



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA

**GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA A PARTIR DEL PROCESO DE
REDUCCIÓN DE SULFATO EN UN REACTOR UASB**

Presentada para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

por

Margarita Isabel Pérez Díaz
Ingeniera Bioquímica

TITULO DE LA TESIS

Dirigida por

Dra. Claudia Guerrero Barajas

Ciudad de México. 8 de Julio de 2016



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 18:00 horas del día 8 del mes de julio del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología para examinar la tesis titulada:

"Generación de energía eléctrica a partir del proceso de reducción de sulfato de un reactor UASB"

Presentada por el alumno:

<u>Pérez</u>	<u>Díaz</u>	<u>Margarita Isabel</u>							
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)							
		Con registro:	B	1	4	0	2	9	8

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Bioprocesos

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directora de tesis

Dra. Claudia Guerrero Barajas

Dr. Jorge Isaac Chairez Oria

Dra. Marina Olivia Franco Hernández

Dr. Alberto Ordaz Cortés

M. en C. Maxwell Gustavo Jiménez Escamilla

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

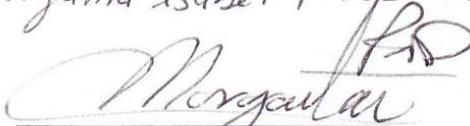
Dr. Ramón Villanueva Arce



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL
INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA
REGIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

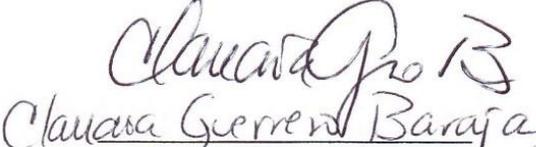
DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo **Margarita Isabel Pérez Díaz** declaro que esta tesis, así como los resultados en ella reportados, son producto de mi trabajo y que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona, ni tampoco contiene material que haya sido utilizado para obtener algún grado o diploma en alguna otra institución educativa, excepto donde se reconoce como tal. Declaro igualmente que hago justo reconocimiento en la tesis a las personas que contribuyeron con su trabajo y finalmente, declaro que esta tesis es producto de mi propio trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a la concepción del proyecto, al estilo de la presentación o a la expresión escrita.

Margarita Isabel Pérez Díaz


Nombre y firma del alumno

Vo. Bo.


Clauara Guerrero Barajas

Nombre y firma del director

Autorización de uso de obra

Instituto Politécnico Nacional

Presente

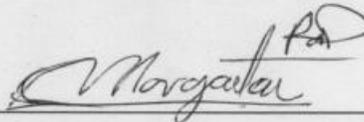
Bajo protesta de decir verdad el que suscribe Margarita Isabel Pérez Díaz (se anexa copia simple de identificación oficial), manifiesto ser autora y titular de los derechos morales y patrimoniales de la obra titulada "GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA A PARTIR DEL PROCESO DE REDUCCIÓN DE SULFATO EN UN REACTOR UASB", en adelante "La Tesis" y de cual se adjunta copia, por lo que por medio del presente y con fundamento en el artículo 27 fracción II, inciso b) de la Ley Federal del Derecho de Autor, otorgo al Instituto Politécnico Nacional, en adelante El IPN, autorización no exclusiva para comunicar y exhibir públicamente total o parcialmente en medios digitales (**publicación en línea de la tesis en el repositorio institucional**) "La Tesis" por un período de **1 año** contado a partir de la fecha de la presente autorización, dicho periodo se renovara automáticamente en caso de no dar aviso expreso a "El IPN" de su terminación.

En virtud de lo anterior, "El IPN" deberá reconocer en todo momento mi calidad de autor de "La Tesis".

Adicionalmente, y en mi calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de "La Tesis", manifiesto que la misma es original y que la presente autorización no contraviene ninguna otorgada por el suscrito respecto de "La Tesis", por lo que deslindo de toda responsabilidad a El IPN en caso de que el contenido de "La Tesis" o la autorización concedida afecte o viole derechos autorales, industriales, secretos industriales, convenios o contratos de confidencialidad o en general cualquier derecho de propiedad intelectual de terceros y asumo las consecuencias legales y económicas de cualquier demanda o reclamación que puedan derivarse del caso.

Ciudad de México., 8 de Julio de 2016

Atentamente



Margarita Isabel Pérez Díaz

EL TRABAJO EXPERIMENTAL SE DESARROLLO EN EL LABORATORIO DE POSGRADO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL DE LA UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA DEL I.P.N.

ESTE TRABAJO FUE LLEVADO A CABO CON UNA BECA DE MAESTRÍA PROPORCIONADA POR CONACYT, CON NÚMERO DE REGISTRO 626331 A QUIEN EL AUTOR AGRADECE.

RESUMEN

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) biogénico es un producto del metabolismo de las bacterias sulfato reductoras (BSR) que se ha utilizado en diferentes aplicaciones biotecnológicas como en la recuperación de metales. Por otra parte, investigaciones recientes sugieren la posibilidad de emplear este compuesto para la generación de energía eléctrica en celdas de combustible microbianas (CCM). El objetivo general de este trabajo fue generar energía eléctrica a partir del proceso de reducción de sulfato en un reactor UASB adaptado a configuración de celda.

Para esto, se empleó como inóculo un cultivo mixto derivado de una mezcla de 200 g de sedimento marino y 100 g de lodo sulfurogénico. Éste se mantuvo en pre cultivo para la adaptación de los microorganismos al medio con AGV y sulfato. Posteriormente, el inóculo se transfirió a un reactor UASB para la obtención de biomasa con mayor actividad sulfato reductora. El reactor se alimentó con agua residual sintética empleando una mezcla de acetato, propionato y butirato como donador de electrones (4.02 g DQO/L) y sulfato (6 g/L) como aceptor de electrones y se operó en lote alimentado con recirculación. Posteriormente, el inóculo adaptado se transfirió a un reactor UASB acoplado a configuración de celda donde se determinó la generación de energía eléctrica a partir del proceso de sulfato reducción.

La operación del reactor UASB-celda a circuito abierto arrojó un voltaje de 0.643 ± 0.07 V, con un porcentaje de error del 11.7% respecto al potencial calculado teóricamente con las reacciones de óxido-reducción en el ánodo y el cátodo, y que entra dentro del rango de voltaje alcanzado en estudios anteriores. Por otra parte, el sistema presentó una eficiencia coulombica del 0.02% utilizando una resistencia externa de 6,000 Ω en el circuito, ya que ésta arrojó una mayor densidad de potencia y corriente ($64.2 \mu W/m^2$, $0.47 \mu A/m^2$) con respecto a la curva de polarización y potencia.

De igual manera, en el sistema se logró una remoción de los sustratos del 100% y se observó que la sulfato reducción en la parte anaerobia de la celda, juega un papel tanto para la oxidación de los sustratos como para la transferencia de los electrones hacía el ánodo, lo cual es una buena pauta para utilizar este sistema en la remediación de aguas residuales que contengan residuos orgánicos e inorgánicos como el SO_4^{2-} .

ABSTRACT

Biogenic sulfide (H_2S) is obtained as a product in the metabolism of sulfate reducing bacteria (SRB). This may be a valuable product due to its applications in biotechnology such as for example the precipitation of heavy metals found in several waste water streams coming from industrial effluents. Along the same lines, recent research suggests that this compound may be used in the generation of electricity in microbial fuel cells (MFC). The goal of this work was to generate electricity from the sulfate reduction process carried out in a UASB (Upflow anaerobic sludge blanket) reactor adapted to a microbial fuel cell configuration.

In order to carry out the experimental work, the inoculum was a mixture of marine sediment (200 g) and sulfidogenic sludge (100 g) previously generated from marine sediments. This inoculum was acclimated to sulfate reducing conditions in a culture medium supplemented with VFA and sulfate. After acclimation it was transferred to a UASB reactor to increase the biomass and sulfate reducing activity (SRA). The reactor was fed with artificial waste water in which a mixture of acetate, propionate and butyrate were the substrates. (4.02 g COD/L) and sulfate as electron acceptor (6 g/L). The reactor was operated in batch mode with recirculation. Afterwards the acclimated inoculum was transferred to a UASB coupled to a MFC configuration in which the generation of electricity was determined from the sulfate reduction process.

The open circuit operation of the UASB-Cell exhibited a voltage of 0.643 ± 0.07 V, which was very close to the value estimated theoretically with the reactions in the anode and cathode. The largest power density and current were obtained with the external resistances of 14,000 Ω ($89.5 \mu\text{W}/\text{m}^2$, $0.35 \mu\text{A}/\text{m}^2$) y 6,000 Ω ($64.2 \mu\text{W}/\text{m}^2$, $0.47 \mu\text{A}/\text{m}^2$). The coulombic efficiency obtained in the system was of 0.02% along with a 100 % removal of the substrates utilized with an external resistance of 6,000 Ω . It was proved that the sulfate reduction reaction plays an important role in both, the oxidation of the substrates and the electrons transfer to the anode.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi directora en esta tesis la Dra. Claudia Guerrero Barajas por su apoyo en la realización de esta tesis y por la disciplina en sus enseñanzas tanto en lo laboral como en lo personal.

A mi comité evaluador: la Dra. Marina Olivia Franco Hernández, el Dr. Jorge Isaac Chairez Oriá, el Dr. Alberto Ordaz Cortés y al M. en C. Maxvel Gustavo Jiménez Escamilla por valioso tiempo, apoyo y consejos.

Quiero agradecer de manera muy especial a la Dra. Marina Olivia Franco Hernández y al Dr. Luis Carlos Fernández por su gran apoyo y confianza para el préstamo de materiales y equipos de laboratorio ya que su ayuda fue vital para la realización de esta tesis.

Al M. en C. Maxvel Gustavo Jiménez Escamilla por su amable e incondicional apoyo en la asesoría en la metodología de esta tesis.

Al proyecto de Ciencia Básica CONACYT No. 626331.

A mis Padres Roberto y Mari, y a mi hermana Marisol que con todo su amor y esfuerzo me apoyaron para lograr esta meta.

A Irvin por su gran apoyo en la recta final.

Por último pero no menos importante, agradezco a todos mis amigos de la maestría Ana Laura, Rosa, Israel, Antonio, Yami, Jazmin, Julio y más, por ser como una familia y por estar unidos en las buenas y en las malas, a esos grandes amigos que fui conociendo a lo largo de este camino y a todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron con su apoyo a la realización de esta tesis.

“De nada sirve la luz si no vas a iluminar el camino de los demás”

ÍNDICE

RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ABREVIATURAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	4
1.1 Tratamiento de aguas residuales	4
1.2 Tratamiento biológico de aguas residuales	4
1.2.1 Tratamiento biológico aerobio	5
1.2.2 Tratamiento biológico anaerobio	5
1.3 Proceso biológico de la sulfato reducción (SR)	7
1.4 Bacterias sulfato reductoras (BSR)	9
1.5 Biorreactores anaerobios utilizados para la sulfato reducción	10
1.5.1 Reactor anaerobio de lecho de lodos de tipo granular de flujo ascendente (UASB) .	12
1.6 Aplicaciones de la sulfato reducción biológica.....	13
1.7 Celdas de combustible microbianas (CCM).....	14
1.8 CCM de flujo ascendente	17
1.8.1 Microorganismos empleados en las CCM	18
1.8.2 Mecanismos de transporte de electrones en las CCM	20
1.9 Empleo de la SR biológica para la generación de energía eléctrica en las CCM.....	21
JUSTIFICACIÓN	24
HIPÓTESIS	25
OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo general	26
2.2 Objetivos específicos	26
MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Estrategia experimental.....	27
3.2 Material biológico y cultivo.....	28
3.2.1 Inóculo	28
3.2.2 Medio basal.....	28
3.3 Métodos analíticos empleados	28

3.3.1	Determinación de sulfuro de hidrógeno disociado (H_2S) _{liq}	28
3.3.2	Determinación del ion sulfato (SO_4^{2-})	29
3.3.3	Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases.....	29
3.3.4	Determinación de sulfuro de hidrógeno no disociado (H_2S) _{aq}	29
3.4	Aclimatación del inóculo.....	31
3.5	Transferencia del inóculo al reactor UASB	32
3.5.1	Establecimiento del reactor UASB.....	32
3.5.2	Operación del reactor UASB	33
3.5.3	Operación del reactor UASB	33
3.6	Transferencia del inóculo al reactor UASB-celda	34
3.6.1	Establecimiento del reactor UASB-celda	34
3.6.2	Operación del reactor UASB-celda.....	36
3.7	Cálculos y mediciones de generación de energía eléctrica en el reactor UASB-celda.....	38
3.7.1	Cálculo de la diferencia de potencial eléctrico en la celda (E_{emf})	38
3.7.2	Curva de polarización.....	40
3.7.3	Cálculo de la eficiencia Coulómbica (E_c).....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		42
4.1	Aclimatación del inóculo.....	42
4.2	Desempeño del inóculo en el reactor UASB.....	45
4.3	Cálculo del potencial eléctrico en el la celda (E_{emf}).....	47
4.4	Operación del reactor UASB-celda.....	49
4.4.1	Inoculación del reactor UASB-celda	49
4.4.2	Aclimatación del inóculo en el reactor UASB-celda	50
4.4.3	Medición de voltaje a circuito abierto (V_{ocp})	51
4.5	Generación de corriente y potencia en el reactor UASB-celda	55
4.6	Desempeño del reactor UASB-celda utilizando una resistencia de 6000Ω	60
4.6.1	Eficiencia coulómbica en el reactor UASB-celda	64
CONCLUSIONES.....		74
PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES PARA FUTUROS TRABAJOS.....		76
BIBLIOGRAFÍA		77
ANEXOS		86

ABREVIATURAS

AGV: ácidos grasos volátiles

BSR: bacterias sulfato reductoras

BUGs: benthic unattended generators (Generador Bentónico de energía Autónomo)

CCM: celdas de combustible microbianas

CH₄: metano

CO₂: dióxido de carbono

DQO: demanda química de oxígeno

Fe(II): óxido de hierro (II) u Óxido ferroso

Fe(III): óxido de hierro (III), Trióxido de hierro u óxido férrico

H₂S: sulfuro de hidrógeno

MIP: membrana de intercambio de protones

S⁰: azufre elemental

SO₄⁻²: sulfato

UASB: upflow anaerobic sludge blanket

V_{ocp}: voltaje a circuito abierto

EC: eficiencia coulombica

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1 ESQUEMA DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN ANAEROBIA EN PRESENCIA DE SULFATO (GRIS) Y EN AUSENCIA DE SULFATO (NEGRO). ADAPTADO DE MEULEPAS <i>ET AL.</i> (2010)	7
FIGURA 1.2 ESQUEMA DE LAS VÍAS DEL PROCESO DE REDUCCIÓN DE SULFATO. ADAPTADO DE SÁNCHEZ-ANDREA <i>ET AL.</i> (2014).	8
FIGURA 1.3 PARTES QUE CONFORMAN UNA CCM TÍPICA. RABAEY Y VERSTRAETE (2005).	16
FIGURA 1.4 DIFERENTES CONFIGURACIONES DE CCM REPORTADAS. A) CCM DE DOS COMPARTIMENTOS (TIPO H), B) CCM DE FLUJO ASCENDENTE Y C) CCM DE UNA SOLA CÁMARA, DU <i>ET AL.</i> (2007).	17
FIGURA 1.5 INTERACCIÓN DE ALGUNOS PRODUCTOS METABÓLICOS REDUCIDOS CON EL ÁNODO Y LOS MICROORGANISMOS DU <i>ET AL.</i> (2007).	20
FIGURA 1.4 INTERACCIÓN DE ALGUNOS PRODUCTOS METABÓLICOS REDUCIDOS CON EL ÁNODO (DU <i>ET AL.</i> , 2007).	20
FIGURA 1.5 MECANISMO POR EL CUAL LOS COMPUESTOS DE AZUFRE REDUCIDOS PUEDEN CONTRIBUIR A LA PRODUCCIÓN DE ELECTRICIDAD EN LAS CCM (LOVLEY 2006A).....	22
FIGURA 5.1 ESQUEMA DE LA ESTRATEGIA EXPERIMENTAL UTILIZADA.....	27
FIGURA 5.2 ESQUEMA DE ESPECIES DE H ₂ S COMO FUNCIÓN DE SU PH. MODIFICADA DE LEWIS (2010).	30
FIGURA 5.2 ESQUEMA DEL REACTOR UASB.....	32
FIGURA 5.3 ESQUEMA DEL REACTOR UASB.....	35
FIGURA 5.4 CONFIGURACIÓN DE ELECTRODOS (ÁNODO Y CÁTODO).....	36
FIGURA 6.1 ACLIMATACIÓN DEL INÓCULO. A) LODO SULFATO REDUCTOR; B) SEDIMENTO MARINO Y ESPONJAS METÁLICAS; C) INÓCULO AL INICIO DE LA ALIMENTACIÓN CON ASR; D) INÓCULO DÍAS DESPUÉS DE LA ALIMENTACIÓN CON ASR.	42
FIGURA 6.2 OBSERVACIONES EN EL LOTE 3 EN LA ACLIMATACIÓN DEL INÓCULO. A) PRECIPITADOS FORMADOS; B) ESPONJAS METÁLICAS INOCULADAS EN LA BOTELLA; C) COLORACIÓN DEL MEDIO AL INICIO DEL LOTE 3.....	44

FIGURA 6.3 DESEMPEÑO DEL INÓCULO ANTES Y DESPUÉS DE LA TRASFERENCIA AL REACTOR UASB. I) DESEMPEÑO DEL INÓCULO DURANTE EL LOTE 6; II) DESEMPEÑO DEL INÓCULO DURANTE LOS DÍAS POSTERIORES AL LOTE 6; III) DESEMPEÑO DEL INÓCULO EN EL REACTOR UASB. CONCENTRACIÓN DE SULFATO (●). CONCENTRACIÓN DE SULFURO (○).....	46
FIGURA 6.4 FOTOGRAFÍA DEL REACTOR UASB-CELDA.	49
FIGURA 6.5 MEDICIÓN DE VOLTAJE A CIRCUITO ABIERTO CON RESPECTO AL TIEMPO	51
FIGURA 6.6 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL FUNCIONAMIENTO DE UNA CCM INOCULADA CON SEDIMENTO MARINO SIN MEDIADORES EXTERNOS. TOMADA Y MODIFICADA DE LOWY <i>ET</i> <i>AL.</i> (2006).	52
FIGURA 6.7 DESEMPEÑO DE LOS LOTES REALIZADOS CON RESPECTO AL TIEMPO. A) CONCENTRACIÓN DE SULFATO; B) CONCENTRACIÓN DE SULFURO; C) PORCENTAJE DE CONSUMO DE SUSTRATOS. SIMBOLOGÍA: LOTE 1 (■), LOTE 2 (▲), LOTE 3 (●).	54
FIGURA 6.8 CURVA DE POLARIZACIÓN Y CURVA DE DENSIDAD DE POTENCIA EMPLEANDO DIFERENTES RESISTENCIAS. EN ORDEN DE IZQUIERDA A DERECHA EN EL GRÁFICO, SE UTILIZARON LAS SIGUIENTES RESISTENCIAS: 0, 14000, 6000, 4741, 2850, 1560, 820, 471 Ω.	57
FIGURA 6.9 CONCENTRACIÓN DE SULFATO (○) Y SULFURO (●) DURANTE LOS DÍAS DE OPERACIÓN DEL REACTOR UASB-CELDA. A) LOTE 1; B) LOTE 2; C) LOTE 3; D) LOTE CONTROL.....	62
FIGURA 7.0 A) MUESTRA DE LA PARTE SUPERIOR DE LA CÁMARA ANAEROBIA; B) CÁMARA ANAEROBIA DEL SISTEMA UASB-CELDA; C) ÁNODO RECUBIERTO DE BIOPELÍCULA. ...	62
FIGURA 7.1 MECANISMO Y REACCIONES PARA LA TRANSFERENCIA DE ELECTRONES AL ÁNODO POR MEDIO LA SULFATO REDUCCIÓN PARA LA GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA. IMAGEN TOMADA Y MODIFICADA DE LOVLEY (2006).	63

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1 ECUACIONES CON SUS ENERGÍAS LIBRES DE GIBBS DE ALGUNAS REACCIONES DE LA SULFATO REDUCCIÓN BIOLÓGICA.....	9
TABLA 1.2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE DIFERENTES TIPOS DE REACTORES UTILIZADOS EN LA SR BIOLÓGICA.....	12
TABLA 1.3 COMPONENTES UTILIZADOS EN LAS CCM.....	15
TABLA 1.4 DATOS OBTENIDOS DE CCM DE FLUJO ASCENDENTE.....	18
FIGURA 1.6 MECANISMO POR EL CUAL LOS COMPUESTOS DE AZUFRE REDUCIDOS PUEDEN CONTRIBUIR A LA PRODUCCIÓN DE ELECTRICIDAD EN LAS CCM (LOVLEY 2006).....	22
TABLA 5.1 REACCIONES GENERADAS EN LA CÁMARA CATÓDICA Y ANÓDICA.....	38
TABLA 6. 1 DESEMPEÑO DE LOS LOTES REALIZADOS EN LA ACLIMATACIÓN DEL INÓCULO.....	43
TABLA 6.2 CONCENTRACIONES FINALES DE H ₂ S DISOCIADO Y H ₂ S NO DISOCIADO EN CADA LOTE.	45
TABLA 6.3 DESEMPEÑO DE LOS LOTES REALIZADOS EN EL REACTOR UASB.....	47
A: NO HUBO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
TABLA 6.4 VALORES DE LA ENERGÍA LIBRE DE GIBBS Y POTENCIALES ESTÁNDAR PARA CADA REACCIÓN.	48
TABLA 6.5 POTENCIALES TEÓRICOS DE LA CELDA, CALCULADOS CON BASE EN LAS REACCIONES EN LOS ELECTRODOS.....	48
TABLA 6.6 DESEMPEÑO DE LOS LOTES REALIZADOS DURANTE LA ACLIMATACIÓN DEL INÓCULO EN LA CÁMARA ANAEROBIA.....	50
TABLA 6.7 DESEMPEÑO DE LOS LOTES REALIZADOS EN LA MEDICIÓN DE VOLTAJE A CIRCUITO ABIERTO.....	53
TABLA 6.8 PARÁMETROS ELECTROQUÍMICOS DETERMINADOS EN LA CELDA UTILIZANDO DIFERENTES RESISTENCIAS.....	56
TABLA 6.9 CELDAS COMBUSTIBLE MICROBIANAS UTILIZANDO SEDIMENTO MERINO COMO INÓCULO	59

TABLA 7.0 DESEMPEÑO DE LOS LOTES EN EL SISTEMA UASB-CELDA DURANTE LA GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA.....64

TABLA 7.1 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS UTILIZANDO SULFURO DE HIDRÓGENO (H₂S) COMO MECANISMO DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES.....67

TABLA 7.2 DIFERENTES CONFIGURACIONES DE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS 68

INTRODUCCIÓN

Los efluentes industriales y domésticos contienen una gran cantidad heterogénea de residuos orgánicos e inorgánicos como carbohidratos, ácidos grasos, proteínas, especies de sulfatos y sulfuros, los cuales requieren de un tratamiento adecuado para su posterior descarga. Actualmente, el tratamiento biológico anaerobio es más aceptado para el tratamiento de aguas residuales ya que no se requiere la presencia de oxígeno, lo cual evita un gasto de energía para la aireación y por consiguiente disminuye el costo del proceso (Angenent *et al.*, 2004; Logan, 2005).

En el tratamiento anaerobio se puede presentar el proceso de sulfato reducción (SR) biológica, cuando las aguas residuales presentan ciertas concentraciones de sales de sulfato (SO_4^{2-}). La SR es realizada por BSR como mecanismo para la conservación de energía, donde utilizan diversos sustratos (azúcares, AGV o alcoholes) como donadores de electrones y el ion SO_4^{2-} como aceptor de electrones reduciéndolo hasta sulfuro de hidrógeno (H_2S) (Meulepas *et al.*, 2010).

Diferentes tipos de biorreactores se han empleado en el tratamiento anaerobio de aguas residuales, en donde el reactor anaerobio de lecho de lodo granular de flujo ascendente (UASB, upflow anaerobic sludge blanket, por sus siglas en inglés) ha sido uno de los más utilizados para la eliminación o conversión de materia orgánica y el proceso de SR, debido a que ofrece un óptimo tiempo de retención hidráulica, lo que permite que el tratamiento se lleve a cabo más rápido en comparación con los otros tipos de reactores (Lettinga *et al.*, 1980; Berni *et al.*, 2014).

Por otra parte, diversas investigaciones sugieren que a partir del proceso anaerobio es posible la generación de diferentes fuentes de energía alterna como el metano y el hidrógeno. Sin embargo, en la actualidad se ha comprobado que el tratamiento anaerobio de aguas residuales puede ser utilizado para la generación directa de energía eléctrica.

Actualmente se han desarrollado diversas tecnologías con el fin aprovechar la materia orgánica para la generación de energía, tal es el caso de las celdas de combustible microbianas (CCM). Estos dispositivos son biorreactores que convierten la energía química almacenada en los compuestos orgánicos a energía eléctrica a través de reacciones

catalíticas realizadas por microorganismos bajo condiciones anaerobias (Lovley, 2006b; Du *et al.*, 2007). La generación de energía eléctrica en las CCM se da cuando los microorganismos oxidan la materia orgánica y transfieren los electrones a un electrodo (ánodo).

