

**REDUCCIÓN DE CROMO EN ESTADO DE OXIDACIÓN (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) Y GENERACIÓN DE  
ENERGÍA ELÉCTRICA EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA (CCM) DE  
BIOCÁTODO**

**STEFANIA LÓPEZ BETANCOURT**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2014**

**REDUCCIÓN DE CROMO EN ESTADO DE OXIDACIÓN (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) Y GENERACIÓN DE  
ENERGÍA ELÉCTRICA EN UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA (CCM) DE  
BIOCÁTODOS**

**STEFANIA LÓPEZ BETANCOURT**

**Trabajo de grado optar el título de Químico**

**DOLLY REVELO  
MÁGISTER EN BIOLOGÍA  
DIRECTORA**

**NELSON HURTADO  
DOCTOR EN QUÍMICA  
ASESOR**

**JAIME RUIZ  
MÁGISTER EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA  
ASESOR**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2014**

**Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad del autor.**

**Artículo 1ro del Acuerdo No 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.**

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

**DOLLY REVELO**  
Directora

**LUIS ALEJANDRO GALEANO**  
Jurado

**JUAN JOSÉ LOZADA CASTRO**  
Jurado

**San Juan de Pasto, diciembre de 2014**

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	16
1. ANTECEDENTES.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
3. MARCO TEÓRICO .....	21
3.1.1 Métodos para la recuperación de cromo. ....	22
3.1.2 Industria del cuero en el departamento de Nariño.. ....	22
3.2 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (CCMs).....	23
3.3 SUSTRATOS .....	24
3.4 MICROORGANISMOS.....	25
3.4.1 Biopelículas.....	26
3.5 BIOCÁTODOS .....	27
3.6 DESEMPEÑO ELÉCTRICO DE LAS CCMs.....	28
3.7 PARAMETROS ANALÍTICOS .....	30
3.7.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	30
3.7.2 Método de Análisis de Cromo ( $\text{Cr}^{6+}$ ).....	30
3.8 APLICACIONES y AVANCES DE LAS CCMs.....	31
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
4.1 Diseño de las CCMs .....	33
4.2 Recolección de las muestras ambientales fuente de microorganismos .....	33
4.3 Medio de cultivo e inóculos .....	34
4.4 Aclimatación.....	35
4.5 Operación de las CCMs .....	36
4.6 Determinación de voltaje (mV) y densidad de potencia ( $\text{mW} / \text{m}^2$ ) en las CCMs de biocátodo .....	36
4.7 Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) .....	37
4.7.1 Curva de calibración .....	37
4.8 Determinación de cromo ( $\text{Cr}^{6+}$ ).....	38
4.8.1 Curva de calibración .....	38
4.8.2 Tratamiento, preservación y almacenamiento de las muestras para cálculos de DQO y $\text{Cr}^{6+}$ .....	39
4.9 Determinación de Eficiencia Coulómbica (EC) en las CCMs de biocátodo.....	39

4.10 Diseño Experimental y análisis estadístico.....	39
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
5.1 DISEÑO DE LAS CCMs.....	41
5.2 MICROORGANISMOS EMPLEADOS Y ACLIMATACIÓN.....	41
5.3 GENERACIÓN DE VOLTAJE (mV) EN LAS CCMs DE BIOCÁTODO.....	42
5.4 DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO).....	47
5.4.1 Curva de calibración.....	47
5.4.2 Análisis de remoción de MO en las CCMs de biocátodo.....	48
5.5 DETERMINACIÓN DE CROMO (Cr <sup>6+</sup> ).....	51
5.5.1. Curva de calibración.....	51
5.5.2. Análisis de (Cr <sup>6+</sup> ) en las CCMs de biocátodo.....	52
5.6 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA COULÓMBICA (EC) EN LAS CCMs DE BIOCÁTODO.....	57
CONCLUSIONES.....	61
RECOMENDACIONES.....	62
REFERENCIAS.....	63
ANEXOS.....	69

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Secado de pieles cerca al río Pasto.....	22
Figura 2. Esquema Básico de una Celda de Combustible Microbiana (CCM).....	23
Figura 3. Esquema de reducción de $\text{Cr}^{6+}$ en una CCM de biocátodo.....	28
Figura 4. Reacción de formación del complejo Cr(III)-difenilcarbazona.....	30
Figura 5. a. Celda de Combustible Microbiana (CCM) de biocátodo.....	33
Figura 5. b. Electrodo de grafito.....	33
Figura 6. Fuentes de las muestras ambientales empleadas como inóculos para las CCMs de biocátodo.....	34
Figura 6. a. Laguna de igualación fuente de lodos anaerobios.....	34
Figura 6. b. Sedimentador de la planta fisicoquímica fuente de los lodos sulfidogénicos...	34
Figura 6. c. Punto de desagüe de la fuente de las aguas residuales de las curtiembres sobre el río Pasto.....	34
Figura 7. Celdas de combustible de biocátodo para la reducción de cromo hexavalente y generación de energía.....	36
Figura 7. a. CCM con inóculos: Lodos anaerobios-Lodos Sulfidogénicos.....	36
Figura 7. b. CCM con inóculos: Lodos Anaerobios- Agua del río Pasto.....	36
Figura 8. Instrumentos para la determinación de DQO.....	37
Figura 9. Espectrofotómetro Pharo 3000.....	38
Figura 10. Electrodo con biopelícula.....	42
Figura 11. Generación de voltaje en la CCM que contiene glucosa a 0,25 M y lodos sulfidogénicos (S1).....	44
Figura 12. Generación de voltaje en la CCM que contiene glucosa a 0,1 M (S2) y 0,05 M (S3) y lodos sulfidogénicos.....	44
Figura 13. Generación de voltaje en las CCMs de biocátodo P1, P2, P3.....	45
Figura 14. Curva de calibración para la cuantificación de la demanda química de oxígeno (DQO).....	48
Figura 15. Efectos individuales de cada factor sobre % remoción MO.....	50
Figura 16. Variación del % de remoción de MO a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.....	51
Figura 17. Curva de calibración para la cuantificación de $\text{Cr}^{6+}$ .....	51
Figura 18. Efectos individuales de cada factor sobre cromo.....	54

