

Electric current generation through the *Wickerhamomyces anomalus* yeast

Generación de corriente eléctrica a través de la Levadura *Wickerhamomyces anomalus*

Rojas-Flores S.^{1*}, De La Cruz –Noriega M.¹, R. Nazario-Naveda¹, Santiago M. Benites¹, D. Delfín-Narciso², Juan Vives-Garnique³

¹Vicerrectorado de Investigación, Universidad Autónoma del Perú, Lima 15842, Peru; segundo.rojas.89@gmail.com; scored731@gmail.com;

²Grupo de Investigación en Ciencias Aplicadas y Nuevas Tecnologías, Universidad Privada del Norte, Trujillo, 13007, Perú.; daniel.delfin@upn.edu.pe

³Escuela Profesional de Ingeniería Mecánica Eléctrica, Universidad Señor de Sipán; jvives@crece.uss.edu.pe

Abstract– Recently, there has been great interest in microbial fuel cells and the different substrates used within them for the generation of electrical energy. Due to this, the yeast *Wickerhamomyces anomalus* has been used as a new source of electricity generation, this substrate was molecularly identified with a percentage of 99.82% identity. With which it was possible to generate a maximum current and voltage on the ninth and eighth day of 2.6678 ± 0.0981 mA and 0.823 ± 0.125 V, all this an electrical conductivity of the substrate of 49.37 ± 1.12 mS/cm on the ninth day and a pH of operation of 6.32 ± 0.421 in those days. In the same sense, a maximum power density of 8.176 ± 0.855 W/cm² was shown for a current density of 362.057 mA/cm². These values demonstrate the great potential that this yeast has for the generation of electric current and its new use as fuel in microbial fuel cells; being an eco-friendly alternative for the environment.

Keywords– electric current, yeast, microbial fuel cells, generation, *Wickerhamomyces anomalus*.

Resumen- Recientemente se ha presentado gran interés por las celdas de combustible microbiana y los diferentes sustratos utilizados dentro de ella para la generación de energía eléctrica. Debido a esto, se ha utilizado a la levadura *Wickerhamomyces anomalus* como nueva fuente de generación de electricidad, este sustrato fue identificada molecularmente con un porcentaje de 99.82.% de identidad. Con lo cual se logró generar una corriente y voltaje máximo en el novena y octavo día de 2.6678 ± 0.0981 mA y 0.823 ± 0.125 V, todo esto una conductividad eléctrica del sustrato de 49.37 ± 1.12 mS/cm en el novena día y un pH de operación de 6.32 ± 0.421 en esos días. En el mismo sentido se mostró una densidad de potencia máxima de 8.176 ± 0.855 W/cm² para una densidad de corriente de 362.057 mA/cm². Estos valores demuestran el gran potencial que tiene esta levadura para la generación de corriente eléctrica y su nuevo uso como combustible en celdas de combustible microbiana; siendo una alternativa ecoamigable para el medio ambiente.

Palabras claves—corriente eléctrica, levadura, celdas de combustible microbiana, generación, *Wickerhamomyces anomalus*.

Digital Object Identifier (DOI):

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2022.1.1.506>

ISBN: 978-628-95207-0-5 **ISSN:** 2414-6390

I. INTRODUCCION

La demanda exponencial de energía generada debido a la expansión demográfica y a la industrialización han conllevado a un consumo excesivo de combustibles fósiles, ello ha generado problemas medioambientales graves como el calentamiento global, debido al aumento de los gases causantes del efecto invernadero [1]. En tal sentido se han investigado diversas alternativas, siendo una posible fuente de energía limpia el uso de celdas de combustible microbianas (CCM), sistemas bioelectroquímicos que generan energía eléctrica a partir de la interacción de los microorganismos que se encargan de descomponer la materia orgánica presente en los sustratos, generando electrones los cuales producen electricidad y a su vez agua y dióxido de carbono por lo cual poseen también la capacidad de tratar aguas residuales, por todo ello estos sistemas presentan doble utilidad [2].