Una CCM típica consta de una cámara anaerobia y una aerobia donde son colocados, el ánodo y el cátodo respectivamente, y en algunas ocasiones las cámaras se encuentran separadas por una membrana de intercambio de protones (MIP) o un puente salino. En la cámara anaerobia, los microorganismos oxidan la materia orgánica generando electrones y protones, así como CO_2 como producto de la oxidación. Sin embargo, los microorganismos no transfieren directamente los electrones producidos hacia un aceptor de electrones natural, sino que en su lugar los transfieren al ánodo, el cual los absorbe y los transporta a través de un circuito externo hacia el cátodo. Por su parte, los protones cruzan la MIP o el puente salino y pasan a la cámara aerobia donde se combinan con oxígeno para formar agua. De esta manera se genera una diferencia de potencial entre la cámara anaerobia y la cámara aerobia, las cuales son la base de una CCM, produciendo así una corriente eléctrica (Du *et al.*, 2007; Logan, 2008).

Por su parte, la transferencia de electrones generados por los microorganismos hacia el ánodo puede ser a través de mediadores de electrones artificiales o naturales, producidos por los microorganismos. De igual manera, la transferencia puede hacerse mediante productos metabólicos reducidos electroquímicamente activos, los cuales son oxidados abióticamente en la superficie del ánodo para proporcionar electrones. Por ejemplo, el H_2S es un producto reducido del metabolismo anaeróbico que reacciona fácilmente con los electrodos (Kim *et al.*, 2004; Lovley, 2006a; Logan, 2008).

A la fecha, los microorganismos reportados en las celdas de combustible microbianas varían entre aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos (Lovley y Nevin, 2008). Por otra parte, diversos estudios han demostrado la existencia de una amplia gama de microorganismos afines con los electrodos de las CCMs, especialmente cuando se utiliza un inóculo como los sedimentos marinos, suelos, aguas residuales, sedimentos de aguas dulces o lodos activados, los cuales presentan abundancia de estos microorganismos

(Lovley, 2006a; Lovley, 2008). Por su parte, los cultivos mixtos han demostrado un mejor rendimiento en las CCMs ya que permiten una amplia utilización de sustratos.

Estudios realizados por Reimers et al. (2001) y Tender et al. (2002) reportaron la generación de energía eléctrica en una CCM a partir de sedimentos marinos, en la cual, compuestos naturales reducidos como el S^0/H_2S , $Fe(II)/Fe(III)$ o ácidos húmicos, se mencionaron como posibles mediadores que facilitaron la transferencia de electrones de las células hacia el ánodo. Actualmente, las CCMs con sedimentos, conocidas como BUGs (benthic unattended generators), producen energía eléctrica a partir de materia orgánica almacenada en el sedimento y tienen como potencial aplicación el suministro de energía para dispositivos eléctricos (como los equipos de monitoreo en el fondo del mar) o cualquier otro ambiente acuático.

Debido a lo anterior, el estudio de nuevas tecnologías para la generación de energía a partir de materia orgánica es una opción interesante para la producción sustentable de energía a partir del tratamiento de residuos orgánicos o aguas residuales. Por tal motivo, en el presente trabajo se realizó el estudio de la generación de energía eléctrica a partir del proceso de sulfato reducción de un reactor UASB con configuración de celda inoculado con sedimento marino y un lodo sulfurogénico utilizando como afluente un agua residual artificial.

ANTECEDENTES

1.1 Tratamiento de aguas residuales

La composición de las aguas residuales varía en gran medida de la procedencia del efluente (rural, urbano, industrial, minas, etc.). Su composición varía desde sólidos visibles y disueltos, hasta sustratos orgánicos biodegradables (van Lier, 2015).

Con el fin de garantizar que los contaminantes mencionados anteriormente no afecten negativamente a las aguas superficiales por su descarga directa, el tratamiento de las aguas residuales involucra procesos físicos, químicos y biológicos o una combinación de estos procesos dependiendo del contenido del efluente y la calidad que se requiera para su disposición final.

En la primera etapa del tratamiento de aguas residuales se lleva a cabo un pre-tratamiento o clarificación en donde los materiales como aceites, grasas, arena y sólidos de gran tamaño son removidos por medio de separaciones mecánicas. Posteriormente, la eliminación de contaminantes orgánicos disueltos y suspendidos se realiza por medio del tratamiento biológico, el cual se lleva a cabo en reactores que emplean lodos activados, donde los microorganismos realizan procesos de fermentación o digestión para reducir la concentración de la materia orgánica. Por último, el tratamiento químico es un proceso del cual se puede prescindir, a menos que se requiera de una purificación más profunda como la remoción de patógenos, metales pesados o ajustes de pH (EPA, 1997).

1.2 Tratamiento biológico de aguas residuales

El tratamiento biológico de las aguas residuales se basa en el consumo de la materia orgánica por los microorganismos. Las bacterias son los microorganismos más utilizados en este proceso, ya que degradan directamente los contaminantes por medio de sus enzimas intracelulares y extracelulares, las cuales descomponen los sustratos en compuestos fácilmente asimilables y útiles para el mantenimiento y síntesis celular. El tratamiento biológico puede ser aerobio o anaerobio como se describe a continuación (*Chan et al.*, 2009).

1.2.1 Tratamiento biológico aerobio

En el tratamiento aerobio, los microorganismos utilizan el oxígeno disuelto para la conversión de los residuos orgánicos en biomasa y CO₂. Este sistema es mayormente utilizado para obtener un alto grado de eficiencia en el tratamiento, y es adecuado para el tratamiento de aguas residuales con bajas concentraciones de contaminantes (DQO < 1000 mg/L) (Chan *et al.*, 2009).

1.2.2 Tratamiento biológico anaerobio

En el tratamiento anaerobio, los microorganismos descomponen la materia orgánica en sus componentes químicos más simples en ausencia de oxígeno. El proceso anaerobio es adecuado para el tratamiento de aguas con altas concentraciones de residuos (concentraciones de DQO mayores a 4000 mg/L) (Chan *et al.* 2009). Este proceso conlleva grandes ventajas en comparación con el tratamiento aerobio, ya que se requiere menos energía para su operación así como una baja producción de lodos y la posibilidad de producción de metano, hidrógeno y energía eléctrica.

La digestión anaerobia (DA) consiste en cuatro etapas las cuales involucran microorganismos quimioheterótrofos, bacterias metanogénicas, bacterias no metanogénicas y bacterias sulfato reductoras (BSR). Las diferentes etapas del proceso dan como resultado la producción de metano, CO₂, agua, además de sulfuro de hidrógeno, cuando las aguas contienen sales de sulfato. A continuación se describen las etapas de la DA.

- 1) Hidrólisis: los polímeros insolubles orgánicos son hidrolizados por microorganismos quimioheterótrofos en monómeros más disponibles (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos) (Angenent *et al.*, 2004).
- 2) Acidogénesis: en esta etapa, bacterias fermentativas convierten los monómeros a CO₂, hidrógeno y AGV (ácido acético, propiónico, butírico, etc.).
- 3) Acetogénesis: los productos de la acidogénesis son convertidos en ácido acético, hidrógeno y CO₂ por diferentes grupos de bacterias (bacterias hidrogénicas, acetogénicas y sulfato reductoras).

- 4) Metanogénesis: finalmente, microorganismos metanogénicos (arqueas anaerobias estrictas) convierten el ácido acético, el hidrógeno y el CO₂ a metano (Cea-Barcia *et al.*, 2013).

En presencia de sulfato, las bacterias acidogénicas, acetogénicas y metanogénicas compiten con las BSR por los sustratos disponibles. Por tal motivo, las BSR y las bacterias metanogénicas se encuentran en competencia constante ya que tienen necesidades nutricionales similares y comparten el metabolismo anaerobio (Meulepas *et al.*, 2010). La importancia de esta competencia aumenta a medida que disminuye la proporción DQO/SO₄²⁻ (Hidalgo y García Encina 2001). Investigaciones anteriores han demostrado que la disminución de la relación DQO/SO₄²⁻ de 6 a 0.34 favorece la sulfato reducción frente a la metanogénesis (Weijma *et al.*, 2002).

La degradación de varios intermediarios de la digestión anaerobia, como los AGV, alcoholes e hidrógeno, en sistemas de tratamiento de aguas residuales está fuertemente influenciado por la presencia de sulfato, ya que en presencia de sulfato las BSR son capaces de acoplar la oxidación de compuestos orgánicos y la reducción de sulfato como se observa en la figura 1.1 (Qatibi *et al.*, 1990;Thabet *et al.*, 2009).

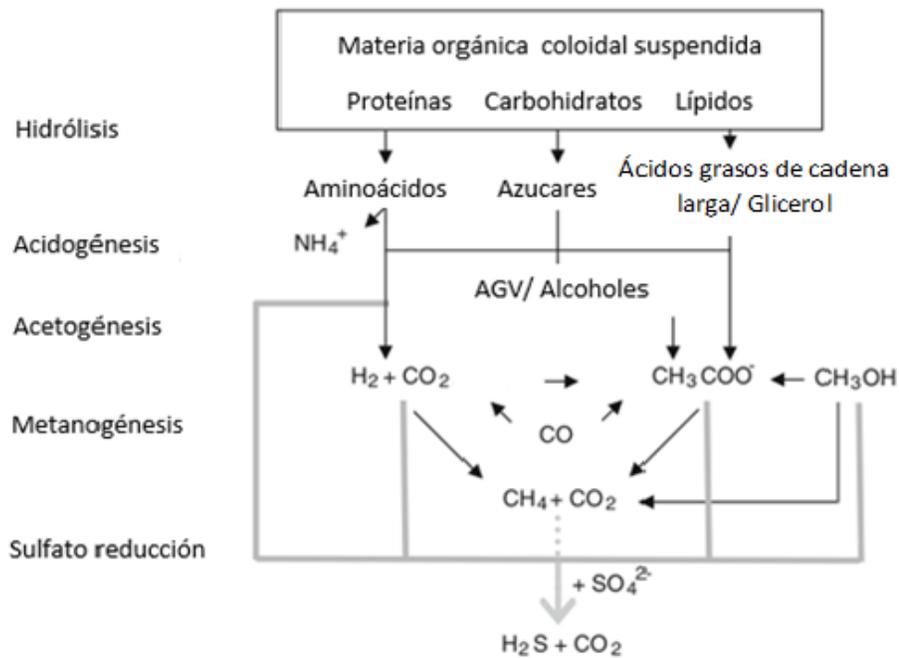


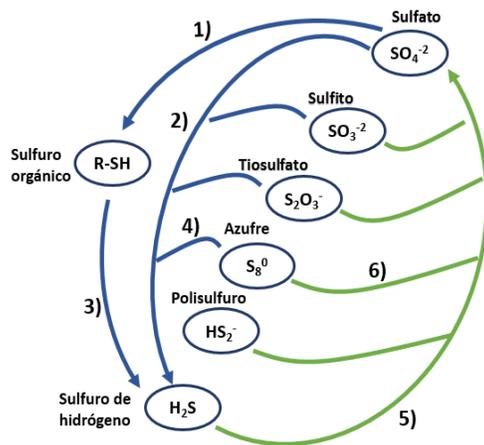
Figura 1.1 Esquema del proceso de degradación anaerobia en presencia de sulfato (gris) y en ausencia de sulfato (negro). Adaptado de Meulepas *et al.* (2010)

1.3 Proceso biológico de la sulfato reducción (SR)

La sulfato reducción biológica es el proceso donde plantas y microorganismos ciclan el azufre para la síntesis de biomoléculas como aminoácidos, o bien, para la obtención de energía para su crecimiento y mantenimiento. Este proceso puede llevarse a cabo mediante dos vías: la asimilativa y la no asimilativa. La vía asimilativa puede realizarse de manera aerobia o anaerobia, donde plantas, hongos y microorganismos reducen intracelularmente la fuente de azufre para incorporarlo como sulfuro en aminoácidos y en otras biomoléculas que lo requieran (Sánchez-Andrea *et al.*, 2014). La vía no asimilativa es realizada de manera estrictamente anaerobia por las bacterias sulfato reductoras (BSR), las cuales emplean el SO_4^{2-} o el S^0 como aceptores terminales de electrones, reduciéndolos hasta el sulfuro de hidrógeno, y utilizando diversos compuestos orgánicos como donadores de electrones para llevar a cabo el proceso de sulfato reducción y la conservación de energía (Colleran *et al.* 1995; Cordas *et al.* 2008).

Por su parte, en la figura 1.2 se muestra el esquema del proceso de sulfato reducción, en el cual se puede observar que las BSR son capaces de acoplar la SR con la degradación de

materia orgánica, utilizando como donadores de electrones varios de los compuestos intermediarios originados en la digestión anaerobia, como el hidrógeno (H_2), ácidos carboxílicos, alcoholes, algunos azúcares y compuestos aromáticos. Con respecto a esto, diferentes estudios han reportado la posibilidad de emplear aguas residuales industriales o domésticas como sustrato para promover la sulfato reducción (Kaksonen y Puhakka, 2007).



Reducción

- 1) Reducción asimilativa del Sulfato por diversos organismos
- 2) Reducción no asimilativa del Sulfato por las BSR
- 3) Mineralización del azufre
- 4) Reducción no asimilativa del azufre

Oxidación

- 5) Oxidación del sulfuro

Figura 1.2 Esquema de las vías del proceso de reducción de sulfato. Adaptado de Sánchez-Andrea *et al.* (2014).

A continuación se muestran algunas de las reacciones involucradas en la sulfato reducción biológica acopladas a la degradación de materia orgánica por las BSR.

Tabla 1.1 Ecuaciones con sus energías libres de Gibbs de algunas reacciones de la sulfato reducción biológica

Donador de electrones	Reacción	ΔG° (KJ/mol)
Reducción con sulfato		
Acetato	$C_2H_3O_2^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3 + HS^-$	-48
Propionato	$C_3H_5O_2^- + \frac{3}{4}SO_4^{2-} \rightarrow C_2H_3O_2^- + \frac{3}{4}HS^- + \frac{1}{4}H^+$	-37.7
Butirato	$C_4H_7O_2^- + \frac{1}{2}SO_4^{2-} \rightarrow 2C_2H_3O_2^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{1}H^+$	-27.8
Hidrógeno	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151.9
Reducción con azufre elemental		
Acetato	$\frac{1}{4}C_2H_3O_2^- + H_2O + S^0 \rightarrow \frac{1}{2}HCO_3 + \frac{5}{4}H^+ + HS^-$	-13
Hidrógeno	$H^2 + S^0 \rightarrow HS^- + H^+$	-27.8

Gallegos-García *et al.* (2010); Sánchez-Andrea *et al.* (2014)

1.4 Bacterias sulfato reductoras (BSR)

Las BSR son un grupo de microorganismos anaerobios que tienen la capacidad de utilizar el sulfato como aceptor de electrones para su crecimiento, dando como resultado sulfuro de hidrógeno (Muyzer y Stams, 2008). Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en ambientes anóxicos con altas concentraciones de sulfato y materia orgánica, como son los sedimentos marinos y las ventilas hidrotermales. En estos ambientes, diversos microorganismos anaerobios, como las BSR, oxidan la materia orgánica presente mediante la digestión anaerobia, recuperando los electrones de estos sustratos utilizando el sulfato como aceptor terminal de electrones (Muyzer y Stams, 2008). Aproximadamente entre el 75 y el 99% de los electrones provenientes de los sustratos orgánicos en los sedimentos marinos son recuperados por las BSR (Colleran *et al.*, 1995).

Actualmente se conocen ocho géneros de BSR que reducen de manera no asimilativa el sulfato y se reúnen en dos grupos:

- Grupo I: bacterias que oxidan su fuente de energía a niveles de acetato, debido a la ausencia de la ruta metabólica para la oxidación de la Acetil CoA (Colleran *et*

al.,1995; Kaksonen y Puhakka, 2007), obteniéndose este ácido como producto final. A este grupo pertenecen los géneros: *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* y *Desulfotomaculum*.

- Grupo II: bacterias que oxidan los ácidos C₁-C₁₄, y a veces benzoato, a CO₂. A este grupo pertenecen los géneros: *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* y *Desulfosarcina* (Hidalgo y García Encina, 2001).

Se ha estimado que la reducción del sulfato, llevada a cabo por las BSR, aporta más del 50 % en la mineralización de carbono orgánico en los sedimentos marinos, lo cual indica su gran importancia en el ciclo del azufre y del carbono (Muyzer y Stams, 2008).

Por otra parte, el sulfuro de hidrógeno generado por las BSR es un producto indeseable en diversos procesos ya que es tóxico, corrosivo y presenta un olor desagradable. Sin embargo, la utilización de este producto en reactores anaerobios ha sido de gran relevancia en el aspecto biotecnológico ya que se ha empleado para la remoción de metales pesados y materia orgánica en aguas residuales.

De esta manera, el proceso de sulfato reducción biológica es una buena alternativa en el tratamiento anaerobio de aguas residuales, debido a que las BSR pueden metabolizar un amplio rango de sustratos orgánicos utilizándolos como donadores de electrones.

1.5 Biorreactores anaerobios utilizados para la sulfato reducción

Los biorreactores utilizados para el tratamiento de aguas residuales con altas tasas de sales de sulfato se basan fundamentalmente en obtener una buena retención de la biomasa que lleve a cabo la conversión específica y así conseguir altas eficiencias en el proceso. Hasta ahora, la mayoría de los biorreactores para la reducción del sulfato utilizan células bacterianas inmovilizadas en flóculos o en gránulos (sin material de soporte requerido), así como biopelículas (células unidas a un material de soporte) (Lens *et al.*, 2002).

Por otro lado, los regímenes de carga de materia orgánica de un proceso son dictados en gran medida por la retención de biomasa en el reactor. La retención de la biomasa es deseable para la estabilidad del proceso y una producción mínima de lodos (Villa Gomez, 2013).

Entre los reactores más utilizados se encuentran los reactores de tanque agitado (CSTR), reactores gas-lift y reactores UASB.

En los reactores CSTR la biomasa es propensa al lavado, por lo que la retención de la biomasa se ha mejorado mediante sistemas de sedimentación interna y floculantes catiónicos. Por otro lado, los reactores gas-lift (RGL) poseen buenas capacidades de mezclado y por consiguiente una buena transferencia de masa. Estos reactores consisten de una columna vertical y una columna concéntrica en donde el gas es inyectado por la parte inferior, generando un gradiente de densidad entre los líquidos de ambas columnas, el cual es la fuerza motriz para la recirculación en el reactor. Otro tipo de reactores empleados para la SR son los reactores de filtro anaerobio (RFA) que pertenecen a los reactores que contienen un material de empaque donde la biomasa es retenida por la formación de una biopelícula. Los RFA se han operado con flujo horizontal, ascendente o descendente. Sin embargo, una de las desventajas que presentan estos reactores, es la obstrucción del filtro por los precipitados. Por otra parte, los reactores UASB se caracterizan por la generación de gránulos de biomasa con buenas características de sedimentación, lo que evita la utilización de materiales de empaque o acarreadores, que reducen los costos de operación (Kaksonen y Puhakka, 2007). A continuación, en la Tabla 1.2 se presentan ventajas y desventajas de los reactores mencionados.

Tabla 0 Ventajas y desventajas de diferentes tipos de reactores utilizados en la SR biológica

Tipo de reactor	Ventajas	Desventajas
CSTR	<ul style="list-style-type: none">• Condiciones de equilibrio rápidas	<ul style="list-style-type: none">• Poca retención de biomasa
Gas-lift	<ul style="list-style-type: none">• Eficiente mezclado y transferencia de masa	<ul style="list-style-type: none">• Caída de presión alta de la columna de agua que necesita ser superada cuando se suministra el sustrato gaseoso
AFR	<ul style="list-style-type: none">• Fuerzas de bajo cizallamiento• Mayores tiempos de retención del lodo	<ul style="list-style-type: none">• Obstrucción del filtro
UASB	<ul style="list-style-type: none">• Buena retención de biomasa• No hay compactación del lodo• No se necesitan materiales acarreadores• No hay obstrucción• Obtención de altas tasas de tratamiento	<ul style="list-style-type: none">• Susceptibles a cambios en la calidad del afluente

Kaksonen y Puhakka (2007); Villa Gomez (2013)

1.5.1 Reactor anaerobio de lecho de lodos de tipo granular de flujo ascendente (UASB)

Los reactores UASB fueron inicialmente desarrollados por Lettinga *et al.* (1980) para el tratamiento anaerobio de aguas residuales. Este sistema opera como un cultivo en suspensión, donde los microorganismos se agrupan entre ellos, o a partículas de materia (como los sedimentos), formando gránulos, los cuales consisten en una mezcla simbiótica entrelazada de microorganismos anaerobios (Abbasi y Abbasi, 2012). Los gránulos formados permiten una buena sedimentación de los mismos y que por consiguiente, forman un lecho de lodo en la parte inferior del reactor (Karthikeyan y Kandasamy, 2009). En los reactores UASB, el agua residual a ser tratada es introducida por la parte inferior del reactor, la cual fluye a través del lecho formado. Así bien, el agua residual comienza a ser tratada una vez que ésta entra en contacto con los gránulos de biomasa. Por otra parte, el biogás producido provoca una circulación interna que ayuda a la formación y mantenimiento de los

gránulos de biomasa. Parte del biogás producido se queda atrapado en los gránulos de biomasa, mientras que el gas libre, y algunas partículas adjuntas a él, se elevan hasta la parte superior del reactor donde chocan con los baffles liberando burbujas de gas, mientras que las partículas desgasificadas caen de nuevo a la superficie del manto del lodo. Debido a lo anterior, el proceso en estos reactores prescinde de acarreadores de biomasa, lo cual disminuye el costo de operación.

Debido a que la SR biológica es un proceso que se presenta en el tratamiento anaerobio de aguas residuales, se ha propuesto la utilización de configuraciones de reactores comúnmente utilizados en este proceso, como los UASB (Lens *et al.*, 2002). Sin embargo, durante la degradación anaerobia de la materia orgánica ocurre la competencia entre las BSR y las bacterias metanogénicas (BM) ya que ambas utilizan como principales donadores de electrones al hidrógeno y al acetato para la reducción de sulfato a sulfuro y del CO₂ a metano, respectivamente (Hidalgo y García Encina, 2001). No obstante, la alimentación con aguas residuales con altas tasas de sulfato favorece el predominio de las BSR y que a su vez producen un efecto tóxico sobre las BM inhibiendo este proceso (Colleran *et al.*, 1995). Teóricamente, la relación DQO/SO₄²⁻ necesaria para una total reducción del sulfato es de 0.67 y que a su vez es el punto en que las BSR comienzan a predominar sobre las BM (Hidalgo y García Encina, 2001).

Aproximadamente el 60% de los sistemas para el tratamiento anaerobio de aguas residuales se basan en los reactores UASB ya que ofrecen una tecnología robusta en la degradación de materia orgánica y se ha reportado que los reactores UASB son capaces de remover más del 60 % del DQO de la mayoría de las aguas residuales (Pham *et al.* 2006; Chan *et al.* 2009).

1.6 Aplicaciones de la sulfato reducción biológica

Actualmente, la SR biológica es un proceso biotecnológico que ha sido establecido para el tratamiento de efluentes con residuos orgánicos e inorgánicos que contienen compuestos de azufre y metales. Con la aplicación de la SR biológica a efluentes que contienen compuestos azufrados, se puede obtener como producto final el S⁰, el cual es un producto

inocuo que puede ser recuperado para su almacenamiento y reutilización como fertilizante y para la fabricación de ácido sulfúrico (Meulepas *et al.*, 2010).

De igual manera, la SR biológica ha sido ampliamente utilizada en la remediación de drenajes ácidos de minas (AMD, por sus siglas en ingles). Los AMD provienen de la industria minera, los cuales son provocados por la oxidación de los minerales metálicos durante su extracción; este proceso da como resultado aguas ricas en sulfato con un pH ácido y un gran contenido de metales pesados (Sánchez-Andrea *et al.*, 2014). El H₂S producido por la SR biológica reacciona con los metales precipitándolos como sulfuros metálicos, mientras que los iones hidróxido y el bicarbonato producido por oxidación sulfurogénica de los donadores de electrones neutraliza la acidez del agua (Kaksonen y Puhakka, 2007). Este proceso puede aplicarse para la recuperación de metales a partir de aguas residuales, así como para la inmovilización de metales en suelos y sedimentos.

Por otra parte, se ha reportado el empleo de la SR biológica para el tratamiento de contaminantes en el medio ambiente como los compuestos aromáticos en el subsuelo como el benceno, tolueno, etilbenceno y el xileno (orto, meta y para), que en conjunto son denominados BTEX. Esto es debido a que diferentes microorganismos anaerobios son capaces de degradar los BTEX utilizando el sulfato como aceptor de electrones (Dou *et al.*, 2008). Así también, en diversos estudios se ha observado la dechloración de algunos compuestos clorados como el tricloroetileno (TCE) y el percloroetileno (PCE) bajo condiciones sulfato reductoras (Bradley, 2003; Guerrero-Barajas *et al.*, 2011).

Hoy en día, una de las aplicaciones más recientes que se le puede dar a la SR biológica es en la generación de energía eléctrica en las celdas de combustible microbianas (CCM), ya que el H₂S es un compuesto que puede ser utilizado como mediador de electrones indirecto debido a que éste cuenta con la capacidad de transferir los electrones desde el interior de las células hasta el ánodo de las CCM (Du *et al.* 2007).