Figura 19. Variación del % porcentaje de reducción de $\text{Cr}^{6+}$ con diferentes inóculos por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.....	55
Figura 20. Variación del % reducción de $\text{Cr}^{6+}$ a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.....	56
Figura 21. Variación de EC a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.....	59

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de agua residual sintética contenida en la cámara anódica.....	35
Tabla 2. Composición de la solución catódica.....	35
Tabla 3. Diseño experimental.....	40
Tabla 4. CCMs de biocátodo como unidades experimentales para evaluar la reducción de $\text{Cr}^{6+}$ y la generación de energía con diferente tiempo total de operación.....	43
Tabla 5. Comportamiento eléctrico de las celdas S y P.....	45
Tabla 6. Porcentaje de remoción de materia orgánica en las CCMs de biocátodo.....	48
Tabla 7. Análisis de Varianza para % remoción de MO.....	49
Tabla 8. Pruebas de Múltiple Rangos para % remoción de MO por ciclos.....	50
Tabla 9. Reducción de $\text{Cr}^{6+}$ en las CCMs de biocátodo.....	52
Tabla 10. Análisis de Varianza para % reducción de cromo.....	52
Tabla 11. Pruebas de Múltiple Rangos para cromo por ciclos.....	54
Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para cromo por inóculos.....	55
Tabla 13. Eficiencia Coulómbica (%) de las CCMs de biocátodo.....	57
Tabla 14. Análisis de Varianza para EC.....	58
Tabla 15. Pruebas de Múltiple Rangos para EC por concentración.....	58

|

## LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Generación de corriente eléctrica en la CCMs de biocátodo S1, S2, S3.

Anexo A. Generación de corriente eléctrica en la CCMs de biocátodo P1, P2, P3.

Anexo B. Análisis estadístico de la curva de calibración de DQO.

Anexo C. Datos de DQO inicial y final por cada ciclo de operación en las CCMs de biocátodo.

Anexo D. Resultados del análisis estadístico del método para la cuantificación de  $\text{Cr}^{6+}$

Anexo E. Modelo de Monod

## ABREVIATURAS

A Área de la superficie del electrodo, m<sup>2</sup>  
ARS Agua residual sintética  
BEQ Bioelectroquímica  
BSR Bacterias sulfato reductoras  
CCM Celda de combustible microbiana  
CRB Bacterias reductoras de cromo  
DP Densidad de potencia, mW/m<sup>2</sup>  
DQO Demanda química de oxígeno, mgO<sub>2</sub>/L  
EC Eficiencia Coulómbica  
I Corriente, A  
KHP Ftalato ácido de potasio  
MIP Membrana de intercambio de protones  
MO Materia orgánica  
P Aguas del río Pasto  
RSA Relleno sanitario antanas  
R Resistencia, ohmios Ω  
S Lodos sulfidogénicos  
mV Milivoltios  
mW Miliwatts

## GLOSARIO

**ÁNODO:** Electrodo negativo en el que ocurre la reacción de oxidación por pérdida de electrones.

**CALIBRACIÓN:** Proceso para asegurar que la señal de la medición dada por un equipo o instrumento sea correcta y precisa.

**CÁTODO:** Electrodo positivo en el que ocurre la reacción de reducción por ganancia de electrones.

**CARGA ELECTRICA:** Propiedad de la materia que se manifiesta mediante fuerzas de atracción y repulsión.

**CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS:** Dispositivo que utiliza microorganismos para convertir la energía química contenida en la materia orgánica en energía eléctrica.

**CICLO:** Tiempo empleado por los microorganismos en la remoción de materia orgánica para la generación de energía.

**CONDUCTOR:** Material en el que existe un gran número de cargas en su interior y estas se mueven fácilmente de un lugar a otro.

**CORRIENTE ELECTRICA:** Es la circulación de la carga a través de un conductor.

**CURVA DE CALIBRACIÓN:** Gráfica que indica la variación de la señal analítica respecto a la cantidad de analito.

**DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO):** Es una medida de la cantidad de oxígeno consumido por la porción de materia orgánica existente en la muestra.

**DESVIACIÓN ESTANDAR:** Representa la dispersión de la serie de medidas realizadas con respecto a su valor medio.

**ELECTRODO:** Es un conductor eléctrico que puede estar en contacto con un líquido o gas. Sistema físico en el que se produce una reacción redox.

**INOCULO:** Es una suspensión de microorganismos que se transfieren a un medio de cultivo para su reproducción.

**INTENSIDAD DE CORRIENTE:** Flujo de cargas eléctricas por unidad de tiempo.

**LINEALIDAD:** Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en rango definido.

**LÍMITE DE DETECCIÓN:** Es la cantidad o el contenido del analito que corresponde a la señal de medición más baja que con cierta confianza.

**LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:** Es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con cierta confianza.

**LODOS:** Fracción líquida-semisólida compuesta de materia orgánica, materia sólida y microorganismos.

**MICROORGANISMOS:** Organismos microscópicos que incluyen varios grupos como las bacterias.

**PRECISIÓN:** Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea.

**RELLENO SANITARIO:** Sistema diseñado para la disposición final de los residuos sólidos no aprovechables que minimiza los efectos en la salud y el medio ambiente. Lugar donde se depositan los residuos producidos por una ciudad, población o zona habitada.

**SUSTRATO:** Fuente de carbono (nutriente) importante para cualquier proceso biológico y fuente de energía.

**VOLTAJE:** Flujo de electrones a través de una resistencia producido por la diferencia de electrones entre ánodo y cátodo.

## RESUMEN

En este trabajo se utilizaron Celdas de Combustible Microbianas de biocátodo de doble cámara separadas con puente salino para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y generación de energía eléctrica. En la cámara anódica se emplearon lodos anaerobios y glucosa a diferente concentración para la generación de energía y en la cámara catódica lodos sulfidogénicos o aguas del río Pasto (contaminadas con aguas residuales de curtiembres) para catalizar la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ .

Para evaluar el desempeño de las celdas se calcularon los porcentajes de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , los porcentajes de remoción de materia orgánica (MO) y la generación de voltaje en el tiempo para el cálculo de densidad de potencia (DP) y eficiencia coulombica (EC).

En las CCMs de biocátodo reductoras de  $\text{Cr}^{6+}$  se observó que el aumento de la concentración de glucosa implicó una disminución en la generación de voltaje, así como también en parámetros como: % remoción de MO (<50 %) y EC (<0,03 %), lo que indicó una relación inversa entre la concentración de sustrato y estas variables. De esta forma las CCMs operadas a menor concentración de glucosa (0,05 M) P3 y S3 fueron las más eficientes obteniéndose 97,9 % y 91,5 % de remoción de MO, 86,3 % y 70 % de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y 0,923 % y 1,045 % de EC respectivamente, resultando ser dispositivos atractivos para la remoción de materia orgánica y reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , no obstante, requiere futuros estudios para incrementar la producción de energía eléctrica.

## ABSTRACT

In this work, reducing  $\text{Cr}^{6+}$  and power generation from biocathode microbial fuel cell in a dual chamber salt bridge. In the anode chamber were use anaerobic sludge to different glucose concentrations and in the cathode chamber were use sulfidogenic sludge or river waters Pasto (contaminated with tannery wastewater) to catalyze the reduction of  $\text{Cr}^{6+}$ .

To evaluate the performance of the cells by the percentages of  $\text{Cr}^{6+}$  is calculated, the percentages of organic matter (OM) removal and voltage generation in time for the calculation of power density (PD) and coulombic efficiency (CE).

Reductive on biocathode CCMs of  $\text{Cr}^{6+}$  was observed that increasing the glucose concentration resulted in a decrease in the voltage generation, and also on parameters as: % MO (<50 %) removal and EC (<0,03 %), indicating an inverse relationship between substrate concentration and these variables. CCMs thus operated to lower the glucose concentration (0,05 M) P3 and S3 were the most efficient yield 97,9% and 91,5% removal of MO, 86,3 % and 70 % reduction of  $\text{Cr}^{6+}$  0,923 % and 1,045% of EC respectively, proving to be attractive devices for the removal of organic matter and reduction of  $\text{Cr}^{6+}$ , however, requires further studies to increase production of electricity.

## INTRODUCCIÓN

Las Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) son dispositivos capaces de utilizar aguas residuales naturales o de desechos y convertirlos en energía eléctrica; sus aplicaciones, se han ido extendiendo con los años y avances con respecto a la arquitectura, sustratos, microorganismos, materiales, mejoran el rendimiento de las mismas; aunque las primeras aplicaciones técnicas han comenzado a surgir, aún se requiere de mayor investigación fundamental para aprovechar esta tecnología que combina distintas disciplinas de investigación como: ingeniería, electroquímica, microbiología, biología molecular, así como la biotecnología y la tecnología medioambiental (Schröder, 2009).

Una CCM convencional permite la oxidación de materia orgánica sobre un ánodo colonizado por microorganismos, hasta  $\text{CO}_2$  y protones, derivado de ello, se transfieren electrones (mediante un circuito eléctrico externo al sistema) hasta un cátodo abiótico, en el que se lleva a cabo la reducción del  $\text{O}_2$  para formar agua; siendo su función específica la generación de energía eléctrica (Burgos, 2012); sin embargo, en otras celdas se ha considerado la posibilidad de utilizar microorganismos en la cámara catódica de la misma, lo que introdujo el concepto de biocátodos; esto ha atraído especial atención en los últimos años puesto que permiten reemplazar cátodos que incorporan metales preciosos como el platino (Pt) que catalizan la reacción de reducción de oxígeno, además sugiere la posibilidad de utilizar otro tipo de aceptores finales.

Las CCMs de biocátodo, utilizan microorganismos electroquímicamente activos tanto en el ánodo como el cátodo; los microorganismos del cátodo son capaces de biocatalizar la reducción de componentes no deseados que incluyen contaminantes como:  $\text{NO}_3^-$ , 2-clorofenol,  $\text{ClO}_4^-$ , U(VI),  $\text{Cr}^{6+}$  y  $\text{CO}_2$  (Huang et al., 2010). Las CCMs de biocátodo son una promesa tecnológica viable que se ven potencializadas debido a la versatilidad y activa participación de los microorganismos en diferentes situaciones, lo que significa un bajo costo en la inversión y mayor facilidad para llevar a cabo el proceso de biorremediación y obtención de energía.

Los metales pesados juegan un papel importante en varias aplicaciones industriales, médicas y de uso doméstico. Sin embargo, como constituyentes de los efluentes de muchas industrias, los metales pesados también representan un problema grave para el medio ambiente y la salud pública debido a su toxicidad, bioacumulación y no biodegradabilidad (Mathuriya y Yakhmi, 2014), entre ellos se destaca el cromo, que si bien es ampliamente utilizado en galvanoplastia, fabricación de tintes y en curtiembres, con un manejo inadecuado se puede introducir en el medio ambiente a través del suelo y el agua, como especies ( $\text{Cr}^{3+}$ ) o ( $\text{Cr}^{6+}$ ), este último, se considera altamente oxidante lo cual a su vez lo hace bastante tóxico para el medio ambiente.

En la ciudad de San Juan de Pasto, el  $\text{Cr}^{6+}$  se presenta de manera soluble en aguas residuales de procesos como la curtición de cueros, estos se desarrollan artesanalmente en zonas aledañas al río Pasto y no se realiza un tratamiento a las aguas residuales antes de verterlas

sobre el mismo, pues las propuestas que ofrece el mercado para depurar estas aguas, son costosas y no se acomodan a la infraestructura de estas pequeñas industrias (Castillo y Caicedo, 2004). Los residuos de las curtiembres siempre han constituido un problema importante que debe tratarse (Álzate, 2004).