Las CCMs contienen una serie de componentes que cumplen funciones específicas para su correcto funcionamiento, entre ellas se encuentra el compartimento anódico, el cual alberga el ánodo y el sustrato que es sometido a un tratamiento por parte de los microorganismos, generando electrones que viajan al compartimento catódico, siendo este último el cual alberga el cátodo, el sistema de catalizador catódico y el oxidante, asimismo las CCM cuentan con otros componentes como por ejemplo los catalizadores anódicos, los catalizadores catódicos, los electrolitos, los combustibles, los microorganismos y el sistema de transporte de electrones [1]. Dentro de este contexto cabe mencionar que las CCM presentan diversas configuraciones entre las más conocidas se encuentran las CCM de cámara simple, las CCM de doble cámara y las CCM cilindro [3].

El funcionamiento y rendimiento de estos sistemas es influenciado por una serie de factores entre ellos el sustrato, ya que este ayuda a establecer una comunidad microbiana

diversa, es así que a lo largo de los años se han utilizado diversos sustratos desde los más simples a más complejos como el acetato, la glucosa, la biomasa residual y las aguas residuales domésticas e industriales [4] [1]. Asimismo, los microorganismos juegan un papel muy importante dentro de las CCM, puesto que poseen el potencial de transferir electrones derivados del metabolismo de la materia orgánica [5]; cabe mencionar que dentro de estos sistemas se pueden utilizar diversos microorganismos como las bacterias, entre las cuales destacan la bacteria *Geobacter sulfurreducens*, *Enterobacter sp.*, *Shewanella oneidensis*, *Pseudomonas mendocina* y *Proteus vulgaris* [6].

Del mismo modo también se pueden utilizar levaduras como la *Candida melibiosica*, *Hansenula anomala*, *Saccharomyces cerevisiae*, entre otras, siendo estos microorganismos utilizados como biocatalizadores, cabe mencionar que las levaduras crecen en una gran variedad de sustratos, toleran diversas condiciones ambientales y no son patógenas por lo cual presentan diversas ventajas [7]. Por otra parte, existen otras levaduras no convencionales como la especie *Wickerhamomyces anomalus*, la cual es heterotálico, posee células diploides que se convierten directamente en ascos y forman de una a cuatro ascosporas en forma de sombrero. Esta especie se encuentra muy extendida en la naturaleza, habitualmente se suele encontrar en el suelo, en el material vegetal como las hojas de las plantas y como patógeno oportunista de humanos y animales. En cuanto a sus aplicaciones se suele utilizar en la agricultura, la industria alimentaria [8] y en la industria cervecera en la coinoculación y como bio-saborizante en la cerveza [9].

Diversas investigaciones han mostrado el uso de la levadura *Wickerhamomyces Anomalus*, en tal sentido Joshi et al., investigo el aumento de la producción de etanol en una celda electroquímica mediante *Wickerhamomyces anomalus* y *Saccharomyces cerevisiae*, se realizaron dos cultivos de control con estas bacterias en la cámara anódica y la cámara catódica, utilizando como sustrato glucosa, siendo el aumento de la producción de etanol de $12,6 \pm 0,42$ y $10,1 \pm 0,17$ mg-mL⁻¹ respectivamente. Asimismo, se realizó un cultivo de estas dos cepas de levadura en ambos compartimentos del electrodo utilizando hidrolizado de biomasa lignocelulósica dando como resultado la mejora de la producción de etanol en un $61,5 \pm 0,12\%$ en comparación con la glucosa. Concluyendo que las cepas de las dos levaduras son eficientes en la producción de etanol [10].

Otro estudio realizado por Prasad et al., evaluó la transferencia directa de electrones exhibida por las células de la levadura *P. anómala*, para ello utilizaron tres materiales de ánodo siendo estos el grafito, la co-mixtura de polianilina-Pt envuelta con grafito y el fieltro de grafito en las CCM sin mediador y utilizando el hongo *P. anómala* como catalizador biológico. Se realizó el análisis de las enzimas redox presentes

en la membrana externa de los microorganismos mediante la técnica electroquímica de voltametría cíclica demostrando que estos hongos son capaces de comunicarse directamente con la superficie del electrodo y contribuir a la generación de corriente en una CCM sin mediadores ya que este hongo es capaz de incrustarse sobre los electrodos de grafito para trabajar en las CCM [11].