1.7 Celdas de combustible microbianas (CCM)

Las celdas de combustible microbianas son dispositivos que convierten la energía química almacenada en los compuestos orgánicos a energía eléctrica a través de las reacciones catalíticas de los microorganismos bajo condiciones anaerobias (Du *et al.* 2007).

Por lo general, las CCM consisten de una cámara anódica anaerobia y una cámara catódica aerobia, que usualmente se encuentran divididas por una membrana de intercambio de protones (MIP), como se muestra en la Figura 1.3. En la Tabla 1.3 se mencionan los componentes básicos y los materiales utilizados en la construcción de las CCM.

Tabla 0 Componentes utilizados en las CCM

Componente	Material	Observaciones
Ánodo	Grafito, tela de grafito, papel carbón, Pt, carbón vítreo reticulado (RVC)	<ul style="list-style-type: none"> • Necesario • Debe ser conductivo • No corrosivo • Con gran superficie de contacto • Porosidad alta,
Cátodo	Grafito, tela de grafito, papel carbón, Pt, RVC	<ul style="list-style-type: none"> • Necesario •
Cámara anódica	Vidrio, policarbonato, plexiglas	<ul style="list-style-type: none"> • Necesario • Debe ser conductivo • No corrosivo • Con gran superficie de contacto
Cámara catódica	Vidrio, policarbonato, plexiglas	Opcional
MIP	Nafion, Ultrex, puente salino	Necesario
Catalizador electroquímico	Pt, Pt black	Opcional

Du *et al.* (2007)

Los microorganismos en la cámara anódica oxidan la materia orgánica (sustrato) generando electrones y protones. Los electrones son absorbidos por el ánodo y son transportados hacia el cátodo por un circuito externo. Por su parte, los protones cruzan la membrana de intercambio de protones y entran a la cámara catódica, donde se combinan con oxígeno para formar agua (Moqsud *et al.*, 2013).

La fuente de combustible utilizada en las celdas microbianas (donadores de electrones) es generalmente materia orgánica biodegradable como glucosa, AGV, almidón, lactato, etanol

o aguas residuales, ya que los microorganismos que generan energía en las CCM pueden oxidar una amplia variedad de compuestos orgánicos (Pant *et al.*, 2010).

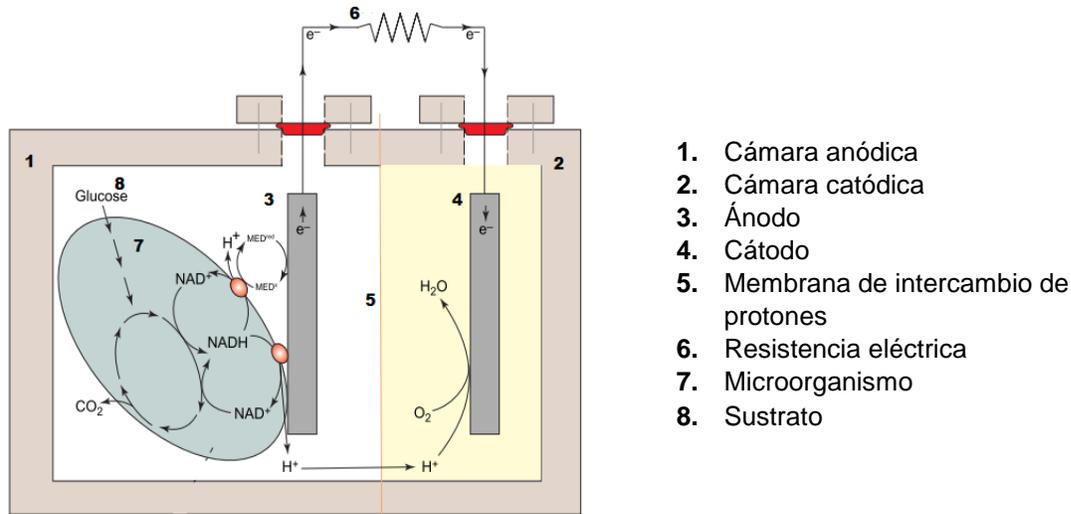


Figura 0 Partes que conforman una CCM típica. Rabaey y Verstraete (2005).

Paralelo a esto, se han desarrollado diferentes configuraciones de CCM donde se varían los tipos de materiales de electrodos, las dimensiones de las cámaras, así como la ausencia de la cámara catódica o la MIP. En la Figura 1.4 se presentan algunas de las configuraciones de CCM reportadas.

Las configuraciones de CCM se han venido actualizando continuamente desde la aparición de las celdas “tipo H”, las cuales fueron el primer diseño, con la realización de modificaciones internas con el fin de optimizar el proceso de generación de energía eléctrica y la degradación de materia orgánica. Por esta parte, las CCM de flujo ascendente poseen mayor ventaja ya que son una adaptación de los reactores diseñados para el tratamiento anaerobio de aguas residuales.

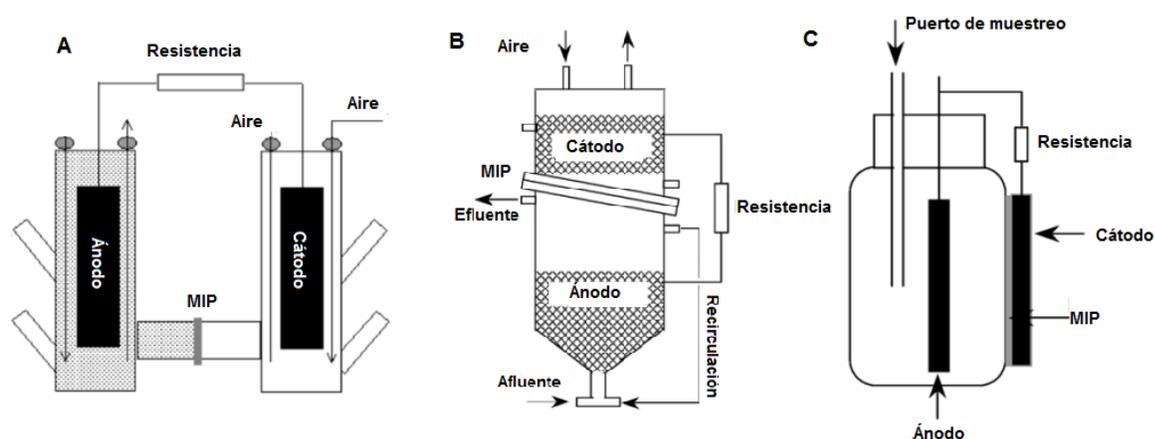


Figura 1.4 Diferentes configuraciones de CCM reportadas. A) CCM de dos compartimentos (tipo H), B) CCM de flujo ascendente y C) CCM de una sola cámara, Du *et al.* (2007).

1.8 CCM de flujo ascendente

La aplicación del principio de las CCM para el tratamiento de aguas residuales es muy atractivo debido a que se puede recuperar la energía a partir de residuos, así como la reducción de lodos. La expectativa con este proceso es la generación de menos lodos que un proceso de lodos activados convencional, ya que la mayor parte de la energía disponible de la oxidación de los contaminantes orgánicos se convierte en electricidad, y la energía restante se utiliza para el crecimiento microbiano (Jang *et al.*, 2004).

Jang *et al.* (2004), aportaron por primera vez la configuración de flujo ascendente en CCM. Estos autores desarrollaron una CCM de forma vertical donde colocaron el ánodo en la parte inferior y el cátodo en la parte superior, ambos de fieltro de grafito. No se utilizó MIP para la separación de los electrodos, en su lugar, se empleó fibra de vidrio y perlas de vidrio. La operación de la CCM se llevó en continuo, donde el afluente ingresaba por debajo del ánodo y el efluente se eliminaba por la parte del cátodo.

Así mismo, Rabaey *et al.* (2005), utilizaron una CCM de flujo ascendente. La CCM consistió en una columna vertical empacada con grafito granular, por donde se hacía pasar el afluente desde la parte inferior del reactor. La columna se recubrió con la MIP de Ultrex y en su exterior se recubrió con tela de grafito.

De igual manera, He et al. (2005) desarrollaron una CCM de flujo ascendente que consistía de dos compartimentos (cámara anódica y catódica) separados por una MIP. En el compartimento inferior se colocó el ánodo y en el superior el cátodo, los cuales fueron de carbón vítreo reticulado (CVR). En la parte inferior se suministró el afluente que se eliminaba antes de llegar a la MIP y en la parte superior se suministró el catolito.

Más detalles de estas investigaciones se presentan en la Tabla 1.4.

Tabla 0 Datos obtenidos de CCM de flujo ascendente

Ánodo/ Cátodo	Fieltro de grafito	Grafito granular/ malla de grafito	Carbón vítreo
Membrana	No	Si (Ultrex)	Si
Sustrato	Agua residual artificial (glucosa y glutamato)	Acetato Glucosa Agua residual	Agua residual artificial (Sucrosa)
Inóculo	Lodo activado (planta de tratamiento de aguas)	Microorganismos de una CCM activa	Lodo granular anaerobio (tratamiento de aguas residuales de una fábrica de cerveza)
Mediador	No	Ferrocianuro de potasio	No
Potencia eléctrica	1.3 mW/m ²	52 ± 10 W/m ³ 49 ± 8 W/m ³ 8 ± 5 W/m ³	170 mW/m ²
Referencia	Jang <i>et al.</i> , 2003	Rabaey <i>et al.</i> , 2005	He <i>et al.</i> , 2005

1.8.1 Microorganismos empleados en las CCM

La producción de energía eléctrica en una CCM se genera de manera similar a una celda electroquímica, a diferencia de que las CCM utilizan microorganismos como catalizadores en la superficie del ánodo. No obstante, los microorganismos no son catalizadores verdaderos, puesto que obtienen su energía a partir de la oxidación de los sustratos para mantener su crecimiento. Por otra parte, debido a que los microorganismos pueden

mantener su crecimiento por medio de la oxidación de los compuestos orgánicos en una CCM, esta tecnología puede ser sustentable (Lovley, 2006).

Los microorganismos que contribuyen a la producción de la electricidad son denominados electrogénicos y son aquellos que conservan energía para su crecimiento por medio de la oxidación completa de compuestos orgánicos a CO₂ con la transferencia de los electrones hacia el electrodo (ánodo) (Lovley y Nevin, 2008). Se ha encontrado que una amplia gama de microorganismos provenientes del medio ambiente, como los sedimentos marinos, suelos, aguas residuales y lodos activados, cuentan con afinidad a los electrodos en las CCM para la producción de energía eléctrica. Del mismo modo, se ha reportado que los cultivos mixtos tienen un mejor desempeño en la oxidación de la materia orgánica ya que permiten una amplia y mejor utilización de los sustratos (Du *et al.*, 2007).

En diversos estudios se ha reportado una gran proporción de bacterias de la familia Geobacteraceae en la comunidad microbiana que coloniza el ánodo, cuando las CCM son inoculadas con sedimentos marinos, (Bond y Lovley, 2003; Lovley, 2006; Debabov, 2008). Estos microorganismos tienen la capacidad de transferir sus electrones directamente a aceptores insolubles, como sería el ánodo. De igual forma, las especies de Geobacteraceas como *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens*, *Geobacter psychrophilus*, *Desulfuromonas acetoxidans* y *Geopsychrobacter electrodiphilus* oxidan los compuestos orgánicos hasta CO₂ recuperando la mayor parte de los electrones, provenientes de la oxidación, para la generación de energía eléctrica.

Por otro lado, los electrodos de las CCM inoculadas con sedimentos marinos con altas concentraciones de sulfato, son colonizados con especies de la familia *Desulfobulbaceae*. Estos microorganismos oxidan el sulfato a S⁰ utilizando el ánodo como aceptor de electrones para la generación extra de electrones (Lovley, 2006).

Así mismo, el sistema de transporte de electrones de los microorganismos en las CCM es de gran importancia en el desempeño de estos sistemas para la producción de energía eléctrica.

1.8.2 Mecanismos de transporte de electrones en las CCM

Por su parte la generación de energía en las CCM se produce cuando los microorganismos cambian de un aceptor terminal de electrones natural, como el oxígeno o el nitrato, a un aceptor insoluble como es el ánodo de las CCM (Rabaey y Verstraete, 2005).

La transferencia de los electrones, de los microorganismos al ánodo, puede ser de manera directa o indirecta, por medio de mediadores de electrones.

- **Transferencia directa de electrones:** este proceso se realiza cuando cierto tipo de microorganismos producen sus propios mediadores de electrones que promueven la transferencia extracelular de electrones. Un ejemplo de estos microorganismos es la familia de las *Geobacteraceae* ya que pueden transferir sus electrones directamente al electrodo mediante enzimas activas, como los citocromos, que poseen dentro de su membrana celular (Liu y Logan 2004).
- **Transferencia indirecta:** en la transferencia indirecta se involucran productos metabólicos reducidos electroquímicamente activos, los cuales actúan como transportadores de electrones. Los mediadores en estado oxidado son capaces de atravesar la membrana celular para aceptar los electrones dentro de ella quedando en estado reducido (Du *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2011).

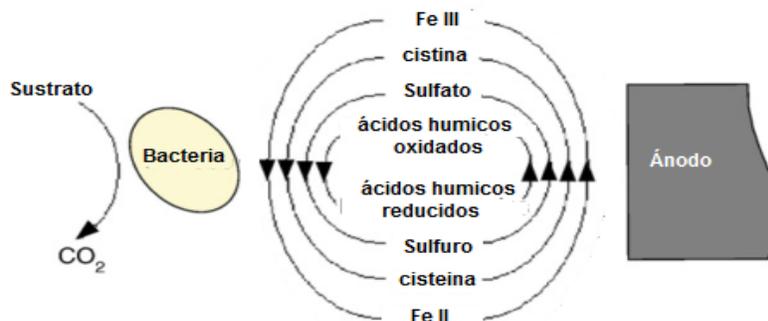


Figura 0 Interacción de algunos productos metabólicos reducidos con el ánodo y los microorganismos Du *et al.* (2007).

Estos mediadores transportan los electrones hasta la superficie del ánodo, oxidándose nuevamente por compuestos o microorganismos en la cámara anaerobia (Ieropoulos *et al.*, 2005). Algunos de los productos metabólicos reducidos utilizados se ilustran en la Figura 1.5. Estos productos son oxidados abióticamente en la superficie del ánodo para proporcionar electrones. El H₂S es un producto reducido del metabolismo anaerobio reacciona fácilmente con los electrodos y estudios anteriores han demostrado la generación de energía en CCM utilizando reductores de sulfato (Kim *et al.*, 2004; Lovley, 2006)

1.9 Empleo de la SR biológica para la generación de energía eléctrica en las CCM

Uno de los mecanismos para la transferencia de los electrones en la cámara anaerobia de las CCM, es la transferencia indirecta mediante la utilización de compuestos reducidos del metabolismo anaerobio. Por su parte, la SR es un ciclo donde las BSR utilizan el S⁰ o el SO₄²⁻ como aceptores de electrones produciendo H₂S, el cual es un compuesto reducido que reacciona fácilmente con los electrodos (Lovley, 2006a).

De igual manera, se ha reportado la generación de energía eléctrica en CCM inoculadas con BSR provenientes de sedimentos marinos (Bond *et al.*, 2002; Mathis *et al.*, 2008). Las BSR que habitan en las cámaras anaerobias de las CCM, degradan los sustratos orgánicos mediante la SR biológica generando H₂S. Este producto, reacciona abióticamente con los electrodos generando dos electrones y S⁰. Por otra parte, microorganismos de la familia *Desulfobulbaceae*, como *Desulfobulbus propionicus* que habitan en sedimentos marinos con altas concentraciones de sulfato, oxidan el S⁰ a SO₄²⁻ utilizando el ánodo como único aceptor de electrones generando seis electrones más y regenerando el SO₄²⁻ como aceptor de electrones para la posterior reducción microbiana, como se muestra en la Figura 1.6 (Lovley, 2006).

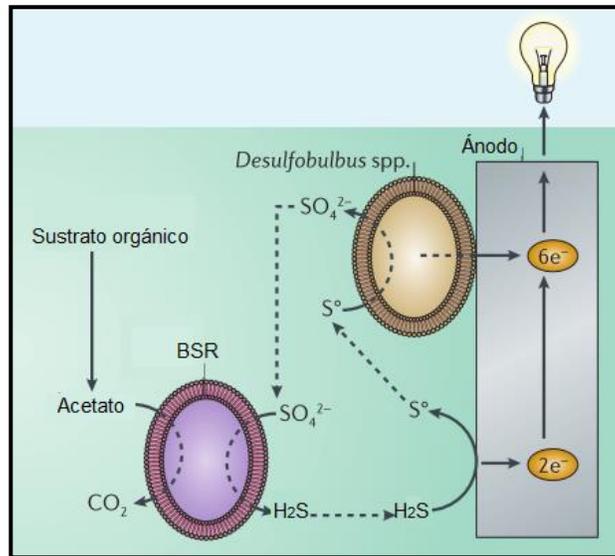


Figura 0 Mecanismo por el cual los compuestos de azufre reducidos pueden contribuir a la producción de electricidad en las CCM (Lovley 2006a).

La generación de energía eléctrica por medio de las CCM es bastante reconocida, ya que diversos estudios se han encargado de optimizar las condiciones para que estos dispositivos puedan generar mayor cantidad de energía y con mayor eficiencia, sin embargo el desarrollo para su aplicación práctica avanza lentamente. Para esto, es preferible que las CCM sean adecuadas para funcionar bajo condiciones del ambiente natural al cual se las quiera emplear.

Actualmente, las CCM con mayor oportunidad de aplicación práctica son las CCM inoculadas con sedimentos marinos, ya que producen energía a partir de la materia orgánica almacenada en los sedimentos acuáticos anóxicos junto con la reducción del oxígeno en el área superficial de la columna de agua. Los electrones son generados a partir del metabolismo de los microorganismos que habitan estos sedimentos, como las BSR, mientras que el transporte de los electrones de los microorganismos al ánodo es realizado de manera directa por los mismos microorganismos y por la oxidación del H₂S producido por el metabolismo de las BSR, por lo que no es necesario la adición de microorganismos

exógenos o mediadores de electrones artificiales (Tender *et al.*, 2002; Franks y Nevin, 2010).

La primera aplicación que se le dio a este tipo de CCM fue en el 2008, en la cual estos dispositivos se utilizaron para el suministro de energía a boyas meteorológicas capaces de medir la temperatura del aire y del agua, presión, humedad relativa, así como la transferencia de los datos en línea a tiempo real

Estos dispositivos son llamados BUGs (Benthic Unattended Generator), los cuales generan energía a partir de la materia orgánica almacenada en los sedimentos acuáticos y mediante la oxidación del H₂S producido por el metabolismo de las BSR (Tender *et al.*, 2002). Otras de las aplicaciones que se le han dado es en el suministro de energía a dispositivos electrónicos, tales como los equipos de vigilancia, en el fondo del océano y en otros ambientes acuáticos (Lovley, 2006a).

JUSTIFICACIÓN

Debido a la creciente problemática relacionada con la obtención de energía a partir de combustibles fósiles y la contaminación del medio ambiente que ésta genera, es necesario la implementación de nuevas fuentes sustentables de energía alternativa. Actualmente, las CCM han venido generando mayor interés debido a que tienen la capacidad de convertir la materia orgánica (aguas residuales) en energía eléctrica en un solo paso a partir de la degradación anaerobia de compuestos orgánicos, mediante la utilización de microorganismos y compuestos reducidos como el H_2S , proveniente de la SR, para la generación de energía eléctrica. Por su parte, diferentes investigaciones ha reportado el potencial uso del H_2S en las CCM como mecanismos para la transferencia de electrones ya que es un compuesto que reacciona fácilmente con los electrodos; sin embargo, hasta ahora son pocos los estudios que reportan el empleo del H_2S en las CCM. Por otra parte, los reactores UASB son los sistemas más utilizados en la actualidad para la degradación de materia orgánica y la remoción de sulfato (SO_4^{2-}), ya que por sus características realizan éste proceso de manera eficiente.

Una de las aplicaciones más prometedoras de las CCM es el tratamiento de aguas residuales y la generación simultánea de energía eléctrica. Por lo que, el estudio de la utilización de un reactor UASB acoplado a CCM, utilizando la SR como mecanismo de generación de energía puede contribuir a la remoción de compuestos de azufre en aguas residuales generando energía eléctrica sustentable a partir de este proceso.

HIPÓTESIS

Es factible el empleo de un lodo sulfurogénico en un biorreactor-celda UASB para llevar a cabo el proceso de sulfato reducción y la remoción de materia orgánica para promover la transferencia de electrones al ánodo y por consiguiente obtener la producción de energía eléctrica.

OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Generar energía eléctrica a partir del proceso de reducción de sulfato en un reactor UASB adaptado a configuración de celda.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Proponer un sistema de reactor-celda para la generación de energía a partir del proceso de sulfato reducción.
- ❖ Estudiar el desempeño del reactor-celda durante la generación de energía eléctrica a partir del proceso de reducción de sulfato reducción.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Estrategia experimental

Los pasos que se siguieron para la obtención del reactor UASB-celda se describen de manera resumida en la figura 5.1, en la cual inicialmente, el inóculo se adaptó a condiciones de temperatura ambiente, pH neutro, concentraciones de AGV y SO_4^{2-} . Posteriormente, éste se transfirió a un reactor UASB para propiciar las condiciones de SR. Finalmente, el inóculo activo se transfirió a un reactor UASB adaptado a configuración de celda en el cual se realizaron las mediciones de generación de energía eléctrica. En cada etapa se realizó la medición de temperatura, pH, concentración de AGV y SO_4^{2-} .

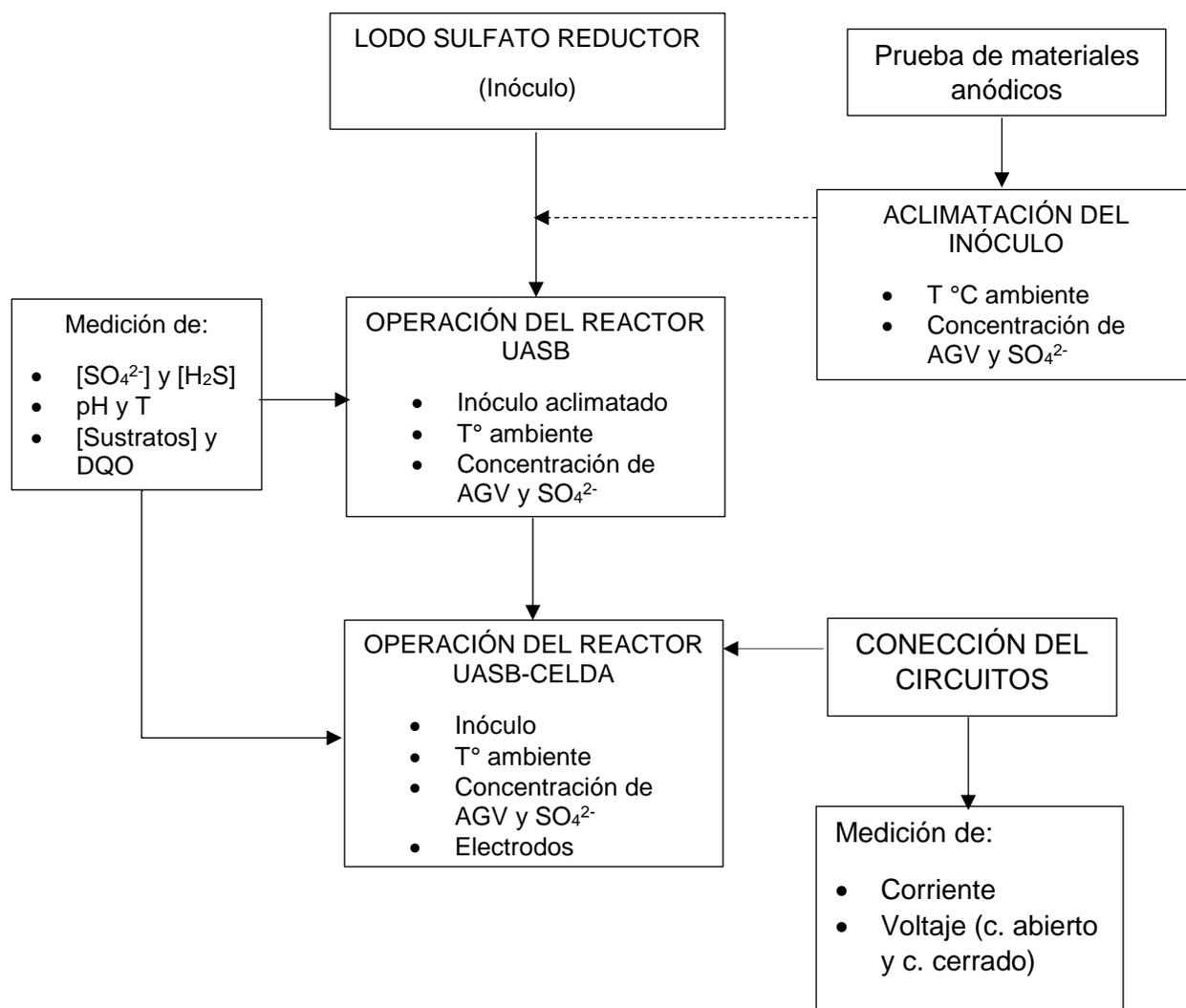


Figura 5.1 Esquema de la estrategia experimental utilizada

3.2 Material biológico y cultivo

3.2.1 Inóculo

Como inóculo se empleó un consorcio microbiano a partir de sedimentos marinos provenientes de una ventila hidrotermal ubicada en Nayarit, México. La muestra fue colectada en bolsas de plástico oscuras y posteriormente almacenadas a 4 °C; el valor de los sólidos suspendidos volátiles fue de 0.037 g SSV/g sedimento húmedo y pH de 8.91 (Guerrero-Barajas y García-Peña, 2010). De igual manera se utilizó una muestra de lodo sulfato reductor proveniente de un reactor UASB (semilla) operado bajo concentraciones de SO_4^{2-} , con AGV como sustrato y temperatura ambiente.