A nivel mundial se han propuesto estrategias de biorremediación para la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  desde métodos químicos, electroquímicos y biológicos (Barrera et al., 2012; Dhal et al., 2013; Mathuriya y Yakhmi, 2014; Xafenias et al., 2014) entre ellas se destacan las CCMs de biocátodo como una tecnología que han mostrado un gran potencial para la reducción del mismo (Li et al., 2009; Tandukar et al., 2009; Huang et al., 2010; Xafenias et al., 2013; Singhvi and Chhabra, 2013).

En este contexto, el consorcio de microorganismos seleccionados para la reducción de cromo es uno de los aspectos claves. En esta investigación se consideraron dos fuentes de microorganismos, (1) lodos sulfidogénicos que poseen bacterias sulfatoreductoras (BSR) que tienen la capacidad de usar tanto sulfato como aceptor final de electrones en la respiración como el  $\text{Cr}^{6+}$  (Giraldo, 1993; Soledad, 2006) y (2) aguas del río Pasto contaminadas, para aprovechar las bacterias allí presentes que son resistentes a este metal.

Con base en lo anterior en esta investigación se planteó como objetivo evaluar la reducción de cromo estado de oxidación (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) y la generación de energía eléctrica en CCMs de biocátodo, para lo cual se diseñó y construyó una CCM de doble cámara con características especiales para estudiar su desempeño como una CCM de biocátodo que no solamente permitió evaluar la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  catalizado por distintos inóculos, sino también la remoción de materia orgánica con una consecuente obtención de energía eléctrica, dependiendo de la concentración de la glucosa como combustible de la CCM.

## 1. ANTECEDENTES

La relación entre generación de electricidad y procesos metabólicos fue estudiada por primera vez en el siglo XVIII, cuando Luigi Galvani observó el efecto de la electricidad en patas de rana y estableció la primera teoría de “electricidad animal”, en 1910 Potter demostró la producción de energía eléctrica en cultivos vivos tanto de *Escherichia coli* como *Saccharomyces*, usando electrodos de platino (Liu y Logan, 2004), en los años 70 y 80 se empezó a considerar la idea de utilizar microorganismos como catalizadores en Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) (Suzuki, 1976; Roller et al., 1984).

Investigaciones posteriores se han concentrado en identificar y caracterizar el tipo de microorganismos que conforman los consorcios bacterianos que participan en la formación de la biopelícula y de manera importante en el aporte de energía, sobre todo en la superficie del ánodo entre los cuales sobresalen: *Shewanella putrefaciens*, *Sulferreducens Geobacteraceae*, *Metallireducens Geobacter* y *Ferrireducens Rhodoferrax* (Lovley, 2008).

En los últimos años se empezó a considerar la posibilidad de utilizar microorganismos como catalizadores y/o mediadores en la cámara del cátodo (Rosenbaum et al., 2010), que considera como una estrategia que ayuda a superar algunas de las limitaciones como: utilización de catalizadores costosos y mediadores exógenos; con la ventaja adicional de utilizar las celdas para la eliminación de compuestos tóxicos y no deseados en el medio ambiente, tal es el caso de los metales pesados.

Cabe resaltar que el desempeño de una celda se ve limitado por varios factores, además del tipo de microorganismos que prevalecen dentro del sistema; tales parámetros son: tipo de separador (Membrana de intercambio protónico o puente salino), material anódico y catódico, sustrato, pH, temperatura de operación de la celda (Ríos, 2006), entre otros, por ejemplo: los sustratos que se utilizan para el funcionamiento de las CCM, pueden ser compuestos puros como: glucosa, acetato o butirato, o mezclas complejas sintéticas o naturales de agua doméstica y aguas residuales (Rabaey y Verstraete, 2005).

En cuanto a las CCMs de biocátodo, también se han empleado para el tratamiento de metales pesados que se encuentran de forma habitual en los medios contaminados por la actividad industrial, siendo el  $\text{Cr}^{6+}$  uno de los más recalcitrantes y dañinos, es altamente perjudicial y se acumula fundamentalmente en ambientes acuáticos, provocando desequilibrio en los diferentes ecosistemas, donde puede contribuir a la aparición de enfermedades en los humanos (Soledad, 2006).

La industria del curtido en Nariño hace parte de esta problemática ya que sus vertidos son altamente contaminantes, siendo el cromo el que representa una mayor amenaza, pues en las condiciones en las que se encuentra su capacidad de oxidarse de  $\text{Cr}^{3+}$  a  $\text{Cr}^{6+}$  aumenta, siendo este último cancerígeno. Estudios previos demuestran que la concentración de cromo

total presente en los vertidos de estas industrias en el departamento de Nariño es de 3400 mg/L (Castillo y Caicedo, 2001), siendo el límite máximo permisible 0,050 mg/L.

Barrera et al. (2012), hacen una revisión de las tecnologías disponibles a nivel mundial para reducir de manera eficiente el  $\text{Cr}^{6+}$  en solución por medio de métodos químicos, electroquímicos y biológicos; todos ellos buscan la reducción a la forma de  $\text{Cr}^{3+}$ , la cual es menos tóxica. Uno de los principales problemas de la reducción a través de agentes químicos es el consumo adicional de los mismos y la disposición y almacenamiento de los desechos pueden ser difíciles de tratar posteriormente (Kitchen et al., 2008). Por otro lado, los métodos biológicos requieren menos reactivos, son relativamente fáciles y económicos de operar. Sin embargo, en los procesos biológicos de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , siempre existe la necesidad de la adición de una fuente externa de carbono, que aumenta el costo cuando se utilizan compuestos puros (Tandukar et al., 2009), de no ser así se pueden utilizar aguas residuales que perfectamente pueden proporcionar la fuente de carbono requerida.

El primer informe de la reducción de ( $\text{Cr}^{6+}$ ) microbiológicamente catalizada fue propuesto por Romanenko y Koren'Ken en 1977, en este proceso se utilizaron microorganismos aerobios y anaerobios que lograron reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  y a partir de este trabajo se consideró la posibilidad de utilizar un tratamiento biológico que sea más accesible. Un avance de importancia ambiental y biotecnológica fue determinar la capacidad de un cultivo mixto de biopelículas bacterianas reductoras de sulfato (BSR) para reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  insoluble (Smith y Gadd, 2000); hecho que se tuvo en cuenta para utilizarlo como inóculo para este trabajo. Mathuriya y Yakhmi (2014), hacen una revisión del tipo de CCMs con cátodo abiótico o biocátodo que se han utilizado para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  como tecnologías potenciales de recuperación de este metal.