En tal sentido el objetivo de la presente investigación es evaluar la generación de electricidad, utilizando como sustrato a la levadura *Wickerhamomyces anomalus* en medio mínimo de sales, en celdas de combustible microbiana de una sola cámara fabricadas a bajo costo a escala de laboratorio, utilizando electrodos zinc y cobre, monitoreando su valores de voltaje, corriente, conductividad, pH, densidad de corriente y potencia durante 15 días. De esta forma se dará una nueva forma de generación de corriente eléctrica utilizando este tipo de levadura.

II. METODO Y MATERIALES

A. Fabricación de las celdas de combustible microbiana

Las celdas de combustible microbiana de una sola cámara fueron fabricadas, tres en total, con recipientes de polietileno, a las cuales se le realizó un orificio de 10 cm² a un extremo de forma cuadrada de aproximadamente 144 cm² para colocar electrodo catódico (Cobre, Cu). El electrodo anódico (Zinc, Zn) fue colocado en el interior de la celda y ambos electrodos fueron unidos por un circuito externo con una resistencia interna de 100 Ω.

B. Aislamiento de levadura

Se sembró una alícuota de muestra de jugo papaya fermentado por la técnica de agostamiento por estría, incubándose a 30 °C por 48 horas. Trascorrido el tiempo se observó colonias aisladas posteriormente se realizó una coloración Gram para verificar la pureza de la cepa [12].

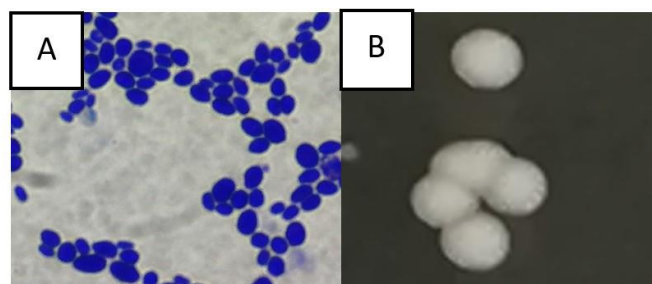


Fig. 1: a) Microscopía de *Wickerhamomyces anomalus* mediante coloración Gram (100 X) y b) Vista macroscópica de colonias de *W. anomalus* en Agar Sabouraud usando un fondo oscuro.

Las características microscópicas células redondeadas ovaladas en proceso de gemación (ver Fig. 1 (a)), macroscópicas colonias cremas, forma circular, margen entero y elevación elevada. (ver Fig. 1 (b)) [13]. Para luego resembrarla en tubos inclinados con Agar Sabouraud Dextrosa para su posterior identificación.

Para la identificación molecular, se envió muestras de la levadura aislada en medio inclinado Agar Sabouraud al Centro de Análisis e Investigación del laboratorio “Biodes Laboratorios”. La identificación molecular consistió en la extracción de material genético y amplificación mediante PCR, donde se utilizó los primers ITS1F e ITS4[14,15]. Luego de ello se procedió a la secuenciación para su posterior análisis en el programa BLAST y MEGA X. [16]. Las regiones secuenciadas y analizadas en el programa BLAST obtuvo un porcentaje de identidad del 99.82% la cual corresponde a la especie *W. anomalus* (Tabla 1).

TABLA 01: Caracterización BLAST de la secuencia del ADNr de la levadura aislada de la placa del ánodo de la CCM.

BLAST Characterization	Length of Consensus Sequence (nt)	% Maximum Identidad	Accession Number	Phylogeny
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	545	99.82	KJ527063.1	Cellular organisms; Eukaryota; Opisthokonta; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Saccharomyceta; Saccharomycotina; Saccharomycetes; Saccharomycetales; Phaffomycetaceae; Wickerhamomyces