3.2.2 Medio basal

Para el cultivo del inóculo se utilizó un medio basal mineral que contenía lo siguiente en g/L: 0.02 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.166 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2 NaCl, 0.56 NH_4Cl y 0.04 extracto de levadura. A este medio se le adicionaron vitaminas y metales traza (Anexo 1) a 10 mL/L y 2 mL/L, respectivamente.

Al momento de la alimentación del inóculo, se tomó un volumen del medio basal al cual se le adicionó una concentración de AGV como sustratos (donadores de electrones) y SO_4^{2-} (aceptor de electrones).

3.3 Métodos analíticos empleados

3.3.1 Determinación de sulfuro de hidrógeno disociado (H_2S)_{liq}

La determinación del sulfuro en el líquido o disociado (HS^-) se realizó por triplicado mediante el método de azul de metileno de acuerdo a la APHA (1999) y por Trüper y Schlegel (1964). Las muestras se midieron en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys 10 Vis) a una longitud de onda de 670 nm.

3.3.2 Determinación del ion sulfato (SO_4^{2-})

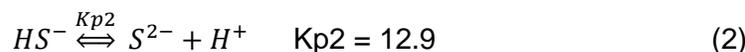
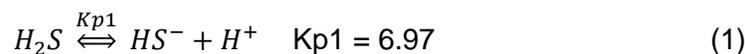
Para la determinación de la concentración del ion sulfato se utilizó un método turbidimétrico reportado en la Norma Mexicana NMX-AA-074-1981, la cual consiste en la precipitación del ion sulfato con cloruro de bario, en un medio ácido, formando cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme. Las determinaciones se realizaron por triplicado y su absorción espectral se midió mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 420 nm.

3.3.3 Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases

La concentración de AGV (Acético, Propiónico y Butírico) se determinó por cromatografía de gases con un detector de ionización a la flama (FID) utilizando un cromatógrafo marca SRI modelo 8610C y empleando una columna marca Restek MXT-1; se utilizó nitrógeno (N_2) como gas acarreador a una presión de 10 psi, hidrógeno (H_2) a 20 psi y aire a 5 psi. El programa utilizado para la separación de los compuestos fue el siguiente: 70 °C durante 1 minuto, posteriormente se incrementó la temperatura 12 °C por minuto hasta alcanzar 180 °C.

3.3.4 Determinación de sulfuro de hidrógeno no disociado (H_2S)_{aq}

La concentración del sulfuro no disociado $\text{H}_2\text{S}(\text{aq})$ se determinó de acuerdo al pH que presentaba la muestra, utilizando el diagrama de proporción de $\text{H}_2\text{S}(\text{aq})$ y $(\text{H}_2\text{S})_{\text{liq}}$ en sulfuro disuelto, que se presenta en la figura 5.2, ya que las especies de sulfuro están en función del pH (Lewis, 2010). Las ecuaciones 1 y 2 muestran las diferentes especies de sulfuro ($\text{H}_2\text{S}(\text{aq})$, $\text{H}_2\text{S}(\text{liq})$ y S^{2-}), así como sus respectivas constantes de disociación (pK_a) a 25°C (Kaksonen y Puhakka 2007).



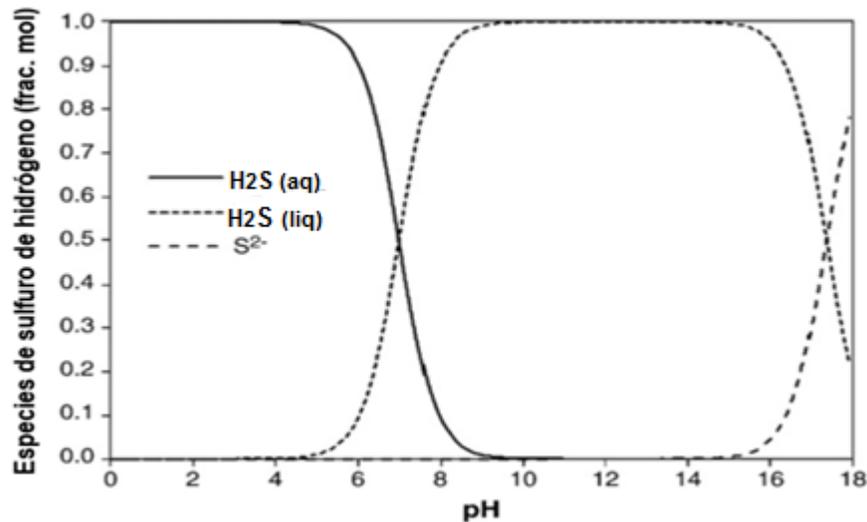


Figura 5.2 Esquema de especies de H₂S como función de su pH. Modificada de Lewis (2010).

Para la determinación del H₂S_(aq) se utilizaron las ecuaciones 3 y 4.

$$[H_2S] = \frac{[H_2S]^*}{H * F + \frac{1}{\alpha_0}} \quad (3)$$

$$\alpha_0 = \frac{1}{10^{(pH - pK_a)} + 1} \quad (4)$$

Donde:

$[H_2S]^*$ = Concentración total de H₂S a la entrada en el sistema, que resulta de la conversión total del sulfato a H₂S (concentración inicial de sulfato en la alimentación, mol/L)

H = constante de Henry 0.4722 a 37°C (adimensional)

F = volumen de espacio gaseoso en el reactor / volumen de líquido en el reactor (adimensional)

La medición del biogás producido se obtuvo mediante el desplazamiento de una columna de agua con capacidad de 1 L, la cual se conectó a la parte superior del reactor. La concentración del H₂S en el biogás se determinó asumiendo el equilibrio entre el gas y el líquido utilizando la ecuación 5 (Guerrero-Barajas y García-Peña 2010).

$$[H_2S]_{gas} = [H_2S] * H * F \quad (5)$$

Donde:

$[H_2S]_{gas}$: concentración de sulfuro en el gas (mol/L)

$[H_2S]$: concentración de sulfuro no disociado en el líquido (mol/L)

H : constante de Henry 0.4722 a 37°C (adimensional)

F : volumen de espacio gaseoso en el reactor / volumen de líquido en el reactor (adimensional)

3.4 Aclimatación del inóculo

Esta primera etapa tuvo como fin la adaptación de los microorganismos en el consorcio a concentraciones de los sustratos (AGV), SO_4^{2-} y temperatura ambiente, así como el incremento de biomasa.

Para esta etapa, se utilizó un frasco de vidrio con tapa de rosca (Kimax Kimble) con una capacidad de 2 L, el cual se inoculó con 200 g de sedimento marino húmedo y 100 g de lodo sulfato reductor, equivalentes a 0.028 g SSV/g sedimento húmedo. El inóculo se alimentó con agua residual sintética (ARS) que consistió en medio mineral (sección 6.2.2) cuya fuente de carbono (donadores de electrones) fue una mezcla de AGV (acético, propiónico y butírico) a una concentración final de 4 g DQO/L (proporción 2.5:1:1 como DQO respectivamente) y SO_4^{2-} (aceptor de electrones) en forma de $NaSO_4$ a una concentración final de 6 g/L. El frasco de vidrio con el inóculo se llenó con el ARS hasta su totalidad para propiciar condiciones anaerobias y se incubó a temperatura ambiente con agitación de 150 rpm.

La alimentación de medio nuevo (ARS y SO_4^{2-}) a la botella con el inóculo, se realizó en lote conforme al procedimiento siguiente. Una vez terminado el lote, la botella se quitó de la agitación y se esperó a que sedimentaran las partículas del medio; posteriormente, éste se eliminó y se adicionó medio con las concentraciones iniciales de AGV y SO_4^{2-} /L. La botella se llenó hasta su totalidad, se cerró y nuevamente se incubó a temperatura ambiente y agitación.

Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- y DQO cada 42 hr. para determinar el consumo de SO_4^{2-} y producción de HS^- , así como la medición del pH y temperatura utilizando un potenciómetro marca Oakton pH/CON S10 Series. En esta etapa no se midió el biogás debido a la configuración del recipiente.

3.5 Transferencia del inóculo al reactor UASB

3.5.1 Establecimiento del reactor UASB

Una vez aclimatado el inóculo a las condiciones anteriores, éste se transfirió a un reactor UASB de vidrio templado con una altura de 32 cm, un diámetro interno de 8.5 cm y una capacidad de 1.5 L. Las características y medidas del reactor se muestran en la figura 5.2. Para la recirculación del medio en el reactor y para mantener fluidizado el inóculo, se utilizó una bomba peristáltica Masterflex L/S 7557-00, cabezales Masterflex 07018-52 y mangueras Tygon de 18 mm de diámetro. Igualmente, se utilizó una columna de acrílico de un volumen de 1 L, para la medición del biogás producido.

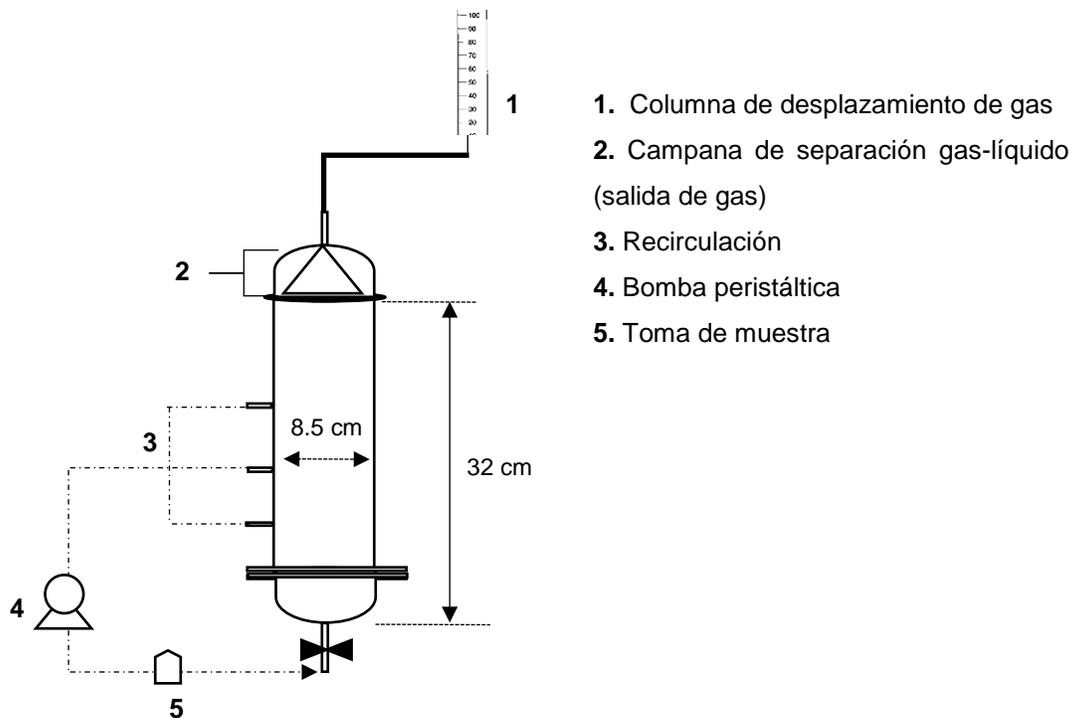


Figura 5.2 Esquema del reactor UASB

3.5.2 Operación del reactor UASB

Para la transferencia del inóculo (sedimento más lodo sulfato reductor) aclimatado de la botella al reactor UASB, inicialmente se separaron las partículas de mayor tamaño del sedimento con un tamiz de número de malla 10. El inóculo tamizado tuvo un peso final de 222.8 g equivalentes a 0.017 g de SSV/g sedimento húmedo. El inóculo se alimentó con ARS donde los sustratos fueron una mezcla de AGV (acético, propiónico y butírico) a una concentración final de 2 g DQO/L (proporción 2.5:1:1 como DQO, respectivamente) y como aceptor de electrones se adicionó SO_4^{2-} en forma de NaSO_4 a una concentración final de 3 g/L. El ARS se introdujo al reactor y se llevó al volumen final con medio mineral. La operación del reactor se realizó en lote alimentado y el ARS se reemplazó una vez que se determinó una concentración menor a 200 mg SO_4^{2-} /L en el medio. Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- cada 42 hr para determinar el consumo de SO_4^{2-} y producción de HS^- así como la medición del pH y temperatura.

3.5.3 Operación del reactor UASB

Para la transferencia del inóculo (sedimento más lodo sulfato reductor) aclimatado de la botella al reactor UASB, inicialmente se separaron las partículas de mayor tamaño del sedimento con un tamiz de número de malla 10. El inóculo tamizado tuvo un peso final de 222.8 g equivalentes a 0.017 g de SSV/g sedimento húmedo. El inóculo se alimentó con ARS donde los sustratos fueron una mezcla de AGV (acético, propiónico y butírico) a una concentración final de 2 g DQO/L (proporción 2.5:1:1 como DQO, respectivamente) y como aceptor de electrones se adicionó SO_4^{2-} en forma de NaSO_4 a una concentración final de 3 g/L. El ARS se introdujo al reactor y se llevó al volumen final con medio mineral. La operación del reactor se realizó en lote alimentado y el ARS se reemplazó una vez que se determinó una concentración menor a 200 mg SO_4^{2-} /L en el medio. Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- cada 42 hr para determinar el consumo de SO_4^{2-} y producción de HS^- así como la medición del pH y temperatura.

3.6 Transferencia del inóculo al reactor UASB-celda

Posteriormente a la aclimatación del inóculo a las condiciones del reactor UASB, éste se transfirió a un reactor UASB adaptado a configuración de CCM.

3.6.1 Establecimiento del reactor UASB-celda

Para esta etapa se realizó el diseño de un sistema de CCM, combinando las características de un sistema UASB con los requerimientos de una celda de combustible de doble cámara.

Características de UASB

El reactor fue hecho de vidrio templado con una altura total de 57 cm y un diámetro interno (Di) de 8 cm, como se muestra en la figura 5.3. Así también, la entrada del afluente se realizó por la parte inferior del reactor, el cual se recirculó utilizando una bomba peristáltica Masterflex L/S 7557-00, cabezales Masterflex 07018-52 y mangueras Tygon de 18 mm de diámetro. La salida del biogás se obtuvo de la parte superior, el cual se midió por el desplazamiento de una columna de agua con capacidad de 1 L, conectada al reactor.

Características de CCM

La celda se conformó por una cámara anódica y una cámara catódica, las cuales fueron resultado de una estrangulación en el cuerpo del reactor, además de que no se utilizó membrana de intercambio de protones para dividir las.

La cámara catódica se localizó en la parte superior del reactor, con unas medidas de 11 cm de largo y 8 cm de Di; en esta cámara no se colocó medio mineral, sino que consistió únicamente de espacio gaseoso, el cual fue el biogás producido (figura 5.3).

La cámara anódica se localizó en la parte inferior del reactor la cual contaba con un volumen de operación de 1 L y medidas de 21 cm de largo y 8 cm de Di; en esta cámara se colocó el inóculo y se alimentó con ARS, la cual contenía el donador y el aceptor de electrones (figura 5.3).

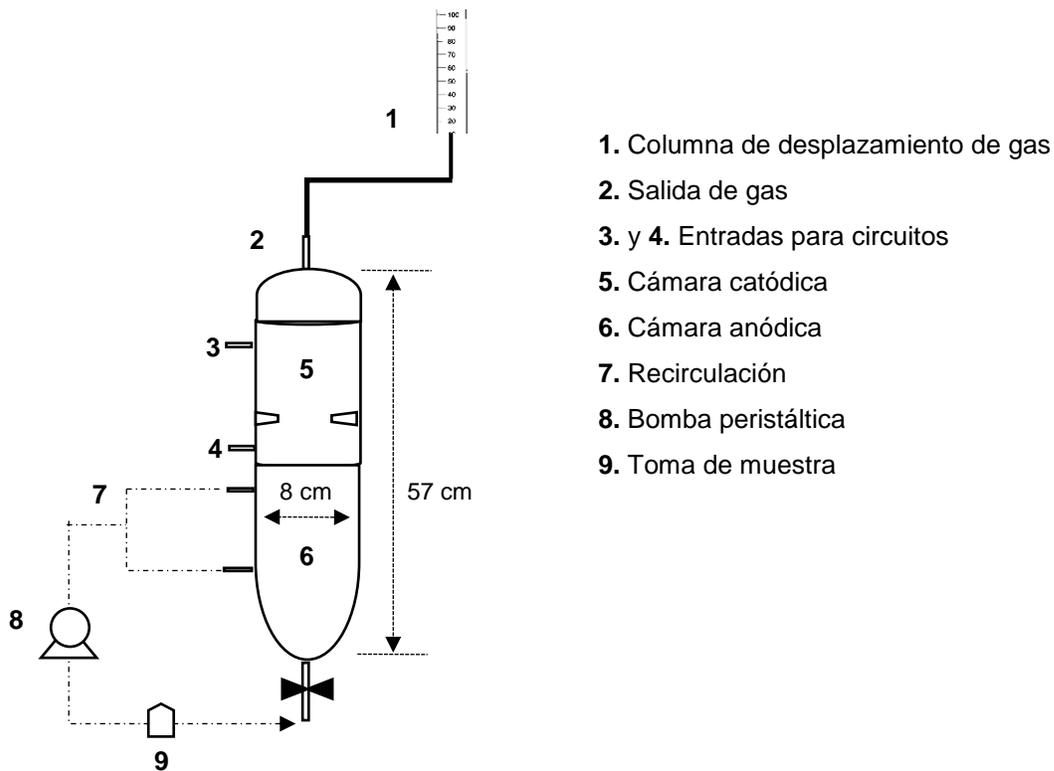


Figura 5.3 Esquema del reactor UASB

Igualmente, en esta cámara se utilizó únicamente el HS^- producido por las BSR durante los lotes, como mediador de electrones entre los microorganismos y el ánodo.

Como electrodos se utilizaron barras de grafito, ya que este material es conductor de la electricidad y no reacciona con el H_2S producido, ni con los AGV adicionados al medio. El diseño de los electrodos consistió de una barra de 8 cm de alto y 6 cm de diámetro, a la cual se le realizaron doce perforaciones longitudinales de 1 cm de diámetro (figura 5.4); esto con el fin de obtener una mayor superficie de contacto donde se lleven a cabo las reacciones, y en el caso particular del ánodo, para la formación de biopelícula, así como para facilitar el paso del afluente en la cámara anódica y evitar la obstrucción.

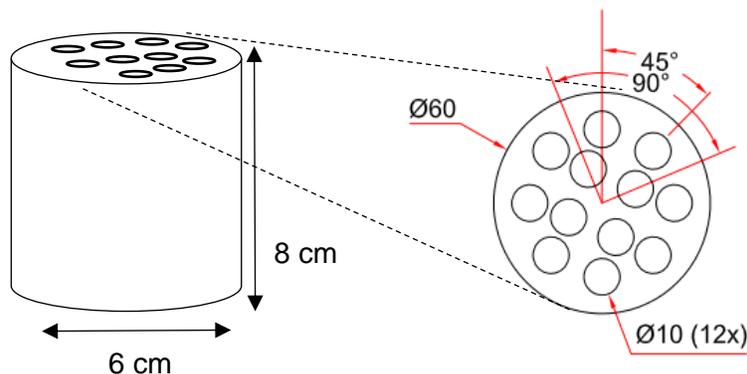


Figura 5.4 Configuración de electrodos (ánodo y cátodo)

A los electrodos se les realizó un tratamiento ácido-base previo a su colocación en el reactor-celda. Ambos se lavaron con una solución de NaOH 1M durante 24 hr, seguido de esto se enjuagaron con agua destilada y posteriormente se lavaron con una solución de HCl 1M durante 24 hr. Finalmente, los electrodos se enjuagaron con agua destilada y se secaron a 100 °C durante 1 h.

El área superficial de cada electrodo fue de 490.05 cm² la cual se obtuvo como se describe en el anexo 2.

De igual manera, para las conexiones del circuito se utilizaron cables de cobre y acero inoxidable.

3.6.2 Operación del reactor UASB-celda

En esta etapa, el inóculo (sedimento más lodo sulfato reductor) utilizado en el reactor UASB, fue transferido al reactor UASB-celda. Anteriormente a esto, el inóculo se tamizó con una malla No. 10 para la remoción de partículas de mayor tamaño, esto para evitar la obstrucción del paso del afluente en la cámara anódica. El inóculo tuvo un peso final de 200 g, equivalentes a 0.023 g de SSV/g de sedimento húmedo. De la misma manera, los electrodos de grafito se colocaron en el reactor; el ánodo se sumergió en la cámara anódica donde se depositó en la superficie de el inóculo y el cátodo se colocó en la cámara catódica en la parte superior, sobre la estrangulación en el reactor.

La cámara anódica se llenó con en el ARS, la cual cubrió completamente al ánodo. Ésta consistió de medio mineral, donde los donadores de electrones fueron AGV (acético, propiónico y butírico) a una concentración final de 4 g DQO/L (proporción 2.5:1:1 como DQO respectivamente) y SO_4^{2-} (aceptor de electrones) en forma de NaSO_4 a una concentración final de 6 g/L. La operación del reactor se realizó en lote alimentado y el ARS se reemplazó una vez que se determinó una concentración menor a 200 mg SO_4^{2-} /L en el medio. Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- y AGV por cromatografía.

La operación del reactor UASB-celda tuvo dos etapas, la primera consistió en la aclimatación del inóculo al ánodo y a la operación de la celda a circuito abierto. La segunda etapa consistió en la operación de la celda a circuito cerrado donde se llevó a cabo la medición de energía eléctrica.

Etapas 1. Aclimatación del inóculo al reactor UASB-celda y medición de voltaje a circuito abierto (V_{ocp})

En esta etapa se realizó una serie de cultivos en lote con las descripciones anteriores (sección 6.6.2), con el fin de que el inóculo se adaptara al ánodo para la formación de biopelícula. Los electrodos se mantuvieron operando a circuito abierto durante los días de operación del lote, y durante éste, se monitorio el V_{ocp} , utilizando un multímetro marca Fluke® modelo 289, para determinar el tiempo en que llegaba a estabilizarse. Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- , T, pH y AGV cada 42 hr.

Etapas 2. Operación del reactor UASB-celda a circuito cerrado

En esta etapa se realizaron lotes con las descripciones anteriores (sección 6.6.2), donde se realizó la conexión del circuito para llevar a cabo las mediciones de generación de energía eléctrica. En este proceso se realizó primeramente una curva de polarización y posteriormente se realizó la medición de densidad de corriente y potencia eléctrica. Al medio se le realizaron determinaciones de concentración de SO_4^{2-} , HS^- , T, pH y AGV cada 24 hrs durante siete días. Como control negativo en esta etapa se realizó un lote sin la adición de acepto de electrones (SO_4^{2-})

3.7 Cálculos y mediciones de generación de energía eléctrica en el reactor UASB-celda

3.7.1 Cálculo de la diferencia de potencial eléctrico en la celda (E_{emf})

El potencial teórico de la celda (E_{emf}) o fuerza electromotriz, se calculó a partir de la diferencia de los potenciales entre el cátodo ($E_{cátodo}$) y el ánodo ($E_{ánodo}$). Estos se calcularon mediante la ecuación de Nernst y de acuerdo a las posibles reacciones en el equilibrio, generadas en las cámaras anódica y catódica que se muestran en la tabla 5.1.

Tabla 5.1 Reacciones generadas en la cámara catódica y anódica

Compuesto de oxidación-reducción	Reacción
Cátodo	
Oxígeno/Agua	$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$
Ánodo	
Sulfato-Acetato	$2 SO_4^{2-} + 2 CH_3COO^- + H^+ \rightarrow HS^- + H_2S + 4 HCO_3^- + 2 H_2O$
Sulfato-Propionato	$15 SO_4^{2-} + 8 CH_3CH_2COO^- + 14.5 H^+ \rightarrow 7.5 HS^- + 7.5 H_2S + 24 HCO_3^- + 4 H_2O$
Sulfato-Butirato	$22 SO_4^{2-} + 8 CH_3CH_2CH_2COO^- + 25 H^+ \rightarrow 11 HS^- + 11 H_2S + 32 HCO_3^- + 8 H_2O$
Sulfato/Sulfuro	$\frac{1}{8} SO_4^{2-} + \frac{19}{16} H^+ + e^- \rightarrow \frac{1}{16} HS^- + \frac{1}{16} H_2S + \frac{1}{2} H_2O$

Thauer *et al.* (1977); Rittman y McCarty (2001); Verstraete y Rabaey (2006)

El cálculo del potencial (E) para el ánodo y el cátodo se realizó utilizando la ecuación de Nernst, como se describe a continuación:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln(\Pi) \quad (\text{Logan, 2008; Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (6)$$

$$\Pi = \frac{[\text{Productos}]^p}{[\text{Reactivos}]^r} \quad (\text{Logan, 2008; Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (7)$$

Donde:

E° = potencial estándar (V)

R = constante de los gases (8.31 J/mol-°K)

T = temperatura absoluta (°K)

n = número de electrones transferidos

F = constante de Faraday (96,485 C/mol)

Π = cociente de las concentraciones de los productos entre los reactivos* (adimensional)

p y r = coeficientes estequiométricos

Las concentraciones de los productos y reactivos de cada reacción se encuentran en el anexo 3.