Li et al., (2009), emplearon una CCM de cátodo abiótico a pH 2 para la remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  de aguas residuales provenientes de la industria de la galvanoplastia y generar electricidad de forma simultánea, demostrando que puede ser una tecnología prometedora para la eliminación de  $\text{Cr}^{6+}$  de aguas residuales de galvanoplastia.

Tandukar et al., (2009), demostraron la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  asistida por un consorcio mixto de microorganismos y la consecuente generación de electricidad, además de la caracterización de la comunidad microbiana asociada a la reducción del cromo; el cromo reducido fue detectable en el sobrenadante del analito que indicó la eliminación completa de cromo como hidróxido crómico  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  precipitado.

En otro estudio, Huang et al., (2010), mejoraron la tasa de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y producción de energía a partir de CCMs de biocátodo utilizando bacterias nativas de un sitio contaminado con  $\text{Cr}^{6+}$ , como inóculo, además trabajaron con un área superficial del cátodo relativamente grande, aumentando la formación de biopelícula sobre el electrodo.

En el Grupo de investigación en Bioelectroquímica (BEQ), se realizaron estudios exploratorios en CCMs de biocátodo reductoras de  $\text{Cr}^{6+}$  utilizando lodos activados,

obteniéndose que la CCM inoculada con lodos anaerobios, permitió remover la materia orgánica (10%), generar corriente (0,0390 mA) y reducir cromo hexavalente (Bolaños et al., 2011), por lo tanto, esta investigación es una profundización en el estudio de estos aspectos.

Singhvi y Chhabra, (2013), utilizaron una CCM de doble cámara separadas con puente salino con cátodo abiótico, utilizando en la cámara anódica biomasa de algas para la producción de energía y para la desintoxicación de agua contaminada con  $\text{Cr}^{6+}$ .

Xafenias et al., (2013), utilizaron una CCM de biocátodo para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  usando un cultivo de *Shewanella oneidensis* y como sustrato en ambas cámaras lactato, demostrando que es eficaz para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y en la producción de corriente.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la reducción de cromo en estado de oxidación (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) y la generación de energía eléctrica en CCMs de biocátodo.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

\*Valorar la eficiencia para la reducción de cromo en estado de oxidación (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) de diferentes tipos de inóculos en una CCM de biocátodo.

\*Cuantificar la reducción de cromo en estado de oxidación (6+) ( $\text{Cr}^{6+}$ ) en las CCMs de biocátodo, mediante Espectroscopia UV-VIS.

\*Establecer la producción de energía eléctrica a partir de diferentes concentraciones de glucosa en la cámara anódica de la CCM.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS DEL CROMO Y SUS APLICACIONES

El cromo generalmente existe en el ambiente acuático en dos estados: el trivalente  $\text{Cr}^{3+}$  y hexavalente  $\text{Cr}^{6+}$  (Barrera et al., 2012); el  $\text{Cr}^{3+}$  se reconoce como un nutriente esencial, se constituye como un oligoelemento indispensable para procesos bioquímicos y fisiológicos en las células, específicamente tiene acciones en el metabolismo de la glucosa, el colesterol y los ácidos grasos, además desempeña un papel importante en diferentes reacciones enzimáticas (Bábula et al., 2008 ; Mohan y Pittman, 2006); se utiliza ampliamente como un suplemento nutricional para humanos y animales (Eastmond et al., 2008).

Por otra parte, el  $\text{Cr}^{6+}$  es considerado la forma más tóxica del metal es altamente oxidante y se presenta de manera soluble en aguas residuales industriales debido a la alta movilidad de sus iones (Kitchen, 2008); las especies más probables  $\text{Cr}^{6+}$  en solución acuosa son: dicromato  $(\text{Cr}_2\text{O}_7)^{2-}$ , cromato  $(\text{CrO}_4)^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ , y  $\text{HCrO}_4^-$ , la distribución relativa de estos depende del pH de la solución, en la concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  y del potencial redox (Barrera et al., 2012); la presencia de  $\text{Cr}^{6+}$  provoca desequilibrio en los diferentes ecosistemas, contribuyendo a la aparición de enfermedades en los humanos (Soledad, 2006).

Los compuestos de cromo tienen múltiples aplicaciones, por ejemplo: las sales de Cr (III) se utilizan en la industria textil para colorantes, cerámica, vidrio y en las curtiembres, mientras que las sales de  $\text{Cr}^{6+}$  son útiles en aleaciones, galvanoplastia, acero, curtido de cuero, pinturas y producción de fungicidas (Tandukar et al., 2009). La utilización de las sales de cromo en el proceso de curtición, proporcionan mejores características al cuero, más resistencia, mayor durabilidad y además evita la putrefacción con el agua (Gil et al., 2006), las sales de cromo más empleadas en curtición son las de alumbre de cromo, sulfato básico de cromo y sulfato de cromo comerciales (IBTEN, 2005), sin embargo los residuos generados del proceso de curtición por su alta toxicidad siempre han constituido un problema importante que debe tratarse.

Estudios recientes se han ocupado de la repercusión negativa de los metales pesados en los diversos ecosistemas y la salud del ser humano (Chojnacka, 2010), de ahí la importancia que tiene el estudio de los metales pesados en el medio ambiente, debido a su alta toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación en los organismos vivos. El  $\text{Cr}^{6+}$  es de particular preocupación ambiental debido a su toxicidad y movilidad por lo cual es difícil de eliminar de las aguas residuales industriales porque se difunde rápidamente a través de ambientes de suelo y acuáticos (Barrera et al., 2012).