C. Obtención del inóculo usado como sustrato en las celdas de microbustible microbiana

Con la finalidad de preparar el inóculo de la levadura, se realizó una suspensión en 20 ml de solución salina fisiológica estéril de 0.85% a partir de un cultivo de 24 horas de *W. anomalus*. Esta suspensión fue ajustada con el tubo N° 3 de Mc Farland (9 x 10⁸ UFC/ml) y se agregó en 80 ml de Medio Mínimo Mineral tamponado con buffer de fosfatos. El medio tenía la siguiente composición (g/L): CaCl₂, 0.01; KH₂PO₄, 3; NH₄Cl, 1; Na₂HPO₄, 6; NaCl, 0.5; MgSO₄·7H₂O, 0.246. Posteriormente se homogenizo y se repartió equitativamente en las CCMs. Todo el proceso se llevó a cabo a temperatura ambiental (20 ± 2°C). Se realizó por triplicado [17].

D. Caracterización de las celdas de combustible microbiana

La caracterización diaria de corriente y voltaje se realizaron mediante un multímetro, marca Prasek Premium PR-85, y una resistencia externa de 100 Ω. Por otro lado, los valores de densidad de corriente (DC) y densidad de potencia (DP) fueron realizados mediante resistencias externas 10 ± 0.2, 40 ± 2.3, 50 ± 2.7, 100 ± 3.2, 300 ± 6.2, 390 ± 7.2, 560 ± 10, 680 ± 12.3, 820 ± 14.5, 1000 ± 20.5 Ω; mediante la fórmula DC=I/A y DP=IV/A [18], donde I es la corriente con diferentes resistencias externas, V es el voltaje de las celdas a circuito abierto y A el área (144 ± 5.2 cm²). El monitoreo de los cambios de la conductividad (conductivity meter CD-4301) y el pH (pH- meter 110 Series Oakton) también fueron medidas

III. RESULTADOS Y ANALISIS

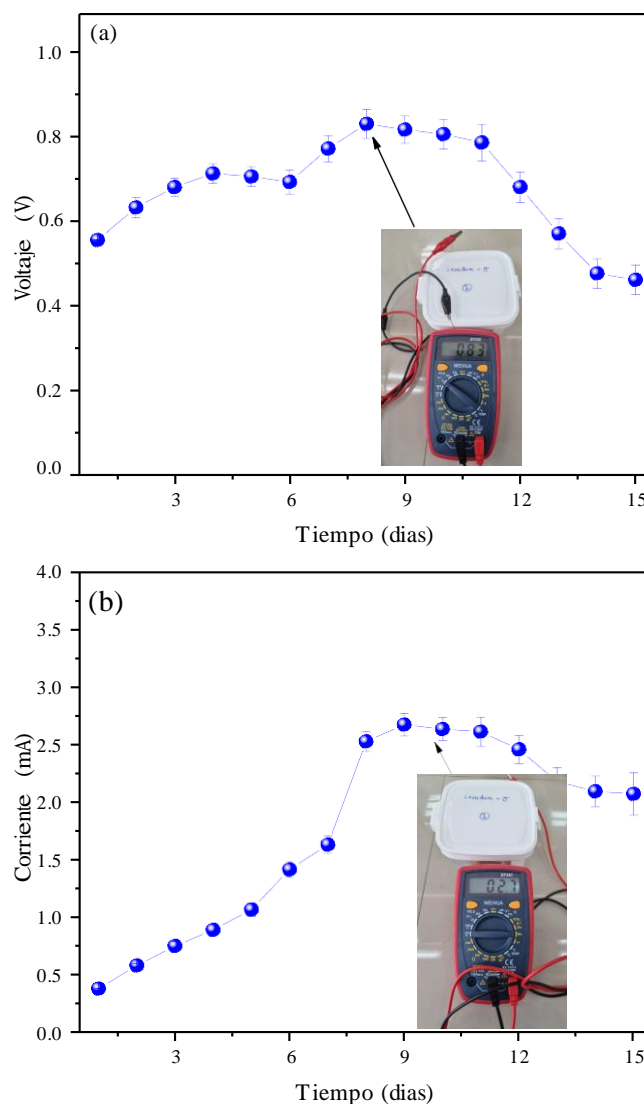


Fig. 02: Valores de (a) voltaje y (b) corriente de las celdas de combustible microbiana.