Para la obtención de los E° , inicialmente se realizó el cálculo de la energía libre (ΔG_r°) para cada reacción generada en el ánodo y en el cátodo, donde se empleó las energías de formación (ΔG_f°) de cada producto y reactante (Anexo 4), utilizando la ecuación 8.

$$\Delta G_r^\circ = \Sigma \Delta G_f^\circ(\text{productos}) - \Sigma \Delta G_f^\circ(\text{reactantes}) \quad (\text{Madigan et al., 2003}) \quad (8)$$

Posteriormente, los E° de cada reacción se obtuvieron a partir de la ecuación 9

$$E^0 = -\frac{\Delta G_r^0}{nF} \quad (\text{Logan, 2008; Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (9)$$

Donde:

E° = potencial estándar (V)

ΔG_r° = energía libre de reacción (J)

n = número de electrones transferidos

F = constante de Faraday (96,485 C/mol)

Una vez obtenidos los potenciales de los electrodos, se aplicó la ecuación 10 para obtener el potencial total con cada reacción en la celda.

$$E_{emf} = E_{cátodo} - E_{ánodo} \quad (\text{Logan 2008; Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (10)$$

3.7.2 Curva de polarización

La curva de polarización se realizó utilizando cinco resistencias eléctricas por separado, las cuales fueron de 100 Ω , 470 Ω , 820 Ω , 1560 Ω y 2850 Ω , para la determinación de la máxima potencia eléctrica generada en la celda. El monitoreo de las mediciones eléctricas se obtuvo utilizando multímetro marca Fluke® modelo 289.

Este proceso comenzó al día cero de operación del lote (alimentación del ARS al reactor), en el cual se inició con la medición del V_{ocp} hasta su estabilización. Posteriormente, el circuito se cerró con una resistencia y se comenzó con la medición de corriente eléctrica hasta que la caída de la carga se estabilizó. El voltaje se obtuvo a partir de la ley de Ohm descrita en la ecuación 10, utilizando la corriente medida y la resistencia externa empleada.

$$V = I * R_{ext} \quad (\text{Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (11)$$

Donde:

V = voltaje a circuito cerrado (V)

I = corriente (mA)

R_{ext} = resistencia externa (Ω)

Una vez obtenido los datos de voltaje se procedió al cálculo de la potencia eléctrica utilizando la siguiente ecuación.

$$P = I * V \quad (\text{Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (12)$$

Donde:

P= potencia eléctrica (mW)

I= corriente (mA)

V= voltaje (V)

Con estos datos obtenidos, se graficó la corriente contra el voltaje para la obtención de la curva de polarización.

3.7.3 Cálculo de la eficiencia Coulómbica (E_c)

El cálculo del total de Coulombs obtenidos se realizó con la integración de la corriente a través del tiempo. Para esto, se llevó a cabo por duplicado la medición de corriente durante un lote, utilizando la resistencia con la que se obtuvo la máxima potencia eléctrica en la celda (sección 5.7.2). Con los datos obtenidos se utilizó la ecuación 12 para determinar la E_c de una CCM operada en lote durante un periodo de tiempo.

$$E_c = \frac{M \int_0^{t_l} I dt}{FbV_{an}\Delta DQO} \quad (\text{Logan 2008; Verstraete y Rabaey, 2006}) \quad (13)$$

Donde:

M= peso molecular (g/mol)

t_l = tiempo de duración del lote (min)

I= corriente medida (mA)

F= constante de Faraday

b= número de electrones intercambiados

V_{an} = volumen del líquido en la cámara anódica (L)

ΔDQO = cambio de la concentración del DQO durante el lote (mol)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Aclimatación del inóculo

Esta primera etapa tuvo como fin la aclimatación del inóculo (sedimento marino más lodo sulfato reductor) a ciertas condiciones que en los experimentos posteriores se iban a utilizar. Por tal motivo, el inóculo estuvo en pre cultivo en una botella hermética, con alimentación de ASR en la cual se utilizaba SO_4^{2-} (6 g/L) como aceptor de electrones y AGV (4 gDQO/L) como donadores de electrones. Inicialmente, en esta etapa se introdujeron esponjas metálicas junto con el inóculo dentro de la botella, para propiciar la formación de biopelícula en ellas, ya que éstas iban a servir como ánodo en el reactor celda. El proceso de esta etapa se muestra en la figura 6.1.

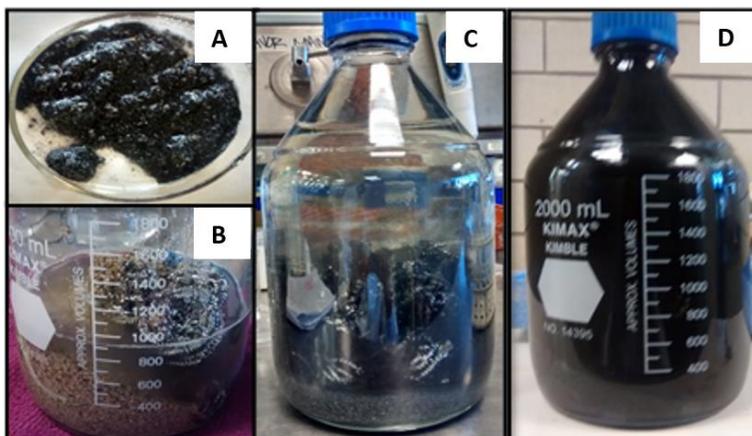


Figura 6.1 Aclimatación del inóculo. A) Lodo sulfato reductor; B) Sedimento marino y esponjas metálicas; C) Inóculo al inicio de la alimentación con ASR; D) Inóculo días después de la alimentación con ASR.

Los primeros días de la alimentación del inóculo con el ASR (día 0), el medio se observaba transparente e incoloro (figura 6.1C). Posteriormente, éste comenzó a presentar un color negro a la vez que se comenzó a intensificar el olor a H_2S (figura 6.1D). La aparición del color negro se debió a que, el H_2S producido por las BSR comenzó a interactuar con el hierro (Fe) presente en el medio (añadido con los metales traza), formando precipitados de sulfuro de hierro.

Tabla 6. 1 Desempeño de los cultivos en lote realizados en la aclimatación del inóculo

Lote	Días de Op.	Reducción de SO ₄ ²⁻ (%)	Conversión de SO ₄ ²⁻ a H ₂ S (%)	Consumo de sustratos (%)	Actividad sulfato reductora (mg DQO-HS ⁻ /g SSV*d)	pH	T (°C)
1	12	33	20.21	69.7	0.57	7.2 (±0.4)	19.7 (±1.7)
2	10	69.8	56.78	72.9	2.14	6.8 (±0.2)	23.7 (±1.6)
3	13	25.4	26.4	89.2	2.01	6.7 (±0.2)	20.5 (±1.6)
4	7	55.5	21.5	91.2	0.99	6.5 (±0.2)	24.7 (±1.0)
5	10	48.7	38.2	71.1	1.66	6.3 (±0.2)	27.3 (±5.7)
6	16	46.1	32	84.6	2.89	6.7 (±1.0)	24.6 (±1.6)

La formación de estos precipitados, dan un color negro al medio, el cual, es un indicador positivo del crecimiento y la actividad de las BSR (Bernardez y Lima, 2015). La alimentación del inóculo se realizó en cultivo en lote, eliminando el medio del cultivo anterior y reponiendo el medio con las concentraciones iniciales de sustratos y SO₄²⁻. En cada cultivo se realizaron determinaciones de concentración de SO₄²⁻, HS⁻, DQO, pH y temperatura al medio, para dar seguimiento al desempeño del inóculo. Estos resultados se muestran en la tabla 6.1.

Como se observa en la tabla 6.1, para la aclimatación del inóculo se realizaron 6 cultivos en lote, en los cuales, el medio de la botella se reemplazó el inóculo hasta el día en que se observaba el mayor porcentaje de reducción de SO₄²⁻ y consumo de sustratos. La duración de cada cultivo para alcanzar el mayor porcentaje de reducción de SO₄²⁻ fue de aproximadamente 12 días. También, se puede observar que el desempeño del inóculo mejoró del lote 1 al lote 2, sin embargo éste disminuyó en el lote 3; de manera simultánea, a partir de este cultivo se comenzó a observar una oxidación en las esponjas metálicas que se inocularon junto con el material biológico, la formación de pequeñas rocas y una coloración café en el medio (figura 6.2).

Kaksonen y Puhakka (2007) y Sánchez-Andrea *et al.* (2014) mencionan que el H₂S producido por las BSR (HS⁻) reacciona con diferentes metales (p. ej: Fe³⁺, Al³⁺) produciendo la precipitación de sulfuros metálicos insolubles como la pirita (FeS₂). Esto indica, que el HS⁻ producido en los cultivos estuvo reaccionando con los residuos de metales contenidos en las esponjas formando sulfuros metálicos, y en esta forma, el HS⁻ no es cuantificable con la técnica de azul de metileno (apartado 6.3.1) a lo que se le atribuye el bajo porcentaje de conversión de SO₄²⁻ a H₂S en los cultivos 3, 4, 5 y 6. De igual manera, estos autores mencionan que los cationes metálicos en grandes concentraciones, resultan tóxicos para las BSR, por lo que, probablemente se debió la disminución en la actividad sulfato reductora en el lote 4.

Por este motivo, las esponjas fueron retiradas después del lote 3, sin embargo los precipitados y algunas trazas de las esponjas no se pudieron remover completamente del inóculo, lo que afectó en el desempeño de los cultivos posteriores.

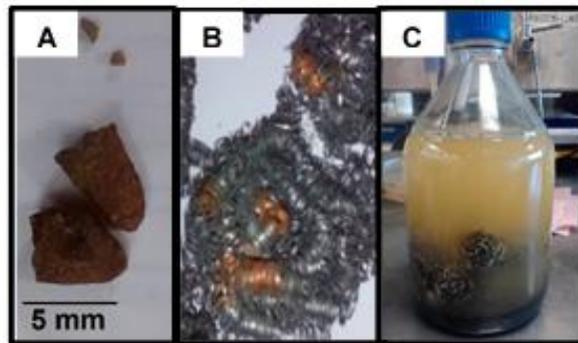


Figura 6.2 Observaciones en el lote 3 en la aclimatación del inóculo. A) Precipitados formados; B) Esponjas metálicas inoculadas en la botella; C) Coloración del medio al inicio del lote 3.

Por otra parte, la reducción de SO₄²⁻ fue menor al 60 % en la mayoría de los cultivos. Esto debido, por un lado, a que el recipiente donde se llevó a cabo este proceso limitaba los procesos de transferencia de masa, lo cual afectó en la homogenización del inóculo con el medio.

Así también, se observó una mayor presencia de H₂S no disociado que de H₂S disociado (HS⁻) en todos los cultivos, como se muestra en la tabla 6.2

Tabla 6.2 Concentraciones finales de H₂S disociado y H₂S no disociado en cada lote.

Lote	Concentración final del H ₂ S disociado (mg/L)	Concentración final del H ₂ S no disociado (mg/L)
1	32.4 ± 6	565.2
2	102 ± 4	1,101.7
3	180 ± 6	300.4
4	34.7 ± 2	421.5
5	101 ± 0.6	709.3
6	238 ± 64	439.8

Diferentes investigaciones mencionan que el H₂S no disociado presenta un efecto inhibitorio sobre la actividad de las BSR, debido a que en esta forma, el H₂S traspasa más fácilmente la membrana celular ocasionando la desnaturalización de proteínas por medio de la precipitación de los iones metálicos de sus sitios activos (Moosa y Harrison, 2006; Kaksonen y Puhakka, 2007; Sánchez-Andrea *et al.*, 2014). Este efecto, pudo haber ocasionado que la actividad sulfato reductora haya sido baja en todos los lotes, ya que otros autores reportan valores de 0.122, 0.45 y 2.1 g DQO-H₂S/g SSV*d utilizando ácidos grasos volátiles como sustrato (acético, propiónico, butírico) (Visser *et al.*, 1993; Omil *et al.*, 1996; Garcia-Solares *et al.*, 2014). Posterior al periodo de aclimatación, el inóculo se transfirió a un reactor UASB.

4.2 Desempeño del inóculo en el reactor UASB

Una vez finalizado el lote 6, el medio se mantuvo en la botella días después sin reemplazo con medio nuevo. Esto se realizó con el fin de obtener un mayor porcentaje de reducción de SO₄⁻², por lo que se continuó con el monitoreo del inóculo con respecto a la reducción de SO₄⁻² y a la producción de HS⁻. Posteriormente, el inóculo y el medio de la botella se transfirieron a un reactor UASB de 1.5 L, el cual fue conectado a una bomba peristáltica para la recirculación del medio. En la figura 6.3 se puede observar el desempeño del inóculo, antes y después de la transferencia al reactor UASB.

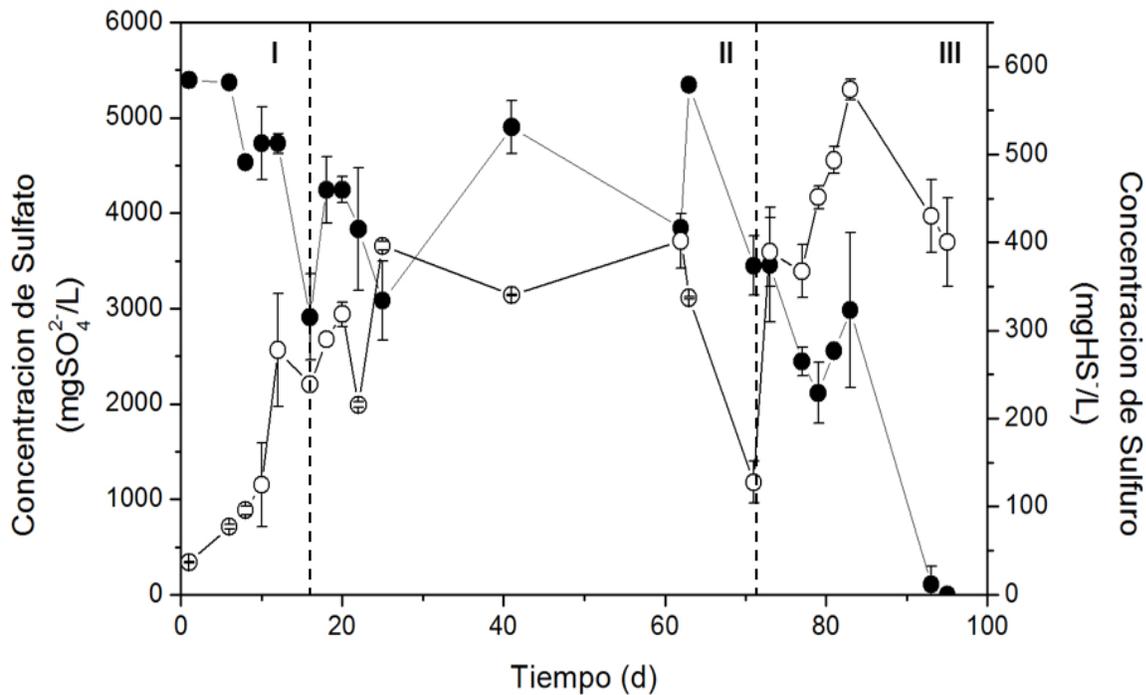


Figura 6.3 Desempeño del inóculo antes y después de la transferencia al reactor UASB. I) Desempeño del inóculo durante el lote 6; II) Desempeño del inóculo durante los días posteriores al lote 6; III) Desempeño del inóculo en el reactor UASB. Concentración de sulfato (●). Concentración de sulfuro (○).

Como se observa en la figura 6.3, la reducción del SO_4^{2-} se mantuvo inconsistente en los días posteriores al lote 6. Sin embargo, el desempeño del inóculo mejoró en el reactor UASB, ya que se observó una reducción constante del SO_4^{2-} hasta su consumo total y por consiguiente se obtuvieron concentraciones mayores de HS^- (574 mg/L), con respecto a las obtenidas en la operación en la botella. Esto debido a que en el reactor, se promovía la recirculación del medio, lo que favoreció su contacto con los microorganismos y por consiguiente se obtuvo una mayor degradación del SO_4^{2-} y sustratos.

El objetivo de esta etapa era obtener una mayor actividad sulfato reductora con la ayuda de las condiciones que proveía el reactor, y con esto establecer un tiempo de operación definido de los lotes para la reducción completa del SO_4^{2-} y la obtención de la máxima concentración de sulfuro.

Finalizado el lote 6 en el reactor UASB se realizaron nuevos cultivos en lote en los que se alimentaba ARS una vez que se observaba el consumo máximo de SO_4^{2-} y de sustratos. La

tabla 6.3 muestra los resultados de cinco lotes realizados, en los cuales se obtuvieron porcentajes de reducción de sulfato mayores en comparación a los obtenidos en la botella. De igual manera, la conversión de SO_4^{2-} a H_2S se vio favorecida en el reactor UASB, ya que esta fue mayor al 90% en todos los lotes.

Tabla 6.3 Desempeño de los lotes realizados en el reactor UASB

Lote	Días de op.	Reducción de SO_4^{2-} (%)	Conversión de SO_4^{2-} a H_2S (%)	Consumo de sustratos (%)	Actividad sulfato reductora (mg DQO- HS^- /g SSV*d)	pH	T (°C)
1	12	87.02	99.14	64.42	25.88	7.5 (±0.3)	22.4 (±1.1)
2	15	90.48	100.00	71.64	24.78	7.6 (±0.7)	22.8 (±1.9)
3	11	96.18	96.4	97.98	12.47	7.6 (±0.4)	20.8 (±1.4)
4	5	90.98	91.20	81.2	18.23	7.4 (±0.3)	21.5 (±0.3)
5	5	100	100	90.1	32.86	7.4 (±0.2)	19.9

4.3 Cálculo del potencial eléctrico en el la celda (E_{emf})

La fuerza electromotriz o el potencial teórico en la celda, al cual llegaría con las posibles reacciones en el ánodo y el cátodo, se calculó como se describe en el apartado 6.7.1 de la sección de materiales y métodos. En la tabla 6.4 se muestran los resultados obtenidos de las energías libres de Gibbs (ΔG^0) y los potenciales estándar (E^0), los cuales, se aplicaron en la ecuación de Nernst para la obtención del potencial de reducción teórico (E) de cada reacción en los electrodos. Con estos resultados, se calculó la diferencia del potencial entre la reacción en el cátodo y las diferentes reacciones en el ánodo, donde se obtuvieron los potenciales globales de la celda en cada caso, que se muestran en la tabla 6.5.

Tabla 6.4 Valores de la energía libre de Gibbs y potenciales estándar para cada reacción.

Electrodo	Reacción	ΔG^0 (KJ/mol)	E^0 (V)	E (V)	No. reacción
Cátodo	Oxígeno/Agua ^a	-	0.805	1.229	Cátodo1
Ánodo	Sulfato/Acetato	-100.96	0.130	0.0917	Ánodo 1
	Sulfato/Propionato	-702.2	0.485	0.196	Ánodo 2
	Sulfato/Butirato	-1001.52	0.471	0.120	Ánodo 3
	Sulfato/Sulfuro	2.49	-0.003	-0.065	Ánodo 4

^a Valores obtenidos de Verstraete y Rabaey (2006)

Tabla 6.5 Potenciales teóricos de la celda, calculados con base en las reacciones en los electrodos.

Diferencia de potencial $E_{\text{cátodo}} - E_{\text{ánodo}}$	E_{emf} (V)
$E_{\text{cátodo1}} - E_{\text{ánodo1}}$	0.713
$E_{\text{cátodo1}} - E_{\text{ánodo2}}$	0.608
$E_{\text{cátodo1}} - E_{\text{ánodo3}}$	0.684
$E_{\text{cátodo1}} - E_{\text{ánodo4}}$	0.869

De acuerdo con Verstraete y Rabaey (2006), la electricidad se puede generar en una CCM solo si las reacciones globales son termodinámicamente favorables, las cuales pueden ser evaluadas en términos de la energía libre de Gibbs. Como se puede observar en la tabla 6.4, las reacciones que ocurren en el ánodo son altamente favorables, de acuerdo al valor negativo de sus ΔG^0_r (J) (Logan, 2008). Por otra parte, este valor es proporcional a la fuerza electromotriz o a la diferencia de potencial (E_{emf}) en una celda, el cual es positivo cuando la reacción es favorable. De igual manera, los potenciales (E) calculados para las reacciones en el ánodo son menores, y tienden a ser negativos en el caso del par sulfato/sulfuro, que el potencial de la reacción en el cátodo. Esto se traduce en una distancia de los pares redox en la torre de potencial, lo que favorece a una mayor fuerza electromotriz en la celda (Madigan *et al.*, 2003).

4.4 Operación del reactor UASB-celda

4.4.1 Inoculación del reactor UASB-celda

Una vez que el inóculo alcanzó mayor actividad sulfato reductora, éste se transfirió a un reactor adaptado a configuración de celda, en el cual se colocó el ánodo y el cátodo en sus respectivas cámaras (figura 6.4).



Figura 6.4 Fotografía del reactor UASB-celda.

Como se puede observar en la figura 6.4, la parte anaerobia de la celda estuvo conformada por el reactor UASB en donde se depositó el inóculo y el ánodo, mientras que el ARS se introdujo por la parte inferior del reactor y se recirculó continuamente utilizando una bomba peristáltica. Por otra parte, la cámara aerobia estuvo compuesta por el cátodo sumergido en medio mineral (sin sustratos, vitaminas, metales traza, ni SO_4^{2-}), expuesto al aire. Las dos cámaras se unieron mediante un puente salino para el paso de las cargas positivas, mientras que se utilizó un alambre de acero inoxidable conectado al ánodo y un cable de cobre conectado al cátodo como circuitos para el flujo de los electrones. La celda se mantuvo en condiciones de medio ambiente, sin el control de temperatura, pH o de medio estéril, ya que el propósito era apegarse a las condiciones de un ambiente natural (25 ± 5 °C, pH 7 ± 0.2)

Por otra parte, en comparación de otras CCM, en esta configuración no se adicionó ningún tipo de mediador sintético en la cámara anaerobia, sino que solamente se utilizó el HS⁻ producido por el metabolismo de las BSR en el consorcio, como el mediador de electrones, aunado al mecanismo de transferencia directa que algunos otros microorganismos del inóculo pudieran presentar. De igual manera, se prescindió de membrana de intercambio de protones y de algún tipo de catalizador en la cámara catódica (ferrocianuro de potasio, aireación o recubrimiento de Pt en el electrodo), ya que son elementos que agregan costo adicional a la operación de una CCM.

4.4.2 Aclimatación del inóculo en el reactor UASB-celda

En esta etapa, inicialmente se realizó un periodo de aclimatación del inóculo al ánodo, con el fin de promover la colonización del electrodo con los microorganismos del consorcio y formar una biopelícula. De igual manera, se realizaron tres cultivos en lote en los cuales se observó el desempeño del inóculo (Tabla 6.6), esto con el propósito de determinar los días de operación que se necesitaban para obtener el máximo porcentaje de reducción de SO₄²⁻.

Tabla 6.6 Desempeño de los lotes realizados durante la aclimatación del inóculo en la cámara anaerobia.

Lote	Días de Op.	Reducción de SO ₄ ²⁻ (%)	Conversión de SO ₄ ²⁻ a H ₂ S (%)	Consumo global de sustratos (%)	pH	T (C°)
1	4	97	62.8	47.6	7.3 (±0.4)	20 (±0.7)
2	7	88.16	38.46	61.37	7.6 (±0.8)	19 (± 2)
3	6	100	38.4	52.6	7.5 (±0.9)	20 (± 3)

Como se puede observar en la tabla 6.6, el cultivo inicial (Lote 1) tuvo un desempeño similar al obtenido en el reactor UASB. Sin embargo, en los dos cultivos posteriores (Lote 2 y 3) se observó un mayor tiempo de operación para obtener la reducción máxima del SO₄²⁻ y la conversión del SO₄²⁻ a H₂S en estos lotes, disminuyó aproximadamente en un 50%. Esto

debido a que, en el lote 1, el inóculo tenía poco tiempo en interacción con el ánodo y apenas comenzaba su ciclo de adaptación con éste, por lo que no se observó una diferencia en el desempeño de este lote; a medida que el tiempo transcurrió, el inóculo fue utilizando al ánodo como aceptor de electrones alterno, por lo que el tiempo en la reducción del SO_4^{2-} aumentó. Por otra parte, el H_2S producido comenzó a reaccionar con el ánodo presente, disminuyendo su concentración en el medio, dando como resultado una menor conversión SO_4^{2-} a H_2S aparente.

Con la aclimatación, se logró la estabilización del desempeño del inóculo en la cámara anaerobia, obteniendo una reducción máxima del SO_4^{2-} a los seis días de operación. Debido a lo anterior, se fijó la operación del reactor UASB-celda en 6 días por cada lote, para realizar las mediciones posteriores.