Los efectos biológicos del cromo dependen de su estado de oxidación, el  $\text{Cr}^{6+}$  se sabe que tiene 100 veces más toxicidad que el  $\text{Cr}^{3+}$  (Khezami y Capart, 2005), este puede atravesar fácilmente las membranas biológicas y puede ser transportado activamente al interior de las células por medio del transportador de sulfato (Soledad, 2006) debido a su analogía química.

La exposición crónica a altos niveles de  $\text{Cr}^{6+}$  por inhalación o la exposición oral pueden producir efectos sobre el hígado, riñón, sistema inmunológico. La exposición dérmica puede causar dermatitis de contacto, sensibilidad, y ulceración de la piel (Saha et al., 2011).

**3.1.1 Métodos para la recuperación de cromo.** Los métodos convencionales para la recuperación del cromo de aguas residuales industriales que buscan la reducción a la forma de  $\text{Cr}^{3+}$ , que es menos tóxica, se basan en varios procesos fisicoquímicos como: adsorción, sedimentación, separación electroquímica, intercambio iónico, filtración de membrana, procesos de precipitación química y extracción con solvente (Tandukar et al., 2009); sin embargo, estas metodologías pueden llegar a ser muy costosas y llevar a un tratamiento adicional en disposición y almacenamiento de desechos (Barrera et al., 2012). Por lo anterior, un proceso de tratamiento atractivo es la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  utilizando Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) de cátodo abiótico o biocátodo que se han convertido en una potencial tecnología para la recuperación de este metal pesado (Mathuriya y Yakhmi, 2014).

**3.1.2 Industria del cuero en el departamento de Nariño.** La industria del cuero en Nariño probablemente sea la más contaminante en términos de descargas sólidas, líquidas al medio ambiente, esto debido a que las pequeñas empresas no solo utilizan procesos de producción artesanal con baja tecnificación sino que también carecen de infraestructura y métodos de tratamiento de los residuos generados en estos procesos.

En el Municipio de Pasto, la mayoría de las curtiembres se ubican muy cerca a zonas residenciales y en las laderas del río Pasto lo que pone en riesgo la salud de sus habitantes (Figura 1), descargan sus aguas residuales en este; el 100% de los curtidores afirman que los vertidos de su industria causan niveles de contaminación bajo, esto probablemente porque no conocen a profundidad el impacto ambiental causado por los metales pesados en el agua del río Pasto (Castillo y Caicedo, 2004). Por otra parte, el 83% de establecimientos han instalado trampas de grasas, rejillas, canales y desarenadores, de tal forma que minimice el impacto causado por estas descargas, no obstante las descargas tienen un efecto adverso en la fauna acuática (Castillo y Caicedo, 2004; Álzate, 2004).

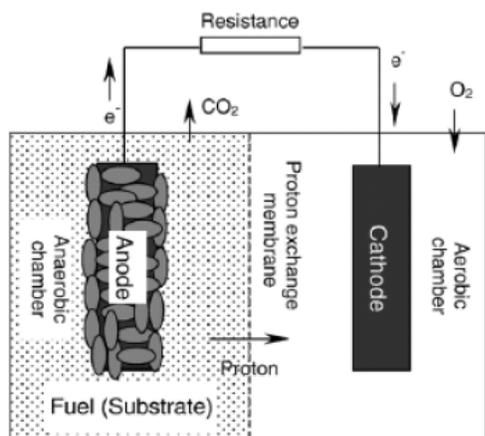


**Figura 1. Secado de pieles cerca al río Pasto. Fuente: Esta investigación.**

### 3.2 CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (CCMs)

Las (CCMs) son sistemas bioelectroquímicos catalizados por microorganismos que permiten la conversión directa de la energía química contenida en los enlaces de la materia orgánica a electricidad bajo condiciones anaerobias (Venkata et al., 2008).

Generalmente una CCM se encuentra compuesta por dos cámaras separadas por una membrana de intercambio protónico (MIP) o un puente salino y un circuito eléctrico conformado por dos electrodos (ánodo y cátodo), un conductor eléctrico y una resistencia externa (Ibáñez y Hernández, 2010), como se muestra en la Figura 2.



Anode: Ánodo  
Catode: Cátodo  
Anaerobic chamber : cámara anaeróbica  
Aerobic chamber : cámara aeróbica  
Fuel (Substrate): Combustible (Sustrato)  
Proton exchange membrane (PEM): Membrana de intercambio protónico  
Proton: Protón  
Resistance : Resistencia

**Figura 2. Esquema Básico de una Celda de Combustible Microbiana (CCM).** Tomada de Du et al., 2007.

A continuación, se mencionan con detalle las partes que componen una CCM y su funcionamiento.

**3.2.1 Cámaras anódica y catódica.** La cámara que contiene el ánodo, es llamada cámara anódica donde se lleva a cabo el proceso de oxidación, es en esta donde se almacena la fuente de microorganismos y el sustrato para la generación de energía eléctrica y remoción de materia orgánica (MO) por tratamiento biológico. La segunda cámara contiene el cátodo, llamada cámara catódica, en esta ocurre un proceso de reducción (Ibáñez y Hernández, 2010); en el caso general, el oxígeno es el aceptor más adecuado de electrones debido a su alto potencial redox, disponibilidad, bajo costo, sustentabilidad y la carencia de residuos químicos; sin embargo, para incrementar la velocidad de reducción de oxígeno se utilizan comúnmente catalizadores fabricados con metales nobles como el platino que es altamente costoso (Logan, 2006).

Para evitar el uso de este tipo de catalizadores en la reducción de oxígeno y además ampliar la utilidad de la celda, surge la necesidad de utilizar biocátodos su nombre se debe a que dentro de la cámara catódica se inoculan microorganismos que son los que catalizan la reacción de reducción y permiten el uso de receptores de electrones alternativos tales como:  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ , U (VI),  $\text{CO}_2$  y  $\text{Cr}^{6+}$  (Huang et al., 2010).

**3.2.3 Separador.** La separación de las cámaras anódica y catódica, se realiza normalmente utilizando una (MIP) o un puente salino, estos poseen funciones similares aunque su composición varíe entre uno y otro. Por ejemplo, la MIP de Nafion (producto de DuPont Inc.