En la Fig. 02 (a) se muestran los valores de voltaje monitoreados durante los quince días de operación. Se observa que desde el primer día de operación los valores aumentaron desde 0.562 ± 0.02 V hasta su pico máximo de 0.823 ± 0.125 V en el octavo día, para después descender lentamente hasta el último día (0.459 ± 0.265 V). Mientras que en la Fig. 02 (b) muestra los valores de la corriente eléctrica generados por celdas de combustible microbianda durante el monitoreo, como se puede observar los valores incrementan desde el primer día (0.38257 ± 0.009 mA) hasta el noveno día (2.6678 ± 0.0981 mA), donde fue su valor máximo, para después descender lentamente hasta el último día (2.06791 ± 0.1844 mA) de monitoreo. Los altos valores mostrados se deben al alto contenido de compuestos orgánicos e inorgánicos como sustrato [19], así como también al enriquecimiento con microbio electroactivo en el ánodo y a las transferencias de electrones o a la autorregulación de las vías extracelulares de transferencia de electrones [20-22]. El descenso de los valores de voltaje y corriente en los últimos días se debería a la difusión de oxígeno del cátodo al ánodo debido a la falta de una membrana entre ellos [23].

En la Fig. 03 (a) se observa los valores de pH monitoreados durante el periodo de operación de las celdas de combustible microbiana, los cuales aumentan desde ligeramente ácidos hasta ligeramente alcalino, donde el pH óptimo de operación se encontró para un pH de 6.32 ± 0.421 en el octavo día. El aumento del pH se debe a la transferencia de protones del ánodo al cátodo y al aumento de las reacciones catódicas [24], aunque un pH neutro es el óptimo para la generación de electricidad en las CCMs [25]; debido a esto se debe considerar en investigaciones futuras algún mecanismo para la autoregularización de las celdas de combustible microbiano a pH neutro. En la Fig. 03 (b) se muestra los valores de la conductividad eléctrica del sustrato (levadura *Wickerhamomyces anomalus*), los cuales aumentan desde el primer día (31.35 ± 0.001 mS/cm) hasta el noveno día (49.37 ± 1.12 mS/cm) para luego decaer hasta el último día (43.33 ± 1.11 mS/cm). Los aumentos de los valores de conductividad ayudan a la generación de electricidad debido a la relación entre conductividad y resistencia en las cámaras anódicas; a mayor conductividad menor resistencia iónica de la solución [26]. Lo que nos lleva a deducir que en los 8 días se han producidos sales inorgánicas, manteniendo la conductividad iónica para lograr el equilibrio de neutralidad del sistema, debido a que una baja conductividad iónica limita la transferencia de cationes del ánodo al cátodo y retrasa el equilibrio de electro-neutralidad del fotobiorreactor [27-28].