4.4.3 Medición de voltaje a circuito abierto (V_{ocp})

Posteriormente al periodo de aclimatación, se realizó la medición del V_{ocp} en la celda. Para esto, se realizaron tres lotes secuenciales con duración de seis días, en los cuales se alimentó ARS al término de cada lote. La medición del V_{ocp} se llevó a cabo utilizando un multímetro (Fluke® modelo 289) en donde al inicio de la alimentación, éste se conectó a los circuitos de la celda y en la función de voltaje a corriente directa se comenzó el registro del V_{ocp} . El registro se realizó en lapsos de 60 segundos hasta observar una completa estabilidad del voltaje.

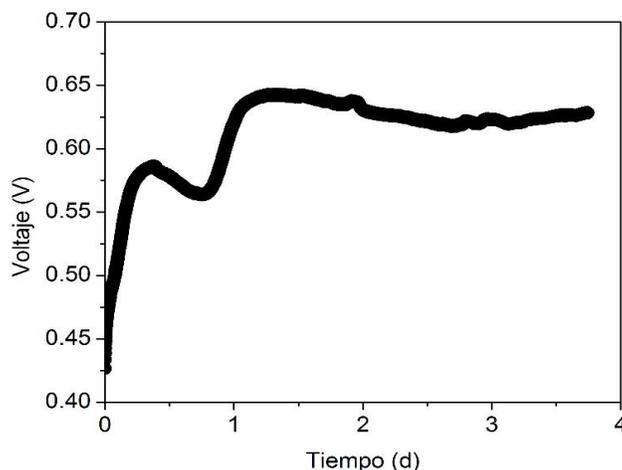


Figura 6.5 Medición de voltaje a circuito abierto con respecto al tiempo

Como se puede observar en la figura 6.5, el V_{ocp} fue incrementando a medida que transcurría el tiempo alcanzando un voltaje máximo de 0.643 ± 0.07 V en los tres lotes realizados. La estabilización del V_{ocp} se observó después de ~ 24 horas de operación, manteniéndose en un intervalo de 0.628 ± 0.008 V hasta el cuarto día. Estos resultados se asemejan a los reportados por Reimers *et al.* (2001), donde utilizaron una CCM inoculada con sedimentos marinos, en la cual reportaron la obtención de un V_{ocp} de 0.3-0.4 V al inicio de la alimentación, adquiriendo su estabilización después de 1 a 2 días con un voltaje máximo de ~ 0.7 V. Así también, diversos estudios que emplean un ánodo de grafito depositado en una cámara anaerobia inoculada con sedimento marino y el cátodo de grafito colocado en un medio acuoso aerobio, reportan la obtención de un voltaje a circuito abierto máximo de ~ 0.7 V (Reimers *et al.*, 2001; Ryckelynck *et al.*, 2005; Lowy *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2008).

Por otra parte, el voltaje medido fue 89 % similar a los potenciales teóricos de la celda, los cuales fueron calculados utilizando las reacciones de oxidación en el ánodo y en el cátodo. Esto se le puede atribuir a la actividad metabólica del inóculo, que se puede ver representado en la figura 6.6, donde los microorganismos del consorcio realizaron la oxidación de los sustratos y la producción de HS^- , transfiriendo los electrones al ánodo creando una carga negativa en éste. Como resultado de esto, se generó un gradiente de cargas entre el ánodo y el cátodo, obteniéndose una diferencia de potencial.

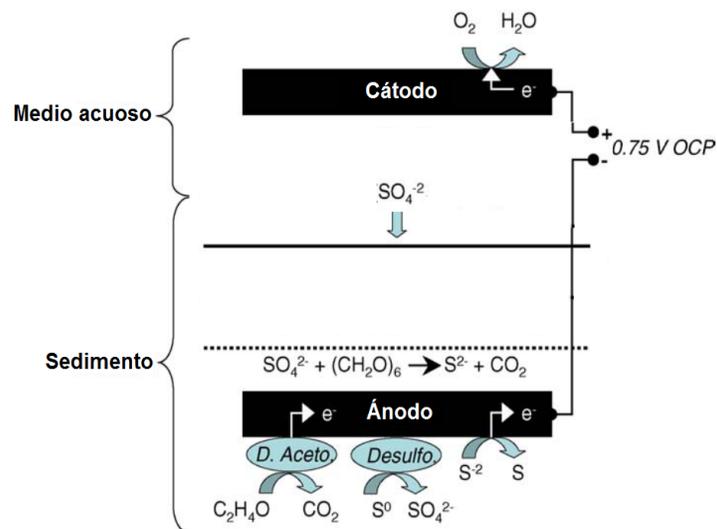


Figura 6.6 Representación esquemática del funcionamiento de una CCM inoculada con sedimento marino sin mediadores externos. Tomada y modificada de Lowy *et al.* (2006).

Además, en la figura 6.6 se puede observar que ciertos microorganismos del consorcio pueden transferir de manera directa los electrones generados por la oxidación de los sustratos, mientras que el sulfuro producido por las BSR reacciona con el ánodo donando electrones y contribuyendo al potencial de éste.

De igual manera, el desempeño de los lotes se monitoreó durante los seis días de operación mostrándose los resultados en la tabla 6.7

Tabla 6.7 Desempeño de los lotes realizados en la medición de voltaje a circuito abierto

Lote	Días de Operación	Reducción de SO_4^{2-} (%)	Conversión de SO_4^{2-} a H_2S (%)	Consumo global de sustratos (%)	pH	T (°C)
1	6	71.7	10.1	63.8	8.9 (± 0.4)	27 (± 1.3)
2	6	68.9	28.1	66.35	8.1 (± 0.5)	21 (± 1.08)
3	6	91.13	26.7	87.65	7.8 (± 0.7)	26 (± 2.3)

Como se puede observar en la tabla 6.7, la reducción del sulfato fue mayor al 60% en todos los cultivos. Esto debido a que conforme transcurrían los días de operación y se alimentaba nuevamente el cultivo con el ARS, la comunidad microbiana fue enriqueciéndose y adaptándose a los dos aceptores de electrones, el SO_4^{2-} y el ánodo, de tal modo que se obtuvo una biopelícula en la superficie del ánodo que utilizaba a este electrodo como su aceptor de electrones, mientras que la biomasa suspendida en el medio utilizaba el SO_4^{2-} . Sin embargo, se observó una baja conversión del SO_4^{2-} a H_2S , como se presentó en la etapa de aclimatación. Esto debido a que mientras el H_2S era producido, éste fue reaccionando con el ánodo oxidándose a otras especies de azufre, por lo que no hubo una acumulación constante de este producto y solamente se pudo determinar la porción del H_2S que no había reaccionado con el electrodo.

Con relación a los resultados obtenidos, se realizó un análisis para determinar el día en que se obtenía la mayor eficiencia en la cámara anaerobia con respecto a la reducción del SO_4^{2-} , la producción de HS^- y el consumo de sustratos, ya que se quería tener las reacciones de

óxido-reducción lo más cercanas al equilibrio para proporcionarle el máximo potencial al ánodo y posteriormente cerrar el circuito para la medición de corriente.

En la figura 6.7 se muestra el comportamiento de los tres cultivos en lote realizados, donde se puede observar que al 4° día de operación, se obtuvo el mayor consumo de SO_4^{2-} , así como una mayor concentración de HS^- y de la misma manera, un consumo de sustratos del 50 %. Estos resultados concuerdan con el incremento del voltaje y su estabilización durante los días 3 y 4. Por lo que aunado a esto, se determinó la conexión del circuito de la celda hasta el día 4, para así obtener un voltaje máximo y estable.

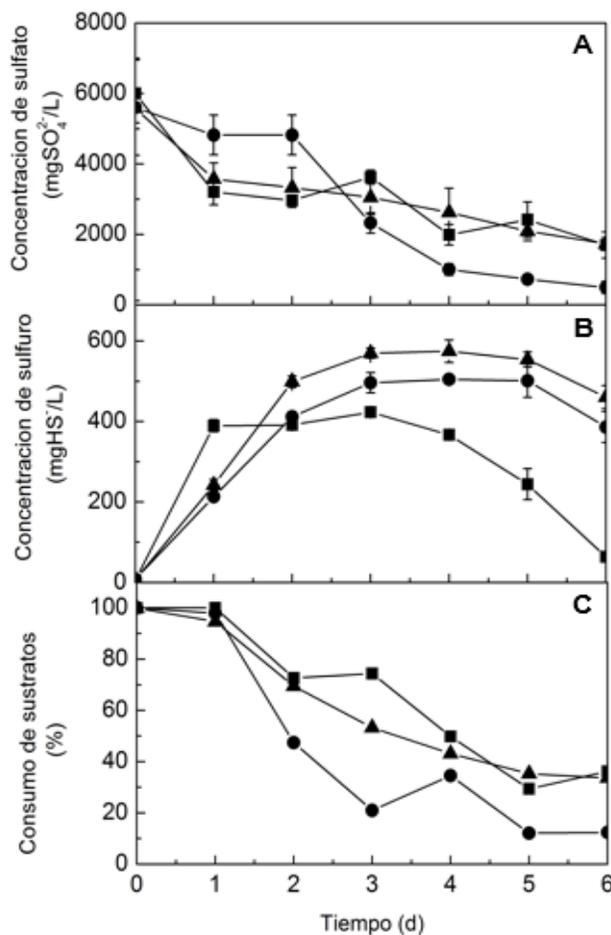


Figura 6.7 Desempeño de los lotes realizados con respecto al tiempo. A) Concentración de sulfato; B) Concentración de sulfuro; C) Porcentaje de consumo de sustratos. Simbología: Lote 1 (■), Lote 2 (▲), Lote 3 (●).

El rendimiento global de una CCM se determina principalmente por la potencia y la eficiencia coulombica que se obtiene de ésta. Esto se puede determinar mediante la medición de la corriente que circula bajo una resistencia externa en el circuito, mientras que el voltaje es calculado a partir de la Ley de Ohm. Con la corriente y el voltaje obtenidos se puede calcular la potencia que se produce en la celda (sección 6.7.2). Como en cualquier otro dispositivo eléctrico, el objetivo es maximizar la potencia y por lo tanto obtener la más alta densidad de corriente en condiciones del máximo potencial (Logan, 2008). Por lo que para determinar la máxima potencia en una CCM se debe realizar una curva de polarización obtenida a partir de los datos de corriente que se obtienen intercambiando la resistencia externa en el circuito.

Por lo tanto, una vez obtenido el V_{ocp} en la celda, se realizó la curva de polarización en la cual se registró la corriente obtenida intercalando diferentes resistencias en el circuito, una vez que el V_{ocp} llegaba al máximo y se estabilizaba en la CCM, para identificar con cuál se obtenía la mayor densidad de potencia, como se explica en la siguiente sección.

4.5 Generación de corriente y potencia en el reactor UASB-celda

Posteriormente, se prosiguió con la determinación de la potencia y corriente máximas en la celda, realizando una curva de polarización. Para esto, se utilizaron siete diferentes resistencias (471, 820, 1560, 2850, 4741, 6000 y 14000 Ω), con las cuales se cerró el circuito y se efectuó el registro de la caída de corriente que se obtenía con cada una. En este proceso se probaron dos resistencias por lote, en los cuales, la celda se mantuvo a circuito abierto hasta el 4° día de operación; seguido de esto, se cerró el circuito con una resistencia y se registró la caída de corriente que se obtenía con ésta hasta no observar variación. Posteriormente, se abrió el circuito de nuevo hasta la obtención de un V_{ocp} estable y a continuación se cerró el circuito con la segunda resistencia. La densidad de potencia y corriente se midieron con respecto al área del ánodo (0.049 m^2) y para los cálculos se empleó la ley de ohm y la ecuación de la potencia. En la tabla 6.8 se presentan los datos obtenidos con cada resistencia utilizada.

Tabla 6.8 Parámetros electroquímicos determinados en la celda utilizando diferentes resistencias.

Resistencia externa (Ω)	Voltaje (mV)	Corriente (mA)	Potencia (μ W)	Densidad de corriente (mA/m ²)	Densidad de potencia (μ W/m ²)
∞	741	0	0	0.00	0.0
14000	256	0.017	4.4	0.35	89.5
6000	137	0.023	3.1	0.47	64.2
4741	110	0.023	2.6	0.48	52.5
2850	69	0.024	1.7	0.50	34.6
1560	42	0.027	1.2	0.56	23.7
820	27	0.033	0.90	0.68	18.3
472	18	0.040	0.7	0.81	15.2

∞ : sin resistencia externa

Como se puede apreciar en la tabla, el máximo voltaje que se obtuvo fue cuando no se aplicó una resistencia externa en el circuito, el cual se refiere al voltaje a circuito abierto (V_{ocp}). A estas condiciones, se presenta una resistencia externa infinita en el circuito, lo que provoca un flujo nulo de electrones y por consiguiente no se produce corriente (Logan, 2008). A medida que se redujo esta resistencia se registró mayor corriente en la celda, ya que con resistencias más bajas mejora el flujo de los electrones a través del circuito (Alzate-Gaviria *et al.*, 2008). Con respecto a esto, se tuvo que a menor resistencia externa aplicada, el registro de voltaje fue menor, lo cual evitó la caída de tensión y generó mayor corriente.

Utilizando estos datos, se graficó la densidad de corriente contra el voltaje y contra la densidad de potencia para obtener la curva de polarización y la curva de densidad de potencia respectivamente, que se observan en la figura 6.8.

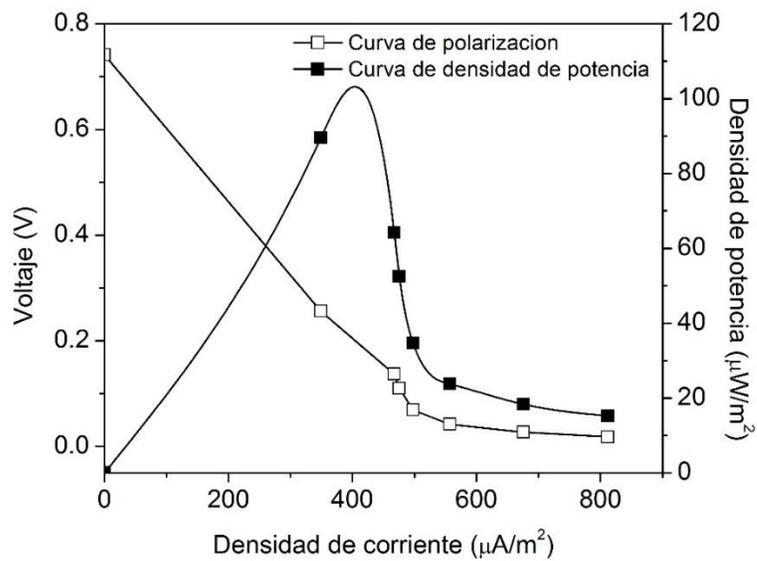


Figura 6.8 Curva de polarización y curva de densidad de potencia empleando diferentes resistencias. En orden de izquierda a derecha en el gráfico, se utilizaron las siguientes resistencias: 0, 14000, 6000, 4741, 2850, 1560, 820, 471 Ω .

En la curva de polarización se puede observar que a medida que disminuyó el voltaje, la densidad de corriente se incrementó, con lo cual se puede determinar la manera en que la celda mantendrá el voltaje en función a la corriente.

Por otra parte, Verstraete y Rabaey (2006) mencionan que, generalmente las curvas de polarización pueden ser divididas en tres partes, en las cuales se presentan tres causas de sobrepotencial en cada una. La primera comienza a partir del V_{ocp} , a corriente cero, en la cual comienza la caída de voltaje; en esta parte se presentan pérdidas por activación, las cuales están relacionadas con la energía de activación que se requiere para transferir un electrón de los compuestos (o células), hacia el electrodo. La segunda, es cuando el voltaje disminuye lentamente y se vuelve lineal con la corriente; en esta zona se presentan pérdidas de resistencia (óhmicas), las cuales son a causa de la configuración de la celda, que permiten o limitan el flujo de electrones y protones. La tercera parte, es cuando hay una rápida caída de voltaje a corrientes más altas; aquí se presentan pérdidas por concentración (efectos por transferencia de masa), debidas a la deficiente difusión de las especies químicas, sin embargo estas pérdidas se presentan cuando existen densidades de corriente altas.

Una vez realizada la curva de polarización, se graficó la curva de densidad de potencia utilizando la corriente y el voltaje obtenidos por cada resistencia. Así bien, en la figura 6.9 se puede apreciar que al V_{ocp} , no se produce energía, debido a que no hubo generación de corriente. De manera contraria, se pueden encontrar las densidades de potencia más altas en la parte superior de la curva, que fueron de 89.5 y de 64.2 $\mu\text{W}/\text{m}^2$, con sus respectivas densidades de corriente de 0.35 y 0.47 mA/m^2 , obtenidas con las resistencias de 14,000 y 6,000 Ω , respectivamente.

El cambio de la potencia con respecto las resistencias utilizadas se puede explicar de acuerdo a la Ley de Ohm, ya que esta ley establece que que la diferencia de potencial $\{ \displaystyle V \}$ V que aparece entre los extremos de un conductor determinado es proporcional a la intensidad de la corriente $\{ \displaystyle I \}$ I que circula por el citado conductor En la ley de ya que existe una relación de proporcionalidad relación que hay en la

Por esta parte, los valores obtenidos con este sistema UASB-celda (utilizando el HS^- producido por las BSR como mediador de electrones) fueron mayores a los reportados por Kim *et al.* (1999), donde utilizaron una CCM inoculada con cultivo puro de la bacteria electrógena *Shewanella putrefaciens*, con la cual obtuvieron una densidad de corriente de 0.02 mA/m^2 . Por otro lado, estos valores, pueden ser comparables con otras investigaciones que emplearon sedimentos marinos como inóculo en la cámara anaerobia, como se muestra en la tabla 6.9.

Tabla 0.9 Celdas combustible microbianas utilizando sedimento merino como inóculo

Tipo de CCM	Sustrato	M.I.P	M. T. E	V_{ocp} (V)	Densidad de corriente	Densidad de potencia	Referencia
S.E.	Agua de mar	No	S.E.	0.7	0.1-0.7 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$	~ 0.14 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	(Reimers et al. 2001)
<i>In situ</i>	Agua de mar	No	Directo	S.E.	S.E	0.016 W/m^2	(Bond et al. 2002)
S.E.	Acetato	No	Na_2S S^0 Fe (III)	S.E.	29 mA/m^2	S.E.	(Holmes et al. 2004)
S.E.	Agua de mar	No	S.E.	~0.6	60-90 mA/m^2	20-27 mW/m^2	(Scott et al. 2008)
Una cámara *	Acetato	Nafion	Directo	0.5	209-254 mA/m^2	29-43 mW/m^2	(Mathis et al. 2008)
Una cámara	Acetato	No	Directo	0.3	987.5 mA/m^2	312.5 mW/m^2	(Thomas et al. 2013)
Una cámara	Agua de mar	No	S.E.	0.246	2.8-0.8 mA	38 mW/m^2	(Wang et al. 2014)

M.I.P.: Membrana de intercambio de protones

S.E. : Sin especificar.

M.T.E: Mecanismo de transferencia de electrones

*: La celda se operó a 60°C

De acuerdo a la tabla anterior, se puede observar que algunas de las condiciones y parámetros electroquímicos, como el V_{ocp} , reportados en este estudio, son similares a los estudios anteriores. No obstante, las diferencias en cuanto a su configuración predominan, y son las que optimizan el desempeño de una CCM para la obtención de densidades de potencia altas.

Aunado a los estudios reportados en la tabla 6.9, se ha observado en la literatura, que la gran mayoría de estos dispositivos difirieren entre ellos ya que son construidos utilizando una variedad de materiales y en diferentes configuraciones, y por otra parte, son operados en un amplio rango de condiciones que incluyen diferencias en la temperatura, pH, aceptor de electrones, área y configuración de los electrodos, tamaño de las cámaras, tiempo de operación, entre otras. Con respecto a esto, se tiene que las CCM que presentan mayores densidades de potencia, son las que se encuentran operadas bajo condiciones controladas (temperatura, pH, esterilidad, etc.), con membranas selectivas para el intercambio de protones y que, por lo general, son suministradas con una fuente de carbono específica (p. ej.: acetato o glucosa) (Rabaey *et al.*, 2003; Lovley y Nevin, 2008; Mathis *et al.*, 2008;

Thomas *et al.*, 2013). Sin embargo, para la operación de cualquier proceso, y sobre todo para la producción de energía, se debe desarrollar un sistema sustentable.

Por lo tanto, debido a que cada sistema es diferente, la realización de la curva de polarización y de densidad de potencia, caracterizan la operación de la celda y arrojan los parámetros a los cuales, se obtiene el mejor funcionamiento de la CCM. En este sentido, como resultado de las curvas, se decidió por el empleo de una de las dos resistencias que arrojó los parámetros más óptimos. Por lo que se determinó el empleo de la resistencia externa de 6000 Ω para la operación de la celda, ya que proporcionaba una de las mayores densidades de potencia y con mayor densidad de corriente, a diferencia de la resistencia de 14,000 Ω .

Con la resistencia de 6000 Ω se realizó una serie de lotes, en los cuales, se estudió el desempeño del proceso de SR en la cámara anaerobia y la eficiencia del reactor UASB-celda para la remoción de la materia orgánica.

4.6 Desempeño del reactor UASB-celda utilizando una resistencia de 6000 Ω

La operación de la CCM en esta etapa consistió de la alimentación de ARS en la cámara aerobia al inicio de cada cultivo en lote, los cuales tuvieron una duración de ocho días. En esta etapa, se decidió aumentar dos días a la duración de los lotes, debido a que se quería observar si ocurría algún cambio después del tiempo estimado de los lotes (6 días). De la misma manera en esta etapa, se realizó un cultivo control, el cual se realizó con todos los elementos del ARS a excepción del SO_4^{2-} .

La celda se mantuvo en operación a circuito abierto desde el inicio del lote, para la estabilización del V_{ocp} . Posteriormente, en el día cuatro, el circuito se cerró con la resistencia de 6000 Ω y se comenzó con el registro de corriente en lapsos de 35 segundos. La celda se mantuvo en operación a circuito cerrado durante los días posteriores y al octavo día, la operación del reactor UASB-celda se suspendió y se colectó los datos de corriente para el cálculo de la eficiencia coulombica. Finalizado el lote, se removió el medio de la cámara anaerobia y se alimentó con el ARS para el comienzo de un nuevo lote. Durante este proceso, se tomó muestra de la cámara anaerobia cada 24 hr para observar el desarrollo

del proceso de sulfato reducción durante la generación de energía. Los resultados del comportamiento del H_2S y del SO_4^{2-} en el anolito se presentan en la figura 6.9.

Como se puede observar en la figura 6.9, el proceso de SR ocurrió de manera usual al inicio de los tres cultivos en lote (Figuras 6.9 A, B y C), a medida que el SO_4^{2-} fue reduciéndose, la concentración del HS^- fue incrementando, como producto de la SR. El comportamiento de este proceso durante los primeros cuatro días del lote, fue el habitual al que se obtuvo en el reactor UASB-celda a circuito abierto (Figura 6.6 B) y en el reactor UASB. Sin embargo, al cuarto día, cuando se cerró el circuito con la resistencia de 6000Ω , se comenzó a observar una disminución en la concentración del HS^- de manera constante y continuó así durante la operación de la celda a circuito cerrado, y este mismo comportamiento se pudo observar en los lotes siguientes.

De acuerdo a lo anterior, durante la operación del sistema a circuito abierto, el inóculo efectuó la degradación de la materia orgánica junto con el proceso de SR, produciendo HS^- en el reactor UASB (cámara anaerobia). Posteriormente, al cierre del circuito, se tuvo como resultado el sistema de celda, donde el HS^- acumulado en la cámara anaerobia comenzó a reaccionar con el ánodo transfiriendo los electrones generados durante la oxidación de los sustratos.

De igual manera, en el lote control (Figura 6.9 D) se pudo observar que, aún sin la adición de SO_4^{2-} al medio, se detectó una concentración mínima de éste de $\sim 455.23 \text{ mg/L}$. Esto se debió a que la composición de los sedimentos marinos posee una carga natural de compuestos con azufre, como la pirita (FeS_2) y la anhidrita (CaSO_4) (Muyzer y Stams 2008; Breier *et al.* 2012). Aunado a esto, la permanencia de residuos de SO_4^{2-} atrapados en el sedimento, junto con algunas sales de SO_4^{2-} de los metales traza (ver Anexo 1) que se le agrega al ARS, contribuyen a su detección.

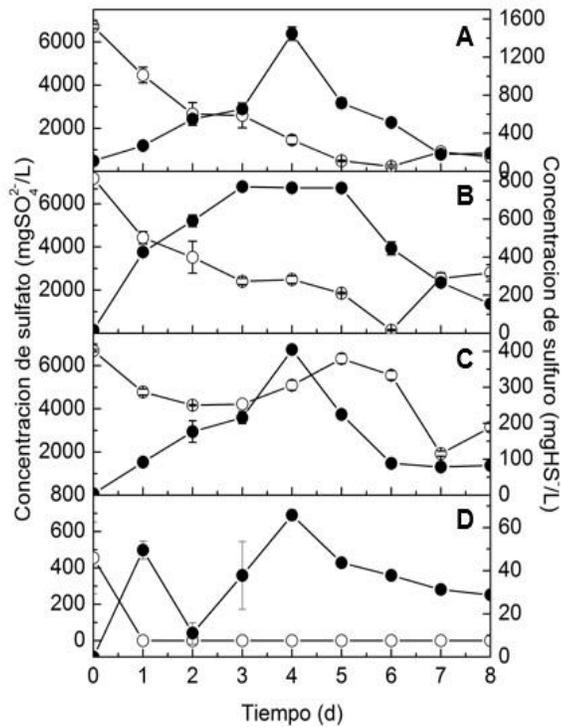


Figura 6.9 Concentración de sulfato (○) y sulfuro (●) durante los días de operación del reactor UASB-celda. A) Lote 1; B) Lote 2; C) Lote 3; D) Lote control.