USA) es el separador comúnmente usado, es una hoja de plástico delgada reforzada a base de un copolímero de PTFE (teflón/ácido perfluorosulfónico), su estructura molecular posibilita que absorba agua y una vez húmedo, conduce selectivamente iones de carga positiva, bloqueando los de carga negativa (Álzate et al., 2008). Por otro lado, un puente salino es un medio iónico con una barrera semipermeable en cada uno de sus extremos, a través de esas barreras pueden pasar pequeñas moléculas e iones, pero no moléculas grandes (Harris, 2001). Un puente salino “adecuado” se puede preparar con agar y KCl (mezcla gelatinosa) que frena la difusión de los líquidos entre los dos compartimientos de la celda permitiendo al mismo tiempo el flujo de iones (Ralph, 1977).

**3.2.4 Electroodos.** El rendimiento de las celdas, también se ve influido por el material del electrodo siendo el carbón el material de electrodo más versátil, está disponible como placas de grafito compacto, barras o gránulos, además se considera como un material ideal para construir un electrodo por su alta conductividad eléctrica y térmica, por ser inerte frente a los agentes químicos (salvo el oxígeno a alta temperatura), además son relativamente baratos, fáciles de manejar y tienen un área de contacto definida (Logan, 2006).

**3.2.5 Funcionamiento de la CCM.** El principio operacional de las CCMs se basa en la extracción y transferencia de electrones desde el metabolismo microbiano (cadena de transporte de electrones)(Sacco et al., 2008) hasta un aceptor final insoluble, tal como el electrodo (ánodo) (Rabaey y Verstraete, 2005). Los microorganismos en la cámara anódica oxidan los compuestos orgánicos y generan electrones y protones durante el proceso (Pant et al., 2010), los electrones son transferidos al ánodo y son transportados hacia el cátodo a través de un circuito externo de una resistencia (R), el flujo de electrones y la diferencia de potencial entre los electrodos dan lugar a la generación de energía eléctrica (Sacco et al., 2008); para mantener el balance de cargas, los protones generados en la reacción atraviesan una membrana permeable a protones o un puente salino y una vez en la cámara catódica se unen con el oxígeno (o de otro aceptor), para formar agua u otro compuesto reducido (Logan et al., 2006; Oliveira et al., 2013).

Además, es importante considerar que la cámara anódica debe operar sin la presencia de oxígeno en su interior ya que este gas hace que se pierda eficiencia en la operación del sistema puesto que los electrones serían aceptados por el oxígeno y no por el electrodo (Ibáñez y Hernández, 2007).

### **3.3 SUSTRATOS**

Los sustratos proporcionan no sólo la energía para el crecimiento de los microorganismos en las CCMs, sino también influyen en el rendimiento general de las mismas, constituyéndose como un factor clave que afecta en parámetros como: densidad de potencia (DP) y eficiencia coulombica (EC); además influye en la viabilidad económica de su operación (Sengodan y Hays, 2012). La concentración y el tipo de sustrato tienen incidencia sobre la comunidad microbiana y la producción de energía (Pant et al., 2010). Muchos sustratos se han utilizado como fuente de carbono para la generación de electricidad, incluyendo azúcares

simples, proteínas, ácidos volátiles, hasta materia orgánica compleja presente en las aguas residuales, corrientes de desechos domésticos, industriales y animales (Sengodan y Hays, 2012).

Pant et al. (2010), reportan los diferentes sustratos usados y la máxima corriente producida en las CCMs. En la mayoría de las CCMs, el acetato es el que usa comúnmente como sustrato debido a su resistencia hacia conversiones microbianas alternativas (fermentaciones y metanogénesis) que conducen a la alta EC y DP. La glucosa es otro sustrato utilizado habitualmente en las CCMs; Rabaey et al. (2003), reportaron una máxima densidad de potencia de  $216 \text{ W/m}^3$  en una CCMs operada en fed-batch utilizando glucosa como sustrato y cianuro férrico como cátodo oxidante. En otro estudio, se compararon las eficiencias de conversión de energía de acetato y glucosa como sustratos (Lee et al., 2008), siendo de un 42 % para el acetato y un 3 % para glucosa que a su vez produjo una baja generación de corriente. Chae et al. (2009), plantearon que, la baja EC obtenida por la glucosa, se debe al hecho de que es un sustrato fermentable, lo que implica su consumo por diversos metabolismos que compiten tales como: la fermentación y la metanogénesis que no producen electricidad.

### 3.4 MICROORGANISMOS

Las investigaciones se han centrado en identificar los consorcios bacterianos que participan en el aporte de energía. Muchos microorganismos poseen la capacidad de transferir los electrones derivados del metabolismo de la materia orgánica hasta el ánodo (Lovley, 2008). Los análisis de comunidades microbianas asociadas a los ánodos de las CCMs muestran una gran diversidad de géneros bacterianos dependiendo de la naturaleza del inóculo, del combustible y del tipo de CCM utilizada (Pant et al., 2010).

En las primeras investigaciones se emplearon cultivos puros, sin embargo se conoce que los cultivos mixtos o consorcios producen mayor energía que los cultivos puros (Chae et al., 2009), así en investigaciones subsiguientes se consideraron para la producción de electricidad inóculos provenientes de lodos anaerobios (Rabaey et al., 2003), aguas residuales domésticas e industriales (Min y Logan, 2004); aunque los mejores resultados se han obtenido empleando lodos anaerobios (Rabaey et al., 2003), siendo los optados para esta investigación.

Los microorganismos que han sido estudiados por tener capacidad de donar electrones a un ánodo de una CCM pertenecen a los géneros *Shewanella*, *Geobacter*, *Proteobacter* y *Pseudomonas*, sin embargo, son diversas las especies que se conocen hasta el momento y que están siendo identificadas empleando técnicas de biología molecular (Sharma y Kundu, 2010; Du et al., 2007). Por otra parte, los microorganismos también pueden aceptar directamente los electrones de los cátodos para la reducción de aceptores terminales de electrones, entre los receptores de electrones potenciales se incluyen: dióxido de carbono, nitratos, metales, cloro compuestos, ácidos orgánicos, entre otros (Lovley, 2011). La primera evidencia de la transferencia directa de electrones de los cátodos a los microorganismos provino de estudios con las especies *Geobacter* (Thrash y Coates, 2008).