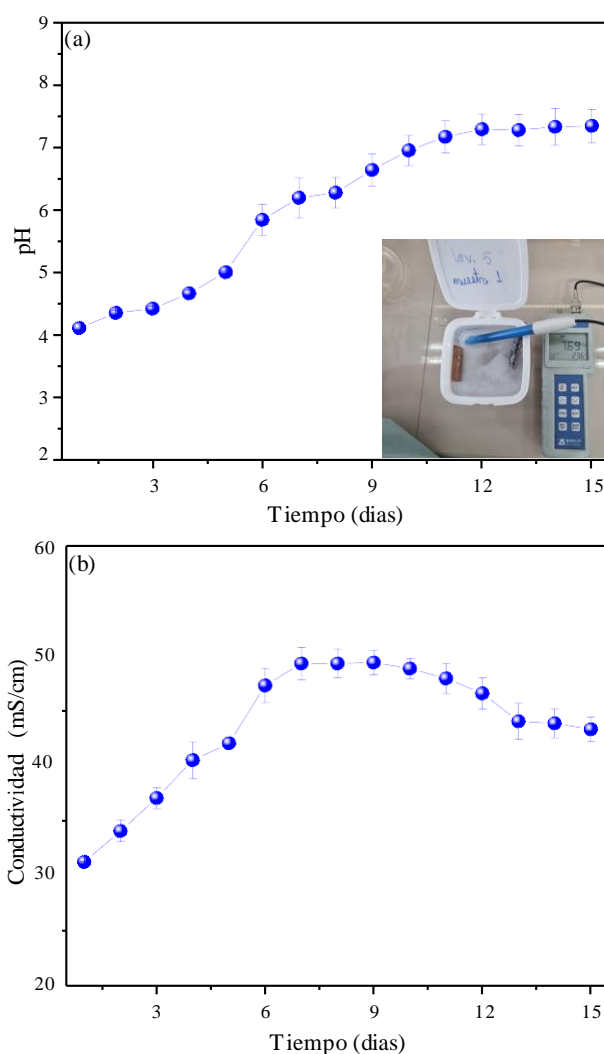


Fig. 03: Monitoreo de los valores de (a) pH y (b) conductividad de las celdas de combustible microbiana.

En la Fig. 04 se muestra los valores de la densidad de potencia (DP) y voltaje en función de la densidad de corriente (DC) de las celdas de combustible microbiana, donde se observa que la DP_{MAX} es de 8.176 ± 0.855 W/cm² en una DC de 362.057 mA/cm² con un voltaje máximo de 0.819 ± 0.0254 V. Aunque el trabajo realizado por Ndayisenga et al. (2018) nos dice que las biomazas de los diferentes sustratos utilizados contienen macromoléculas que demandan de más energía para su degradación, en comparación con los compuestos solubles simples, el metabolismo y degradación de las levaduras aumentan su concentración de sustrato lo que conllevaría a la mayor generación de electricidad [29,30].

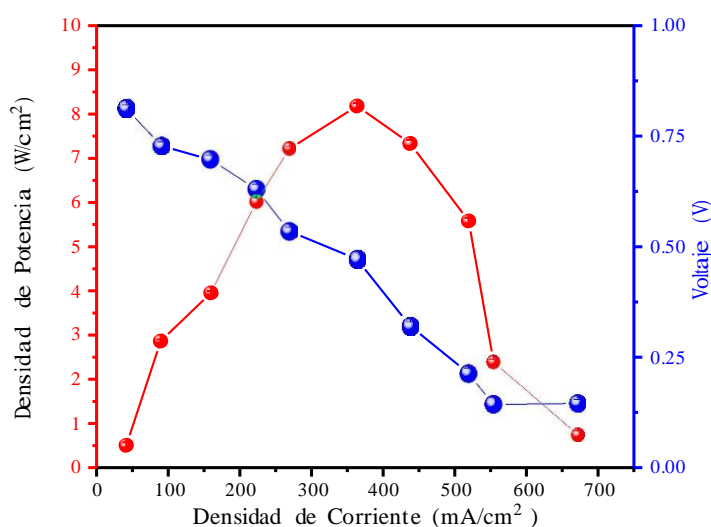


Fig. 04: Valores de densidad de potencia, densidad de corriente y voltaje.

IV. CONCLUSIONES

Se logro generar corriente electrica exitosamente mediante celdas de combustible microbiana de bajo costo a escala de laboratorio utilizando como sustrato (combustible) la levadura *Wickerhamomyces anomalus* identificada molecularmente. Se genero un voltaje y corriente maxima de 0.823 ± 0.125 V y 2.6678 ± 0.0981 mA en el octavo dia y novena dia, respectivamente; con un pH optimo de 6.32 ± 0.421 para el octavo dia y una conductividad electrica maxima del sustrato de 49.37 ± 1.12 mS/cm en el noveno dia. Asi Tambien se observe una densidad de potencia maxima de 8.176 ± 0.855 W/cm² para una densidad de corriente de 362.057 mA/cm² con un voltaje maximo de 0.819 ± 0.0254 V. Estos resultados confirman las excelentes propiedades electricas para usar de la levadura *Wickerhamomyces anomalus* como combustible para la generación de electricidad, aunque esta investigación es una primera utilizacion de este tipo de levadura, se recomienda para trabajos posteriores el uso de membranas de intercambio protonico para el aumento de los valores de densidad de potencia.