Posterior a la reducción del SO_4^{2-} , se comenzó a observar un incremento de éste en el anólito a partir de los días 5 y 6 (Figura 6.9 B y 6.9 C), así como la formación de una capa de color amarillo en la parte superior de la cámara anaerobia (Figura 7.0 B) y del ánodo (Figura 7.0 C).

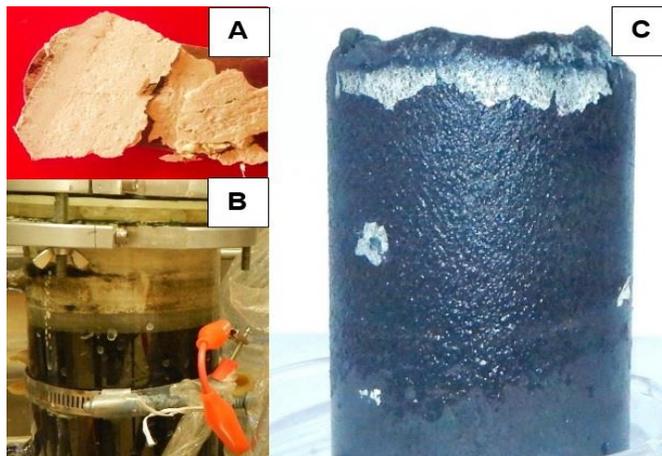


Figura 7.0 A) Muestra de la parte superior de la cámara anaerobia; B) Cámara anaerobia del sistema UASB-celda; C) Ánodo recubierto de biopelícula.

Este compuesto (capa de color amarillo) probablemente sea la formación de sulfuro de sodio (Na_2S), o bien, azufre elemental (S^0) y ambos contribuyen a la regeneración del SO_4^{2-} . Por un lado, el Na_2S al reaccionar con el agua genera NaSO_4 , mientras que con el S^0 se realiza por medio de la interacción de BSR con el ánodo.

De acuerdo a esto, diversos autores reportan la ocurrencia de al menos tres eventos importantes en el ánodo para la generación de energía eléctrica: 1) la oxidación del HS^- a S^0 , 2) la reducción directa del ánodo por bacterias de la familia Geobacteracea que colonizan el electrodo y 3) la oxidación del S^0 a SO_4^{2-} en el ánodo, por medio de bacterias de las especies *Desulfobulbus* o *Desulfucapsa*, u otras especies cercanas (Lovley 2006; Lowy et al. 2006; Scott et al. 2008; Malkin et al. 2014). Estas reacciones se pueden observar en la figura 7.1.

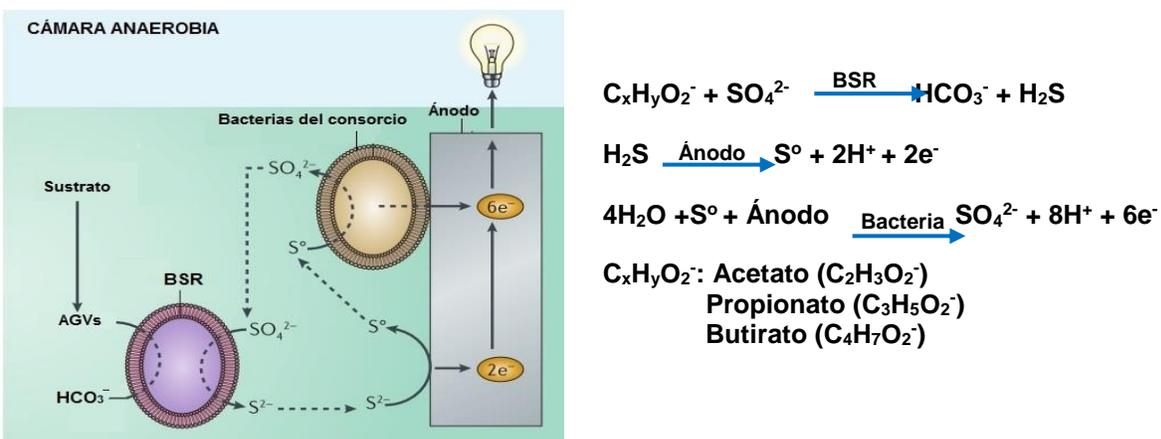


Figura 7.1 Mecanismo y reacciones para la transferencia de electrones al ánodo por medio la sulfato reducción para la generación de energía eléctrica. Imagen tomada y modificada de Lovley (2006).

Así bien, como se puede observar en la figura 7.1, el empleo de un cultivo mixto para la generación de la SR biológica aporta mecanismos que contribuyen a la producción electricidad en una CCM. Por una parte, las BSR reducen el SO_4^{2-} para la producción de H_2S , el cual reacciona abióticamente con el ánodo donando dos electrones y oxidándose a S^0 . Por otro lado, otras bacterias del consorcio, que mayormente son las que colonizan el ánodo, oxidan el S^0 donando seis electrones al ánodo y regenerando el SO_4^{2-} .

De manera natural, la reducción del SO_4^{2-} a HS^- se lleva a cabo en un proceso anaerobio y la oxidación biológica del HS^- a S^0 sucede en presencia de oxígeno, por lo que, la aireación y diferentes etapas de operación son necesarias en un biorreactor para llevar a cabo este proceso. Actualmente las CCM, son una alternativa para la realización de este proceso empleando microorganismos que oxidan la materia orgánica e inorgánica para la generación de energía eléctrica (Lowy *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2012).

4.6.1 Eficiencia coulombica en el reactor UASB-celda

La eficiencia coulombica de cada uno de los lotes se calculó de acuerdo al apartado 6.7.3 de la sección de materiales y métodos. Los resultados de la eficiencia coulombica y del desempeño de cada lote durante la generación de energía eléctrica se muestran en la tabla 7.0.

Tabla 7.0 Desempeño de los lotes en el sistema UASB-celda durante la generación de energía eléctrica.

Lote	1	2	3	Control
Días de Operación	8	8	8	8
Reducción de SO_4^{2-} (%)	92.3	63.8	52.9	-
Conversión de SO_4^{2-} a H_2S (%)	22.5	14.9	9.8	-
Consumo de sustratos (%)	100	100	100	5.68
pH	8 ± 1	8.3 ± 1	7.9 ± 1	6.8 ± 0.63
T (°C)	27.4 ± 1.7	25.3 ± 2.4	23.4 ± 2.3	25 ± 1.2
Densidad de corriente a 6000 Ω ($\mu\text{A}/\text{m}^2$)	499.74	393.84	363.43	216.3
Densidad de potencia ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	73.4	45.6	38.8	13.75
Eficiencia Coulombica (%)	0.02	0.02	0.02	0.009

Como se puede observar en la tabla 7.0 y de acuerdo a la figura 7.0 A, la reducción del SO_4^{2-} se realizó de manera eficiente, sin embargo, en los lotes 2 y 3 (Fig. 7.0 B y 7.0) la eficiencia disminuyó debido a la regeneración de éste en el anolito, lo que contribuyó a que no se llevara al 100 %. No obstante la carga de sulfato eliminada por este sistema (6 g SO_4^{2-} /L), fue mayor en comparación a otros trabajos. Sarti y Zaiat (2011), alcanzaron una eficiencia de reducción de SO_4^{2-} máxima entre 71-95 % utilizando un sistema de lotes secuenciados,

sin embargo, la carga máxima de SO_4^{2-} en el afluente fue 3 g/L; Por su parte, Li *et al.* (2014), emplearon un sistema UASB para el tratamiento de ARS en la cual, la carga del afluente fue de 1.8 g/L, obteniendo una eficiencia entre 52 y 67 %. Por otra parte, Zhang *et al.* (2012), realizaron un sistema de UASB-CCM en la cual el afluente tuvo una carga de SO_4^{2-} de 600 mg/L y con este sistema obtuvieron una eficiencia del 69.9 %.

Aunado a esto, la conversión del SO_4^{2-} a H_2S se vio afectada, debido a que el H_2S producido durante los primeros cuatro días de operación comenzó a reaccionar con el ánodo al cierre del circuito al día cuatro. Debido a esto, no hubo acumulación de H_2S durante la operación de la celda a circuito cerrado, ya que a medida que se producía, éste reaccionaba con el ánodo oxidándose a S^0 .

Así bien, la celda alcanzó una eficiente remoción de materia orgánica, ya que, de acuerdo a la tabla 7.0 el consumo de sustratos fue del 100% en los tres lotes. No obstante, en el cultivo control se observó un consumo de sustratos de apenas el 5.68 %. En cuanto a esto, la degradación de los AGV se puede llevar a cabo mediante la vía de la metanogénesis mediante bacterias metanogénicas, o bien, mediante la vía a de la SR por medio de las BSR (Colleran *et al.*, 1995; Omil *et al.*, 1998). Con respecto a esto, el inóculo que se utilizó en este sistema, provino de un inóculo semilla acondicionado al proceso de SR el cual generó un selectivo consorcio de BSR en su mayoría (García-Solares *et al.* 2014). Además, las condiciones a las cuales se trabajó durante todo el proceso experimental contribuyeron al predominio de BSR, por lo que, la degradación de los sustratos estuvo regida por el metabolismo de estas bacterias. Como resultado, al no adicionar el SO_4^{2-} al medio, el metabolismo de las BSR para la degradación de estos compuestos se vio afectado ya que solamente se consumió un 5.6% de estos. Por otra parte, el pH de la cámara anaerobia se mantuvo en 8 en los tres lotes, gracias a la interacción del Na_2S con el medio provocando un pH alcalino (T. Zhang *et al.*, 2014). Por otro lado, la oxidación de los sustratos orgánicos por medio de la SR genera bicarbonato o iones hidróxido generando alcalinidad en el medio (Kaksonen y Puhakka 2007), y que a diferencia del lote control el pH se mantuvo neutro.

Con respecto a la generación de electricidad en la celda, se observó que el máximo potencial alcanzado en el lote control fue de ~ 0.464 V, que fue menor al obtenido con el H_2S , lo cual sugiere que gran parte de potencial de reducción del ánodo se debe a los

compuestos de sulfuro en el medio que se oxidan en la superficie de este electrodo. Por otra parte, la densidad de potencia en el lote control fue menos de la mitad de la generada en los tres lotes donde se utilizó el H₂S como mediador de electrones. Con base en esto, se puede observar que la producción de energía eléctrica se debió en mayor medida al proceso de SR llevado a cabo por las BSR en el inóculo (Figura 7.1), mientras que en el lote control, la producción de energía fue a través de algún otro mecanismo de las bacterias unidas al electrodo. Diversas bacterias de la familia Geobacteraceae como *Desulfuromonas acetoxidans*, *Geobacter sulfurreducens*, así como los géneros *Shewanella* y *Geothrix*, son microorganismos que habitan en sedimentos marinos, los cuales tienen la capacidad de oxidar completamente ácidos orgánicos simples transfiriendo sus electrones directamente al ánodo (Bond y Lovley, 2003; Debabov, 2008; Lovley y Nevin 2008; Mathis *et al.*, 2008). Por lo anterior, la producción de energía eléctrica en el lote control se pudo haber debido a la presencia de alguna de estas bacterias en la biopelícula del ánodo.

Por otra parte, pocas investigaciones se han realizado utilizando el H₂S como mecanismo de transferencia de electrones para la producción de electricidad en una CCM. Algunas de estas investigaciones, así como la operación de CCM utilizando otros mecanismos se reportan en la tabla 7.1.

Tabla 7.1 Celdas de combustible microbianas utilizando sulfuro de hidrógeno (H₂S) como mecanismo de transferencia de electrones

Tipo de celda	Operación	inóculo	sustrato	MIP	DQO (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	Porcentaje de reducción de SO ₄ ²⁻ (%)	Eficiencia de consumo de sustratos (%)	Densidad de corriente	Densidad de potencia	Eficiencia coulombica (%)	Referencias
Doble cámara	Lote	Lodo sulfato reductor	Azucres	Si	6000	2500	N.R	65-75	10-50 mA/cm ²	N.R	N.R	(Habermann y Pommer 1991)
Doble cámara	Lote	<i>D. desulfuricans</i>	Sucrosa (29.3 mM)	Si (Nafion)	N.R	5000	N.R	N.R	3.75 mA/m ² (67.45 μA/m ²)	45.5 μW	87.36	(Ieropoulos et al. 2005)
UASB-MFC	Lote	Lodo granular anaerobio	Agua residual	No	127,500	7616	53.2	52.7	4947.9 mA/m ²	1410.2 mW/m ²	1	(B. Zhang et al. 2009)
UASB-MFC	continuo	Lodo anaerobio (0.7L)	glucosa	No	2400	600	69.9	81.8	N.R	888.9 mW/m ²	N.R	(B. Zhang et al., 2012)
Doble cámara	Lote	Sedimento de una mina ácida	Agua residual enriquecida con compuestos de azufre	SI	N.R	138.3 mg S ₂ O ₃ ²⁻ /L	N.R	N.R	79.6 mA/m ²	13.9 mW/m ²	3	(Ni et al., 2016)

N.R: No reportado

Tabla 7.2 Diferentes configuraciones de celdas de combustible microbianas

Celda	Descripción de la CCM	Volumen de las cámaras		Operación	Material de electrodos		Inóculo	Sustrato	MIP	Mediador
		Anódica	Catódica		Ánodo	Cátodo				
1	Ensamble de 4 celdas (4 ánodos y 4 cátodos)	40 ml	-	lote	Grafito plano (50 cm ²)	Grafito plano	C.M. metanogénico	3 g glucosa l ⁻¹ d ⁻¹	Ultrex	Hexacianoferrato de potasio K ₃ [Fe(CN) ₆], con aireación
2	Una cámara	130 ml	-	Lote	fibras de carbono	fibras de carbono	N.R	Agua residual doméstica y acetato (1g/l)	celulosa	N.R
3	Una cámara	28 ml	-	Lote	Papel carbón	Papel carbón con Pt	N.R	Acetato (800mg/L)	No	No
								Butirato (1000mg/L)	No	No
4	Doble cámara	350 ml	350 ml	Lote	Papel carbón (2.72 cm ²)	Papel carbón con Pt	C.M. entérico	4 g glucosa l ⁻¹	Nafion	No
5	Doble cámara	225 ml	225 ml	Lote	Grafito	Grafito 61.2 cm ²	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetato e Hidrógeno	Nafion	No
6	Doble cámara	250 ml	250 ml	lote	Papel carbón	Papel carbón recubierto con Pt	a) <i>Geobacter metallireducens</i> b) Cultivo mixto de aguas residuales	Acetato	Nafion	No
	Doble cámara	130 ml	130 ml	Lote	Papel carbón	Papel carbón recubierto con Pt	<i>Geobacter metallireducens</i>	Acetato	Puente salino	No

N.R.: No reportado

Tabla 7.2 Diferentes configuraciones de celdas de combustible microbianas (continuación)

Celda	Descripción de la CCM	Volumen de las cámaras		Operación	Material de electrodos		Inóculo	Sustrato	MIP	Mediador
		Anódica	Catódica		Ánodo	Cátodo				
7	<i>In situ</i>	-	-	-	Platino (malla)	Platino (malla)	Sedimento marino (Tuckerton, U.A.S)	-	Interface entre el sedimento marino y la superficie	-
8	Flujo ascendente	520 cm ³	250 cm ³	Continuo	Carbón vítreo (97cm ²)	Carbón vítreo	Lodo granular de un reactor UASB tratando aguas residuales de cervecería	Sacarosa	MIP (CMI-7000)	Hexacianoferrato de potasio
9	Doble cámara	25 ml	25 ml	Lote	Fibra de carbón (61.2 cm ²)	Fibra de carbón	<i>Escherichia coli</i>	Sacarosa	Nafion	MB mediador (Artificial)
							<i>Desulfovibrio desulfuricans strain</i>	Sacarosa		<u>Sulfato/ sulfuro (Natural)</u>
							<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetato		Directo
10	Flujo ascendente	N.R	N.R	Continuo	Fieltro de grafito	Grafito recubierto con Pt con aireación	Lodo activado (planta de tratamiento de aguas)	Agua residual artificial (glucosa y glutamato)	No	No
11	Flujo ascendente	560 ml		Continuo	Grafito granular	Malla de grafito	Microorganismos de una CCM activa	<ul style="list-style-type: none"> • Acetato • Glucosa • Agua residual 	Si	Ferrocianuro de potasio

N.R.: No reportado

Tabla 7.2 Diferentes configuraciones de celdas de combustible microbianas (Continuación)

Celda	Material del circuito	Resistencia (Ω)	Voltaje	Corriente	potencia	Eficiencia coulombica (%)	Referencia
1	N.R	100	N.R	N.R	3.6 W/m ²	65	(Rabaey et al. 2003)
2	N.R	50	N.R.	N.R	975 W/m ²	53	(Ahn and Logan 2012)
3	Cables de Pt	218	.	2.2 A/m ²	661 mW/ m ² (12.7 mW/L)	3-7	(Liu, Cheng, and Logan 2005)
		1000		0.77 A/m ²	349 mW/ m ² (7.6 mW/L)	2-5	
4	N.R	a) 1000 b) 600	a) 1.15 ± 0.05 V b) 0.91±0.08 V	a) 80±20 μ A b) 170±18 μ A	a) 335 mW/m ² b) 640 mW/m ²	59.8	(Alzate-Gaviria et al. 2008)
5	Cables 20 AWG	500	N.R	65 mA/m ²	N.R	N.R	(Bond y Lovley 2003)
6	Cobre recubierto con resina	470 1000	293 mV 201 mV	No	a) 40 ± 1 mW/m ² b) 38 ± 1mW/m ²	47	(Min <i>et al.</i> , 2005)
	Cobre recubierto con resina	47000	370 mV	No	2.2 mW/m ²	55	(Min <i>et al.</i> , 2005)
7	Cable de doble aislado	5000	0.7 V	0.8 μ A/cm ²	0.01 W/m ²	N.R	(Bond <i>et al.</i> , 2002)
8	Acero inoxidable y cobre	66	0.33 V	516 mA/m ²	170 mW/m ²	8.1	(He <i>et al.</i> , 2005)
9	Alambre cromo-níquel	10000	N.R	44.05 μ A/ 2.44 mA/m ²	22.27 μ W	38.05	(Ieropoulos <i>et al.</i> , 2005)
			N.R	67.41 μ A/ 3.74 mA/m ²	45.50 μ W	87.6	
			N.R	21.16 μ A/ 1.17 mA/m ²	4.62 μ W	45.71	
10	Alambre de platino	200	N.R	6 mA/m ²	1.3 mW/m ²	N.R	(Jang <i>et al.</i> , 2004)
11	N.R	N.R	N.R	N.R	52 ± 10 W/m ³ 49 ± 8 W/m ³ 8 ± 5 W/m ³	75 43 22	(Rabaey et al. 2005)

N.R.: No reportado

Por su parte, la mayoría de los sistemas reportados en la tabla 7.2 son operados bajo el control de temperatura, pH y de condiciones de cultivos axénicos, lo cual minimiza los disturbios que pudieran ocurrir en el sistema; sin embargo, estas condiciones no son reproducibles en ambientes naturales, por lo que su aplicación directa a efluentes de aguas residuales no sería muy eficiente. Debido a esto, es más conveniente adaptar un sistema a condiciones de un ambiente natural, como se realizó en este estudio.

Así bien, existe una amplia variación entre la eficiencia coulombica reportada en los estudios anteriores y la alcanzada en este estudio. Como tal, la eficiencia coulombica es el porcentaje de electrones recuperados de la materia orgánica como energía eléctrica (B. E. B. Logan 2008). Sin embargo, el sobre potencial generado en estos dispositivos debido a diferentes condiciones limitan este objetivo.

El sobre potencial en las CCM se origina por diversas causas, como las perdidas por activación y a las pérdidas de voltaje, las cuales se refieren a la dificultad en la transferencia de los electrones de una célula al ánodo. Estas son debidas a los microorganismos empleados en la cámara anaerobia para la oxidación de la materia orgánica, su mecanismo para la transferencia de electrones al ánodo y su afinidad con éste (Franks y Nevin, 2010).

Diversos estudios han reportado la obtención de una alta eficiencia coulombica y mayor producción de energía utilizando bacterias de la familia Geobacteracea como *Geobacter sulfurreducens*, ya sea en cultivo axénico o mediante sedimentos marinos, debido a que es una bacteria que trasfiere directamente sus electrones al ánodo (Bond y Lovley, 2003; Franks y Nevin, 2010). Sin embargo, este tipo de bacterias también transfieren sus electrones a otro tipo de aceptores de electrones insolubles como el SO_4^{2-} y el Fe (III). Por lo que la competencia entre los dos aceptores de electrones utilizados en la cámara anaerobia en este trabajo pudo haber ocasionado una baja transferencia de electrones al ánodo lo cual disminuyó la generación de energía y se vio reflejado en una baja densidad de corriente.

Estas pérdidas pueden ser reducidas utilizando catalizadores eficientes y de bajo costo en el cátodo, la utilización de microorganismos que degraden eficientemente los sustratos y dirijan sus electrones hacia el ánodo o mediante el desarrollo un mecanismo óptimo de la transferencia de los electrones de las células al ánodo, como la SR (Logan, 2008).

Por otra parte, la EC también se ve afectada por problemas en la transferencia de masa ya que interfieren en la velocidad de las reacciones, limitando el flujo de los electrones al ánodo y el flujo de protones a la cámara catódica, generando mayor resistencia interna en el sistema, viéndose reflejado en una baja densidad de potencia. Otro de los problemas que afecta a la EC, es la acumulación de protones en la cámara anódica incrementando el pH del medio, como se observó en los tres lotes realizados utilizando una resistencia externa. Con respecto a esto, se ha observado que la utilización de una MIP (Nafion) en comparación de un puente salino entre las cámaras, duplica la obtención de potencia en el sistema, sin embargo la mayor limitante de este componente es su alto costo (~ \$780 UD/m²) (Min *et al.*, 2005).

Como se puede observar en la tabla 7.2 el área de los ánodos empleados en la mayoría de las CCM es muy pequeña en comparación al área del ánodo utilizada en este estudio (490.05 cm²). Con relación a esto, estudios han reportado que la densidad de potencia aumenta con el ánodo, sin embargo no aumenta de manera directa, por lo que los ánodos con áreas grandes tienden a presentar menor densidad de potencia que los ánodos con áreas menores (Dewan *et al.*, 2008; Hsu *et al.*, 2013; Ewing *et al.*, 2014)

No obstante, el diseño y la utilización de la SR en un sistema de CCM utilizando un reactor UASB, se implementó por primera vez en este trabajo, y se requiere de mayor investigación para mejorar el desempeño de este sistema.

Como se puede observar en las tablas anteriores, existe una gran variedad de configuraciones de CCM utilizadas en este campo de investigación, ya sea por el volumen de las cámaras, el modo de operación, el inóculo utilizado, el sustrato que se suministra o por el material de sus componentes; por lo que, la comparación de un estudio a otro es bastante complejo. No obstante, es importante remarcar las opciones de CCM que pueden atribuir los beneficios del tratamiento eficiente de aguas residuales al igual que la generación de energía, a través de un diseño adecuado y con materiales de bajo costo para poder desarrollar un sistema redituable. Aunado a esto, el estudio intenso sobre una configuración de CCM contribuye en las mejoras en su desempeño y a incrementar su producción de energía (Huang *et al.*, 2011). De igual manera, la disponibilidad para implementar estos

sistemas en aplicaciones requiere la viabilidad de los componentes y reactivos a utilizar en el sistema.

Debido a lo anterior, la aplicación práctica de una CCM requiere el desarrollo de un sistema no solo para la generación de potencia y eficiencia coulombica altas, si no también, su producción económica con base en los materiales y la operación del sistema para su implementación a gran escala.

