser incorporada a los lazos de control de las plantas de tratamiento, y permitir ajustar las condiciones de operación de los distintos equipos según el contenido en carga orgánica para cada instante.

Por último, los biosensores electroquímicos microbianos también pueden desempeñar el doble papel de elementos de alerta temprana frente a la presencia de agentes tóxicos, ya que los microorganismos que integran estos dispositivos también ven afectada su actividad metabólica por dichas sustancias. De este modo, los cambios bruscos y abruptos en la corriente eléctrica sirven de aviso ante la presencia de agentes tóxicos.

5. REFERENCIAS

1. Santoro, C.; Arbizzani, C.; Erable, B. y Ieropoulos, Y. Microbial Fuel Cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*. 2017, 356, 225-244.
2. Modin, O. y Aulenta, F. Three promising applications of microbial electrochemistry for the water sector. *Environmental Science: Water Research & Technology*. 2017, 3 (3), 391-402.
3. Ramírez-Vargas, C. A.; Prado, A.; Arias, C.; Carvalho, P.; Esteve-Núñez, A. y Brix, H. Microbial electrochemical technologies for wastewater treatment: Principles and evolution from microbial fuel cells to bioelectrochemical-based constructed wetlands. *Water*. 2018, 10 (9), 1128.
4. Chu, N.; Liang, Q. y Zeng, R. J. Microbial electrochemical platform for the production of renewable fuels and chemicals. *Biosensors and Bioelectronics*. 2020, 150, 111922.
5. Yang, E.; Chae, K.-J.; Choi, M.-J.; He, Z. y Kim, I. S. Critical review of bioelectrochemical systems integrated with membrane-based technologies for desalination, energy self-sufficiency, and high-efficiency water and wastewater treatment. *Desalination*. 2019, 452, 40-67.

6. Bond, D. R. y Lovley, D. R. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*. 2003, 69 (3), 1548-55.
7. Busalmen, J. P.; Esteve-Núñez, A.; Berná, A. y Feliu, J. M. C-Type cytochromes wire electricity-producing bacteria to electrodes. *Angewandte Chemie International Edition*. 2008, 47, 4874-4877.
8. Busalmen, J. P.; Esteve-Núñez, A.; Berná, A. y Feliu, J. M. ATR-SEIRAS characterization of surface redox processes in *G. sulfurreducens*. *Bioelectrochemistry*. 2010, 78, 25-29.
9. Esteve-Núñez, A.; Busalmen, J. P.; Berná, A.; Gutiérrez-Garrán, C. y Feliu, J. M. Opportunities behind the unusual ability of *Geobacter sulfurreducens* for exocellular respiration and electricity production. *Energy and Environmental Science*. 2011, 4, 2066-2069.
10. Kuzume, A.; Zhumaev, U.; Jianfeng, F.; Fueg, M.; Estevez, M.; Borjas, Z.; Wandlowski, Th. y Esteve-Núñez, A. An in situ surface electrochemistry approach towards whole-cell studies: The structure and reactivity of a *Geobacter sulfurreducens* submonolayer on electrified metal/electrolyte interfaces. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2014, 16, 22229-22236.
11. Liu, Y.; Berná, A.; Climent, V. y Feliu, J. M. Real-time monitoring of electrochemically active biofilm developing behavior on bioanode by using EQCM and ATR/FTIR. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2015, 209, 781-789.
12. Fueg, M.; Borjas, Z.; Estevez-Canales, M.; Esteve-Núñez, A.; Pobelov, I.; Broekmann, P. y Kuzume, A. Interfacial electron transfer between *Geobacter sulfurreducens* and gold electrodes via carboxylate-alkanethiol linkers: Effects of the linker length. *Bioelectrochemistry*. 2019, 126, 130-136.
13. Yang, H. J.; Zhou, M. H.; Liu, M. M.; Yang, W. L. y Gu, T. Y. Microbial fuel cells for biosensor applications. *Biotechnology Letters*. 2015, 37, 2357-2364.
14. PrévotEAU, A. y Rabaey, K. Electroactive biofilms for sensing: Reflections and perspectives. *ACS Sensors*. 2017, 2 (8), 1072-1085.
15. Chae, K. J.; Choi, M. J.; Lee, J. W.; Kim, K. Y. y Kim, I. S. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacteria viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 2009, 100, 3518-3525.
16. Estevez-Canales, M.; Berná, A.; Borjas, Z. y Esteve-Núñez, A. Screen-Printed electrodes: New tools for developing microbial electrochemistry at microscale level. *Energies*. 2015, 8, 13211-13221.
17. Sun, H.; Zhang, Y.; Wu, S.; Dong, R. y Angelidakí, I. Innovative operation of microbial fuel cell-based biosensor for selective monitoring of acetate during anaerobic digestion. *Science of the Total Environment*. 2019, 655, 1439-1447.
18. Kaur, K.; Kim, J. R.; Michie, I.; Dinsdale, R.; Guwy, A. J. y Premier, G. C. Microbial fuel cell type biosensor for specific volatile fatty acids using acclimated bacterial communities. *Biosensors and Bioelectronics*. 2013, 47, 50-55.
19. Kretzschmar, J.; Koch, C.; Liebetrau, J.; Mertig, M. y Harnisch, F. Electroactive biofilms as sensor for volatile fatty acids: Cross sensitivity,

response dynamics, latency and stability. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2017, 241, 466-472.

20. Modin, O. y Wilen, B. M. A novel bioelectrochemical BOD sensor operating with voltage input. *Water Resources*. 2012, 46, 6113-6120.
21. Abrevaya, X. C.; Sacco, N. J.; Bonetto, M. C.; Hilding-Ohlsson, A. y Corton, E. Analytical applications of microbial fuel cells. Part I: Biochemical oxygen demand. *Biosensors & Bioelectronics*. 2015, 63, 580-590.
22. Davila, D.; Esquivel, J. P.; Sabate, N. y Mas, J. Silicon-based microfabricated microbial fuel cell toxicity sensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2011, 26, 2426-2430.
23. Abrevaya, X. C.; Sacco, N. J.; Bonetto, M. C.; Hilding-Ohlsson, A. y Corton, E. Analytical applications of microbial fuel cells. Part II: Toxicity, microbial activity and quantification, single analyte detection and other uses. *Biosensors & Bioelectronics*. 2015, 63, 591-601.
24. Yu, D. B.; Bai, L.; Zhai, J. F.; Wang, Y. Z. y Dong, S. J. Toxicity detection in water containing heavy metal ions with a self-powered microbial fuel cell-based biosensor. *Talanta*. 2017, 168, 210-216
25. Chouler, J.; Cruz-Izquierdo, Á.; Rengaraj, S.; Scott, J. L. y Di Lorenzo, M. A. A screen-printed paper microbial fuel cell biosensor for detection of toxic compounds in water. *Biosensors and Bioelectronics*. 2018, 102, 49-56.
26. Bard, A. J. y Faulkner, L. R. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. Segunda edición. Nueva York, JohnWiley & Sons, Inc., 2001.
27. <http://nanoelectra.com>
28. <https://www.esamur.com/>
29. <http://metfilter.com>
30. Aguirre-Sierra, A.; Bacchetti-De Gregoris, T.; Berná, A.; Salas, J. J.; Aragón, C. y Esteve-Núñez, A. Microbial electrochemical systems outperform fixed-bed biofilters in cleaning up urban wastewater. *Environmental Science: Water Research & Technology*. 2016, 2(6), 984-993.
31. 1) Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. 2) Real Decreto Ley 11/1995, de 28 de diciembre, transposición al ordenamiento jurídico español de la Directiva 91/271/CEE.