REFERENCES

[1] Scheffran, J., Felkers, M., & Froese, R. (2020). Economic Growth and the Global Energy Demand. *Green Energy to Sustainability*, 1–44. <https://doi.org/10.1002/9781119152057.ch1>

[2] Dutta, K., & Kundu, P. P. (2018). Introduction to Microbial Fuel Cells. *Progress and Recent Trends in Microbial Fuel Cells*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64017-8.00001-4>

[3] Song, X., Jo, C., Han, L., & Zhou, M. (2022). Recent advance in microbial fuel cell reactor configuration and coupling technologies for removal of antibiotic pollutants. *Current Opinion in Electrochemistry*, 31, 100833. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100833>

[4] Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L., & Vanbroekhoven, K. (2010). A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*, 101(6), 1533–1543. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.017>

[5] Obileke, K., Onyeaka, H., Meyer, E. L., & Nwokolo, N. (2021). Microbial fuel cells, a renewable energy technology for bio-electricity generation: A mini-review. *Electrochemistry Communications*, 125, 107003. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2021.107003>

[6] Konovalova, E. Yu., Stom, D. I., Zhdanova, G. O., Yuriev, D. A., Li, Y., Barbra, L., & Goswami, P. (2018). The microorganisms used for working in microbial fuel cells. *AIP Conference Proceedings*. <https://doi.org/10.1063/1.5031979>

[7] Verma, M., & Mishra, V. (2021). Recent trends in upgrading the performance of yeast as electrode biocatalyst in microbial fuel cells. *Chemosphere*, 284, 131383. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131383>

[8] Kurtzman, C. P. (2011). *Wickerhamomyces Kurtzman, Robnett & Basehoar-Powers (2008). The Yeasts*, 899–917. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52149-1.00080-x>

[9] Burini, J. A., Eizaguirre, J. I., Loviso, C., & Libkind, D. (2021). Levaduras no convencionales como herramientas de innovación y diferenciación en la producción de cerveza. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(4), 359–377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.01.003>

[10] Joshi, J., Dhungana, P., Prajapati, B., Maharjan, R., Poudyal, P., Yadav, M., Mainali, M., Yadav, A. P., Bhattarai, T., & Sreerama, L. (2019). Enhancement of Ethanol Production in Electrochemical Cell by *Saccharomyces cerevisiae* (CDBT2) and *Wickerhamomyces anomalus* (CDBT7). *Frontiers in Energy Research*, 7. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2019.00070>

[11] Prasad, D., Arun, S., Murugesan, M., Padmanaban, S., Satyanarayanan, R. S., Berchmans, S., & Yegnaraman, V. (2007). Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(11), 2604–2610. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.10.028>

[12] Santiago, B., Rojas-Flores, S., De La Cruz Noriega, M., Cabanillas-Chirinos, L., Otiniano, N. M., Silva-Palacios, F., & Luis, A. S. (2020, July). Bioelectricity from *Saccharomyces cerevisiae* yeast through low-cost microbial fuel cells. In *Proceedings of the 18th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: Engineering, Integration, and Alliances for a Sustainable Development, Virtual* (pp. 27-31).

[13] Cuervo, R., Argote, F., Fernández, F., Osorio, E. (2015). Hongos levaduriformes aislados de frutas y de suelo de la región del Valle del Cauca, Colombia. *Editorial Bonaventuriana*, 100 p. ISBN: 978-958-8785-48-6

[14] Gustincich, S., Manfoletti, G., Del Sal, G., Schneider, C., & Carninci, P. (1991). A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, 11(3), 298-300.

[15] Wahyuningsih, R., Freisleben, H. J., Sonntag, H. G., & Schnitzler, P. (2000). Simple and rapid detection of *Candida albicans* DNA in serum by PCR for diagnosis of invasive candidiasis. *Journal of clinical microbiology*, 38(8), 3016-3021

[16] Rojas-Flores, S., Benites, S. M., La Cruz-Noriega, D., Cabanillas-Chirinos, L., Valdiviezo-Dominguez, F., Quezada Álvarez, M. A., ... & Angelats-Silva, L. (2021). Bioelectricity Production from Blueberry Waste. *Processes*, 9(8), 1301. <https://doi.org/10.3390/pr9081301>