CONCLUSIONES

- ❖ El proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica en este sistema, estuvo regido por el proceso de sulfato reducción, en el cual las BSR utilizaron el SO_4^{2-} como aceptor de electrones.
- ❖ La eficiencia en la reducción de SO_4^{2-} así como la producción de H_2S y la degradación de los sustratos, se vio favorecida al cambiar el inóculo de un sistema estático (botella hermética) a un sistema dinámico como el reactor UASB ya que promovía la homogenización del medio y los microorganismos, propiciando la generación de las reacciones.
- ❖ La adaptación de los microorganismos a concentraciones de SO_4^{2-} (6 g/L) y sustratos (4.02 g DQO/L), así como la utilización del reactor UASB incrementó la generación de biomasa con mayor actividad sulfato reductora.
- ❖ La reducción de SO_4^{2-} se vio afectada en el reactor-celda por la utilización del ánodo como segundo aceptor de electrones para los microorganismos.
- ❖ El H_2S producido en la cámara anaerobia como resultado de la SR biológica, contribuyó en gran parte a la reducción del potencial en el ánodo.
- ❖ El V_{ocp} en el reactor-celda fue el resultado del gradiente de potencial obtenido entre el ánodo reducido debido a las reacciones en la cámara anaerobia y el H_2S , y el cátodo sumergido en un ambiente acuoso expuesto al aire en la cámara catódica.
- ❖ La obtención del máximo V_{ocp} y su estabilización en el reactor-celda, se obtuvo con la máxima conversión del SO_4^{2-} a H_2S en el medio (día 4 de operación).
- ❖ Con una resistencia de 14,000 Ω se obtuvo una densidad de potencia (89.5 $\mu\text{W}/\text{m}^2$) mayor que con 6,000 Ω (64.2 $\mu\text{W}/\text{m}^2$). Sin embargo, la densidad de corriente fue mayor con 6,000 Ω (467 $\mu\text{A}/\text{m}^2$) que con 14,000 Ω (350 $\mu\text{A}/\text{m}^2$), debido a que a mayor resistencia el flujo de electrones es menor por lo que se produce una menor corriente.
- ❖ Al cierre del circuito con una resistencia de 6000 Ω , se observó una disminución del HS^- , lo que sugiere la utilización de éste compuesto como el mecanismo para la transferencia de electrones de los microorganismos al ánodo.
- ❖ La ausencia del SO_4^{2-} en el lote blanco disminuyó considerablemente el proceso de degradación de los sustratos ya que limitó el metabolismo de las BSR y el proceso

de sulfato reducción. De igual manera, se observó una disminución en el V_{ocp} y en la generación de corriente debido a la escasez de H_2S .

- ❖ La utilización de un reactor UASB como cámara anaerobia, contribuyó en gran parte a la degradación de la materia orgánica en el sistema de CCM, ya que su configuración permitió un mejor contacto entre los microorganismos y los compuestos, obteniéndose un 100% de remoción de sustratos.
- ❖ La utilización de un lodo sulfurogénico y sedimentos marinos como inóculo en la cámara anaerobia, es favorable para la remoción eficiente de especies de azufre (SO_4^{2-} y H_2S) y AGV (contaminantes de aguas residuales).
- ❖ Con la mejora del el sistema UASB-celda para incrementar la potencia y la eficiencia coulombica, éste puede emplearse para la remoción de contaminantes en aguas residuales, a la vez que se puede generar energía eléctrica de manera sustentable.
- ❖ La utilización de un cultivo mixto y el empleo de la SR biológica como mecanismo para la transferencia de electrones, es un sistema reforzado para la generación de energía eléctrica en una CCM, ya que las relaciones sinérgicas entre ellos permite una transmisión eficiente de los electrones al ánodo y además, la degradación eficaz de sustratos mayormente complejos como las aguas residuales.

PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES PARA FUTUROS TRABAJOS

- ❖ Realizar un pre-cultivo bajo las condiciones deseadas para incrementar la biomasa, así como para propiciar mayor actividad SR.
- ❖ Realizar un periodo de incubación del ánodo con el pre-cultivo para la formación de biopelícula en el electrodo, previamente al montaje del sistema de celda.
- ❖ Establecer una configuración de CCM en la que se reduzca considerablemente el espacio entre el ánodo y el cátodo, así como el empleo de materiales que favorezcan la conducción de los electrones para reducir la resistencia generada por esto.
- ❖ Establecer la formación de biopelícula en soportes y/o en el ánodo para evitar la menor pérdida de los microorganismos y que no interfiera con la transferencia de masa en la celda.
- ❖ Diseñar una configuración de electrodos que provean la mayor superficie de contacto y de preferencia que posean cierta porosidad (como el carbón vítreo, el fieltro de grafito o una configuración de cepillo) para propiciar la retención de los microorganismos sin afectar el flujo de los sustratos en la cámara anaerobia.
- ❖ Implementar un sistema de intercambio de protones, alternativo a la utilización de una MIP, para la transferencia eficiente y selectiva de los protones a la cámara catódica.
- ❖ Utilizar materiales conductores para circuitos y conexiones en la celda, que no reaccionen con el anólito o que no se vean afectados por los microorganismos, como el acero inoxidable o una aleación con platino, ya que las conexiones realizadas con alambres de cobre reaccionan fácilmente con el H_2S generándose precipitados insolubles y tóxicos para los microorganismos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, Tasneem, y S. A. Abbasi. 2012. "Formation and Impact of Granules in Fostering Clean Energy Production and Wastewater Treatment in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16(3): 1696–1708. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2011.11.017>.
- Ahn, Yongtae, y Bruce E. Logan. 2012. "A Multi-Electrode Continuous Flow Microbial Fuel Cell with Separator Electrode Assembly Design." *Applied Microbiology and Biotechnology* 93(5): 2241–48.
- Alzate-Gaviria, Liliana, Carmen Fuentes-Albarrán, Alberto Álvarez-Gallegos, y P. J. Sebastian. 2008. "Generación de Electricidad a Partir de Una Celda de Combustible Microbiana Tipo PEM." *Interciencia* 33: 503–9.
- Angenent, LARGUS T. et al. 2004. "Production of Bioenergy and Biochemicals from Industrial and Agricultural Wastewater." *Trends in Biotechnology* 22(9): 477–85.
- Bernardez, L A, y L R P De Andrade Lima. 2015. "MethodsX Improved Method for Enumerating Sulfate-Reducing Bacteria Using Optical Density." 2: 249–55.
- Berni, Mauro et al. 2014. "Anaerobic Digestion and Biogas Production: Combine Effluent Treatment with Energy Generation in UASB Reactor as Biorefinery Annex." *International Journal of Chemical Engineering* 2014.
- Bond, Daniel R, Dawn E Holmes, Leonard M Tender, y Derek R Lovley. 2002. "Electrode-Reducing Microorganisms That Harvest Energy from Marine Sediments." *Science (New York, N.Y.)* 295(5554): 483–85.
http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=11&SID=T2Z7nibEbNVOu6TILrG&page=5&doc=43.
- Bond, Daniel R, y Derek R Lovley. 2003. "Electricity Production by Geobacter Sulfurreducens Attached to Electrodes Electricity Production by Geobacter Sulfurreducens Attached to Electrodes." *Applied and Environmental Microbiology* 69(3): 1548–55.
- Bradley, P.M. 2003. "History and Ecology of Chloroethene Biodegradation: A Review."

Bioremediation Journal 7(2): 81–109.

Breier, J. a. et al. 2012. “Sulfur, Sulfides, Oxides and Organic Matter Aggregated in Submarine Hydrothermal Plumes at 9°50'N East Pacific Rise.” *Geochimica et Cosmochimica Acta* 88: 216–36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gca.2012.04.003>.

Cea-Barcia, Glenda, Hélène Carrère, Jean Philippe Steyer, y Dominique Patureau. 2013. “Evidence for PAH Removal Coupled to the First Steps of Anaerobic Digestion in Sewage Sludge.” *International Journal of Chemical Engineering* 2013.

Chan, Yi Jing, Mei Fong Chong, Chung Lim Law, y D.G. Hassell. 2009. “A Review on Anaerobic–aerobic Treatment of Industrial and Municipal Wastewater.” *Chemical Engineering Journal* 155(1-2): 1–18.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894709004902>.

Colleran, E, S Finnegan, y P Lens. 1995. “Anaerobic Treatment of Sulfate-Containing Waste Streams.” *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 67(1): 29–46. <Go to ISI>://WOS:A1995QG66600003.

Cordas, Cristina M., L. Tiago Guerra, Catarina Xavier, y José J.G. Moura. 2008. “Electroactive Biofilms of Sulphate Reducing Bacteria.” *Electrochimica Acta* 54(1): 29–34. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468608002430> (August 14, 2014).

Debabov, V G. 2008. “Electricity from Microorganisms.” *Mikrobiologija* 77(2): 149–57.

Dou, Junfeng, Xiang Liu, Zhifeng Hu, y Dong Deng. 2008. “Anaerobic BTEX Biodegradation Linked to Nitrate and Sulfate Reduction.” 151: 720–29.

Du, Zhuwei, Haoran Li, y Tingyue Gu. 2007. “A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy.” *Biotechnology advances* 25(5): 464–82.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17582720> (July 13, 2014).

Environmental Protection Agency, Ireland. 1997. “Wastewater Treatment Manuals.” *Management*: 13.

Ewing, Timothy et al. 2014. “Scale-up of Sediment Microbial Fuel Cells.” *Journal of Power*

Sources 272: 311–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.08.070>.

Franks, Ashley E., y Kelly P. Nevin. 2010. "Microbial Fuel Cells, A Current Review." *Energies* 3(5): 899–919. <http://www.mdpi.com/1996-1073/3/5/899/> (July 14, 2014).

Gallegos-García, Marisol, Lourdes B. Celis, y Elías Razo-Flores. 2010. "Competencia Por Sustrato Durante El Desarrollo de Biomasa Sulfatorreductora a Partir de Un Lodo Metanogénico En Un Reactor UASB." *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* 26(2): 109–17.

García-Solares, Selene Montserrat et al. 2014. "High Sulfate Reduction Efficiency in a UASB Using an Alternative Source of Sulfidogenic Sludge Derived from Hydrothermal Vent Sediments." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 174(8): 2919–40.

Guerrero-Barajas, C., y E. I. García-Peña. 2010. "Evaluation of Enrichments of Sulfate Reducing Bacteria from Pristine Hydrothermal Vents Sediments as Potential Inoculum for Reducing Trichloroethylene." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26(1): 21–32. <http://link.springer.com/10.1007/s11274-009-0136-x>.

Guerrero-Barajas, Claudia, Claudio Garibay-Orijel, y Liliana E. Rosas-Rocha. 2011. "Sulfate Reduction and Trichloroethylene Biodegradation by a Marine Microbial Community from Hydrothermal Vents Sediments." *International Biodeterioration and Biodegradation* 65(1): 116–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.10.004>.

Habermann, W., y E.H. Pommer. 1991. "Biological Fuel Cells with Sulphide Storage Capacity." *Applied Microbiology and Biotechnology* 35(1): 128–33.

He, Zhen, Shelley D Minter, y LARGUS T Angenent. 2005. "Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell." *Environmental Science & Technology* 39(14): 5262–67.

Hidalgo, M D, y P A García Encina. 2001. "Influencia Del Sulfato En La Degradacion Anaerobia de Materia Orgánica." *Ingeniería Química*: 183–91.

Holmes, D. E. et al. 2004. "Microbial Communities Associated with Electrodes Harvesting Electricity from a Variety of Aquatic Sediments." *Microbial Ecology* 48(2): 178–90.

- Hsu, Lewis et al. 2013. "Scale up Considerations for Sediment Microbial Fuel Cells." *RSC Advances* 3(36): 15947. <http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2013/ra/c3ra43180k>.
- Huang, Liping, John M Regan, y Xie Quan. 2011. "Electron Transfer Mechanisms, New Applications, y Performance of Biocathode Microbial Fuel Cells." *Bioresourcetechnology* 102(1): 316–23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20634062> (July 15, 2014).
- Ieropoulos, Ioannis A., John Greenman, Chris Melhuish, y John Hart. 2005. "Comparative Study of Three Types of Microbial Fuel Cell." *Enzyme and Microbial Technology* 37(2): 238–45.
- Jang, Jae Kyung et al. 2004. "Construction and Operation of a Novel Mediator- and Membrane-Less Microbial Fuel Cell." *Process Biochemistry* 39(8): 1007–12. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032959203002036> (August 30, 2014).
- Kaksonen, Anna H., y J. a. Puhakka. 2007. "Sulfate Reduction Based Bioprocesses for the Treatment of Acid Mine Drainage and the Recovery of Metals." *Engineering in Life Sciences* 7(6): 541–64.
- Karthikeyan, K, y J Kandasamy. 2009. "Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Uasb) Reactor in Wastewater Treatment." *WATER AND WASTEWATER TREATMENT TECHNOLOGIES - Volume II*: 180–98.
- Kim, B H et al. 2004. "Enrichment of Microbial Community Generating Electricity Using a Fuel-Cell-Type Electrochemical Cell." *Applied microbiology and biotechnology* 63(6): 672–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12908088>.
- Lens, P., M. Vallero, G. Esposito, y M. Zandvoort. 2002. "Perspectives of Sulfate Reducing Bioreactors in Environmental Biotechnology." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 1: 311–25.
- Lettinga, G et al. 1980. "Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, Especially for Anaerobic Treatment." *Biotechnology and Bioengineering* 22: 699–734. <http://dx.doi.org/10.1002/bit.260220402>.
- Lewis, Alison Emslie. 2010. "Review of Metal Sulphide Precipitation." *Hydrometallurgy*

104(2): 222–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.06.010>.

Li, Jin et al. 2014. “Performance and Granulation in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactor Treating Saline Sulfate Wastewater.” *Biodegradation* 25(1): 127–36.

Liu, Hong, Shaoan Cheng, y Bruce E. Logan. 2005. “Production of Electricity from Acetate or Butyrate Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell.” *Environmental Science & Technology* 39(2): 658–62. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es048927c>.

Liu, Hong, y Bruce E Logan. 2004. “Electricity Generation Using an Air-Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in the Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane.” *Environmental science & technology* 38(14): 4040–46.

Logan, B. E. 2005. “Simultaneous Wastewater Treatment and Biological Electricity Generation.” *Water Science and Technology* 52(1-2): 31–37.

Logan, Bruce E. Be. 2008. *Microbial Fuel Cells*.

Lovley, Derek R. 2006a. “Bug Juice: Harvesting Electricity with Microorganisms.” *Nature reviews. Microbiology* 4(7): 497–508. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16778836> (July 14, 2014).

Lovley, Derek R, y Kelly P Nevin. 2008. “Electricity Production with Electricigens.” : 295–306.

Lovley, Derek R. 2006b. “Microbial Fuel Cells: Novel Microbial Physiologies and Engineering Approaches.” *Current Opinion in Biotechnology* 17(3): 327–32.

———. 2008. “The Microbe Electric: Conversion of Organic Matter to Electricity.” *Current Opinion in Biotechnology* 19(6): 564–71.

Lowy, Daniel A. et al. 2006. “Harvesting Energy from the Marine Sediment-Water Interface II. Kinetic Activity of Anode Materials.” *Biosensors and Bioelectronics* 21(11): 2058–63.

Malkin, Sairah Y et al. 2014. “Natural Occurrence of Microbial Sulphur Oxidation by Long-Range Electron Transport in the Seafloor.” *The ISME Journal* 8(9): 1843–54. <http://www.nature.com/doi/abs/10.1038/ismej.2014.41>.

Mathis, B J et al. 2008. “Electricity Generation by Thermophilic Microorganisms from

- Marine Sediment.” *Applied microbiology and biotechnology* 78(1): 147–55.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18080121>.
- Meulepas, Roel J W, Alfons J M Stams, y Piet N L Lens. 2010. “Biotechnological Aspects of Sulfate Reduction with Methane as Electron Donor.” *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 9: 59–78.
- Min, Booki, Shaoan Cheng, y Bruce E. Logan. 2005. “Electricity Generation Using Membrane and Salt Bridge Microbial Fuel Cells.” *Water Research* 39(9): 1675–86.
- Moqsud, M Azizul et al. 2013. “Microbial Fuel Cell (MFC) for Bioelectricity Generation from Organic Wastes.” *Waste management (New York, N. Y.)* 33(11): 2465–69.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23962448> (August 21, 2014).
- Muyzer, Gerard, y Alfons J M Stams. 2008. “The Ecology and Biotechnology of Sulphate-Reducing Bacteria.” *Nature reviews. Microbiology* 6(june): 441–54.
- Ni, Gaofeng et al. 2016. “Electricity Generation from an Inorganic Sulfur Compound Containing Mining Wastewater by Acidophilic Microorganisms.” *Research in Microbiology* (May): 1–8.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923250816300122>.
- Omil, F. et al. 1998. “Long-Term Competition between Sulfate Reducing and Methanogenic Bacteria in UASB Reactors Treating Volatile Fatty Acids.” *Biotechnology and Bioengineering* 57(6): 676–85.
- Omil, F., P. Lens, L. Hulshoff Pol, y G. Lettinga. 1996. “Effect of Upward Velocity and Sulphide Concentration on Volatile Fatty Acid Degradation in a Sulphidogenic Granular Sludge Reactor.” *Process Biochemistry* 31(7): 699–710.
- Pant, Deepak, Gilbert Van Bogaert, Ludo Diels, y Karolien Vanbroekhoven. 2010. “A Review of the Substrates Used in Microbial Fuel Cells (MFCs) for Sustainable Energy Production.” *Bioresource technology* 101(6): 1533–43.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19892549> (July 9, 2014).
- Pham, T. H. et al. 2006. “Microbial Fuel Cells in Relation to Conventional Anaerobic Digestion Technology.” *Engineering in Life Sciences* 6(3): 285–92.

- Qatibi, A I, A Bories, y J L Garcia. 1990. "Effects of Sulfate on Lactate and C2-Volatile, C3-Volatile Fatty Acid Anaerobic Degradation by a Mixed Microbial Culture." *Anton Leeuwenhoek Int J Gen M* 58: 241–48.
- Rabaey, Korneel, Peter Clauwaert, Peter Aelterman, y Willy Verstraete. 2005. "Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation." *Environmental Science and Technology* 39(20): 8077–82.
- Rabaey, Korneel, Geert Lissens, Steven D. Siciliano, y Willy Verstraete. 2003. "A Microbial Fuel Cell Capable of Converting Glucose to Electricity at High Rate and Efficiency." *Biotechnology Letters* 25(18): 1531–35.
- Rabaey, Korneel, y Willy Verstraete. 2005. "Microbial Fuel Cells: Novel Biotechnology for Energy Generation." *Trends in biotechnology* 23(6): 291–98.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15922081> (July 14, 2014).
- Reimers, C E, L M Tender, S Fertig, y W Wang. 2001. "Harvesting Energy from the Marine Sediment--Water Interface." *Environmental science & technology* 35(1): 192–95.
- Ryckelynck, Natacha, Hilmar A. Stecher, y Clare E. Reimers. 2005. "Understanding the Anodic Mechanism of a Seafloor Fuel Cell: Interactions between Geochemistry and Microbial Activity." *Biogeochemistry* 76(1): 113–39.
- Sánchez-Andrea, Irene, Jose Luis Sanz, Martijn F M Bijmans, y Alfons J M Stams. 2014. "Sulfate Reduction at Low pH to Remediate Acid Mine Drainage." *Journal of Hazardous Materials* 269(3): 98–109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.032>.
- Sarti, Arnaldo, y Marcelo Zaiat. 2011. "Anaerobic Treatment of Sulfate-Rich Wastewater in an Anaerobic Sequential Batch Reactor (AnSBR) Using Butanol as the Carbon Source." *Journal of environmental management* 92(6): 1537–41.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479711000107> (June 16, 2015).
- Scott, K. et al. 2008. "Power from Marine Sediment Fuel Cells: The Influence of Anode Material." *Journal of Applied Electrochemistry* 38(9): 1313–19.
- Tender, Leonard M. et al. 2002. "Harnessing Microbially Generated Power on the Seafloor." *Nature Biotechnology* 20(8): 821–25.

<http://www.nature.com/doi/finder/10.1038/nbt716>.

- Thabet, Olfa Ben Dhia et al. 2009. "Anaerobic Degradation of Landfill Leachate Using an Upflow Anaerobic Fixed-Bed Reactor with Microbial Sulfate Reduction." *Journal of Hazardous Materials* 167(1-3): 1133–40.
- Thauer, Rudolf K, Kurt Jungermann, Karl Decker, y P P H-- Pi. 1977. "Energy Conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria." 41(1): 100–180.
- Thomas, Yohann R J et al. 2013. "A Single Sediment-Microbial Fuel Cell Powering a Wireless Telecommunication System." *Journal of Power Sources* 241: 703–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2013.05.016>.
- Trüper, H. G., y H. G. Schlegel. 1964. "Sulphur Metabolism in Thiorhodaceae I. Quantitative Measurements on Growing Cells of Chromatium Okenii." *Antonie van Leeuwenhoek* 30(1): 225–38.
- Verstraete, Willy, y Korneel Rabaey. 2006. "Critical Review Microbial Fuel Cells : Methodology and Technology." *Environmental Science & Technology* 40(17): 5181–92. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0605016>.
- Villa Gomez, Denys Kristalia. 2013. *Simultaneous Sulfate Reduction and Metal Precipitation in an Inverse Fluidized Bed Reactor*.
- Visser, a. et al. 1993. "Anaerobic Degradatio of Volatile Fatty Acids at Different Sulphate Concentrations." *Applied microbiology and biotechnology* 40: 549–56.
- Wang, De Bin et al. 2014. "Electricity Generation from Sediment Microbial Fuel Cells with Algae-Assisted Cathodes." *International Journal of Hydrogen Energy* 39(25): 13224–30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.06.141>.
- Weijma, Jan et al. 2002. "Optimisation of Sulphate Reduction in a Methanol-Fed Thermophilic Bioreactor." *Water Research* 36(7): 1825–33.
- Zhang, Baogang et al. 2009. "A Novel UASB-MFC-BAF Integrated System for High Strength Molasses Wastewater Treatment and Bioelectricity Generation." *Bioresource Technology* 100(23): 5687–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.045>.

———. 2012. “Investigation and Optimization of the Novel UASB-MFC Integrated System for Sulfate Removal and Bioelectricity Generation Using the Response Surface Methodology (RSM).” *Bioresource Technology* 124: 1–7.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.045>.

Zhang, Tian et al. 2014. “Sulfur Oxidation to Sulfate Coupled with Electron Transfer to Electrodes by *Desulfuromonas* Strain TZ1.” *Microbiology (United Kingdom)* 160(PART 1): 123–29.

ANEXOS

Anexo I

Solución de metales traza

Reactivo	Cantidad (g/L)
H ₃ BO ₃	0.5
FeSO ₄ *7H ₂ O	2.8
(NH ₄)Mo ₇ O ₄ *4H ₂ O	0.05
KAl(SO ₄) ₂ *12H ₂ O	0.175
NiSO ₄ *6H ₂ O	0.025
Na ₃ Co(NO ₂)	3.4
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.16
EDTA	1.0
Resarzurina	0.2

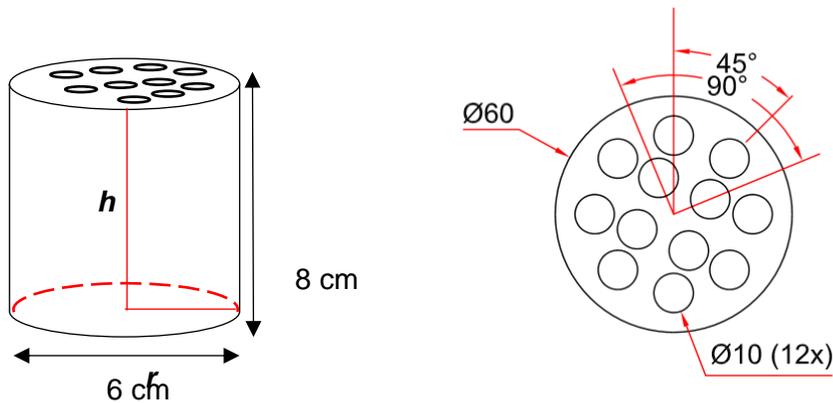
Solución de vitaminas

Reactivo	Cantidad (g/L)
Biotina	0.02
p-aminobenzoato	0.05
pantotenato	0.05
Nicotinamida	0.05
Ácido fólico	0.02
Tiamina	0.05
Piridoxina	0.1

Anexo 2

Cálculo del are superficial de los electrodos

Para el cálculo del área superficial de los electrodos, se determinó el área completa del cilindro, a la cual se le resto el área de las circunferencias pequeñas (x 12) y posteriormente le sumó el área de los cilindros interiores (perforaciones x 12).



$$A_{\text{cilindro}} = 2\pi hr + 2\pi r^2 = 207.33 \text{ cm}^2$$

$$A_{\text{circunferencias pequeñas}} = 2\pi r_i^2 * 12 = 18.84 \text{ cm}^2$$

$$A_{\text{perforaciones}} = 2\pi r h * 12 = 301.56 \text{ cm}^2$$

$$A_{\text{total}} = A_{\text{cilindro}} - A_{\text{circunferencias pequeñas}} + A_{\text{perforaciones}} = 490.05 \text{ cm}^2$$

Donde

$$\pi = 3.1416$$

h = altura (8 cm)

r = radio del cilindro (3 cm)

r_i = radio de las perforaciones (0.5 cm)

Anexo 3

Concentraciones de trabajo de compuestos y reactivos utilizados

Compuesto	Concentración (g/L)	Concentración molar (M)
Acetato	2.814	0.0468
Propionato	0.330	0.0044
Butirato	0.276	0.003
Sulfato	6	0.0422
Sulfuro de hidrógeno (HS ⁻ⁱ)	1.06	0.031
Sulfuro de hidrógeno (HS ^{-g})	1.06	0.031

Anexo 4

Compuesto	Energía libre de formación (ΔG_f° en KJ/mol)
Ion hidrógeno H ⁺ (10 ⁻⁷)	-39.87
Agua (H ₂ O)	-273.17
Dióxido de carbono (CO ₂)	-394.4
Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	-586.85
Sulfato (SO ₄ ⁻²)	-744.63
Sulfuro de hidrógeno (HS ⁻ⁱ)	12.05
Sulfuro de hidrógeno (HS ^{-g})	-33.56
Acetato (CH ₃ COO ⁻)	-369.41
Propionato (CH ₃ CH ₂ OO ⁻)	-361.08
Butirato (CH ₃ CH ₂ CH ₂ OO ⁻)	-352.63

Madigan et al. (2003)