[17] Kabir, M. M., Fakhruddin, A., Chowdhury, M., Pramanik, M. K., & Fardous, Z. (2018). Isolation and characterization of chromium (VI)-reducing bacteria from tannery effluents and solid wastes. *World journal of microbiology & biotechnology*, 34(9), 126. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2510-z>

[18] Rojas-Flores, S., Pérez-Delgado, O., Nazario-Naveda, R., Rojas-Alfaro, H., Benites, S. M., La Cruz-Noriega, D., & Otiniano, N. M. (2021). Potential Use of Papaya Waste as a Fuel for Bioelectricity Generation. *Processes*, 9(10), 1799.

- [19]Nayak, J. K., &Ghosh, U. K. (2020). Microalgalremediation of anaerobicpretreatedpharmaceuticalwastewaterforsustainable biodiesel production and electricitygeneration. *Journal of WaterProcessEngineering*, 35, 101192.
- [20]Jiang, H. M., Luo, S. J., Shi, X. S., Dai, M., &Guo, R. B. (2013). A systemcombiningmicrobial fuel cellwithphotobioreactorforcontinuousdomesticwastewatertreatment and bioelectricitygeneration. *Journal of Central South University*, 20(2), 488-494.
- [21]Grobler, C., Virdis, B., Nouwens, A., Harnisch, F., Rabaey, K., & Bond, P. L. (2018). Effect of theanodepotentialonthephysiology and proteome of *Shewanellaoneidensis* MR-1. *Bioelectrochemistry*, 119, 172-179.
- [22]Sun, J., Yang, P., Li, N., Zhao, M., Zhang, X., Zhang, Y., ... & Lu, X. (2020). Extraction of photosyntheticelectronfrommixedphotosyntheticconsortium of bacteria and algaetowardsustainablebioelectricalenergyharvesting. *Electrochimica Acta*, 336, 135710.
- [23]Kakarla, R., & Min, B. (2019). Sustainableelectricitygeneration and ammoniumremovalbymicrobial fuel cellwith a microalgaeassistedcathode at variousenvironmentalconditions. *Bioresourcetechnology*, 284, 161-167.
- [24]Tremouli, A., Martinos, M., &Lyberatos, G. (2017). Theeffects of salinity, pH and temperatureonthe performance of a microbial fuel cell. *Waste and BiomassValorization*, 8(6), 2037-2043.
- [25]Moharir, P. V., &Tembhurkar, A. R. (2018). Effect of recirculationonbioelectricitygenerationusingmicrobial fuel cellwithfoodwasteleachate as substrate. *International Journal of HydrogenEnergy*, 43(21), 10061-10069.
- [26]Nam, J. Y., Kim, H. W., Lim, K. H., Shin, H. S., & Logan, B. E. (2010). Variation of powergeneration at different buffer types and conductivities in single chambermicrobial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(5), 1155-1159.
- [27]Karthikeyan, R., Selvam, A., Cheng, K. Y., & Wong, J. W. C. (2016). Influence of ionicconductivity in bioelectricityproductionfromsalinedomesticsewagesludge in microbial fuel cells. *Bioresourcetechnology*, 200, 845-852.
- [28]Stefanova, A., Angelov, A., Bratkova, S., Genova, P., &Nikolova, K. (2018). INFLUENCE OF ELECTRICAL CONDUCTIVITY AND TEMPERATURE IN A MICROBIAL FUEL CELL FOR TREATMENT OF MINING WASTE WATER. *Annals of theConstantinBrancusiUniversity of TarguJiu-Letters& Social Sciences Series*, (3).
- [29]Ndayisenga, F., Yu, Z., Yu, Y., Lay, C. H., &Zhou, D. (2018). Bioelectricitygenerationusingmicroalgalbiomass as electrondonor in a bio-anodemicrobial fuel cell. *Bioresourcetechnology*, 270, 286-293
- [30]Kumar, S. S., Basu, S., Gupta, S., Sharma, J., &Bishnoi, N. R. (2019). Bioelectricitygenerationusingsulphate-reducing bacteria as anodic and microalgae as cathodicbiocatalysts. *Biofuels*, 10(1), 81-86.