Barrera et al., (2012), referencian la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  por diferentes tipos de bacterias, entre las que se destaca las bacterias reductoras de sulfato (BSR) (Singh et al., 2011) y seleccionadas también para este trabajo. Huang et al. (2010), a partir de un inóculo de bacterias nativas de un sitio contaminado con  $\text{Cr}^{6+}$  y utilizando una CCM de biocátodo mejoró la tasa de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y producción de energía, este último aspecto se consideró en el trabajo al utilizar agua del río Pasto cerca del desagüe de las curtiembres con el fin de aprovechar las bacterias presentes que son resistentes a este metal.

**3.4.1 Biopelículas.** Un factor que tiene gran relevancia es la formación de organizaciones microbianas llamadas biopelículas (biofilms) pueden crecer en la superficie del ánodo o biocátodo (Cristiani et al., 2013). El término biopelícula hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados generalmente dentro de una estructura de exopolímeros y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, que pueden presentar las siguientes características como: adherencia, heterogeneidad, resistencia a antimicrobianos y capacidad de comunicación intercelular (Betancourt et al., 2004).

La capacidad de formación de biopelículas no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y hoy se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formarlas, aunque su composición y estructura depende del microorganismo y de las condiciones en las que se forma (Soledad, 2006).

Teniendo en cuenta la formación de biopelículas dentro de las CCMs, se dice que una colonización satisfactoria o un enriquecimiento del ánodo mejora la producción de electricidad (Du et al., 2007) y con respecto al cátodo tiene la capacidad de convertirse en un biocátodo activo para la reducción de componentes inorgánicos (Cristiani et al., 2013), en este contexto para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , por lo anterior se convierten en unidades importantes dentro de la celdas (Ríos, 2006).

**3.4.2 Bacterias Sulfato reductoras (BSR).** Las bacterias sulfato reductoras (BSR) forman un grupo especializado de procariotes que tienen la capacidad de usar sulfato como aceptor final de electrones en la respiración. Son estrictamente anaerobias y por lo general, son muy sensibles a los medios óxicos. Se ha comprobado que la actividad metabólica de las BSR es máxima cuando se encuentran formando biopelículas (Soledad, 2006).

La utilización de BSR para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , ha sido de gran interés ya que pueden compartir propiedades fisiológicas tanto del metal como sulfato-reductoras y crecer con  $\text{Cr}^{6+}$  y otros metales como aceptores de electrones debido a su analogía química con el sulfato; en sedimentos contaminados con  $\text{Cr}^{6+}$ , se presentan mecanismos indirectos que promueven la reducción y son mediados por sulfuros (Soledad, 2006). Singh et al, (2011), utilizaron un consorcio con BSR en un sistema de biorreactor controlado, para determinar la tasa de reducción de sulfato, eliminación de DQO y remoción de cromo. Pagnanelli et al, (2012), utilizaron reactores de lecho fijo inoculados con BSR que crecen en etanol para un tratamiento biológico de aguas contaminadas con  $\text{Cr}^{6+}$ .

**3.4.3 Transferencia de electrones en las CCMs.** En una CCM las bacterias pueden transferir los electrones producidos a su aceptor terminal (ánodo), bien sea a través de la membrana celular o a partir de un mediador endógeno o exógeno soluble (Rabaey et al., 2003). Esta transferencia electrónica se puede conseguir por contacto directo a través de componentes de la cadena respiratoria, mediadores endógenos sintetizados por el organismo, o por nanohilos o pilis producidos por las bacterias, que son estructuras formadas por filamentos altamente conductoras que permiten el contacto directo con el ánodo (Ortiz et al., 2010).

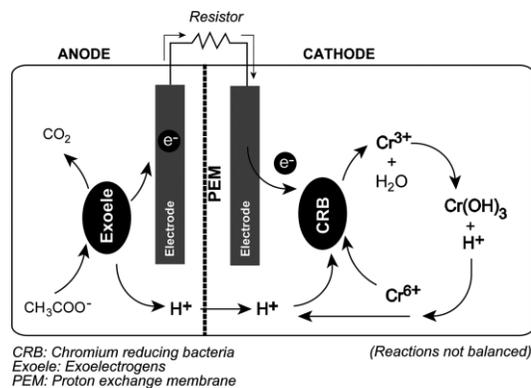
A pesar de existir estos mecanismos, la mayoría de los microorganismos son incapaces de transportar electrones es por ello que en las CCMs se suelen adicionar mediadores exógenos para facilitar el transporte electrónico desde el microorganismo al ánodo (Ortiz et al., 2010). Los mediadores redox son de naturaleza metal-orgánica o colorantes, como: el rojo neutro, el azul de metileno, la tionina, la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, o incluso Fe (III)-EDTA ferrocianuro de potasio, ácido disulfónico 2,6 antraquinona, y otros compuestos hidrofóbicos (Huang et al., 2011), estos compuestos deben cumplir una serie de requisitos como: tener una cinética rápida, penetrar fácilmente en la membrana celular, ser químicamente estables, no interferir con otras vías metabólicas y ser solubles en la solución en la que está inmerso el electrodo (Esteve, 2008). Sin embargo, el uso de estos presenta algunas desventajas tales como: alto costo, en algunos casos son ineficientes y pueden presentar cierta toxicidad, por lo que su aplicación en una CCM se ve limitada por cuestiones ambientales (Ríos, 2006; Esteve, 2008).

### 3.5 BIOCÁTODOS

El concepto de biocátodos surgió a partir de la necesidad de proporcionar un camino diferente que evite el uso de catalizadores nobles (el Pt es uno de los catalizadores más caros) para la reducción de oxígeno llevada a cabo en la cámara catódica de una CCM convencional y al tener en cuenta que las bacterias no solo son capaces de transferir los electrones a un electrodo sino también aceptarlos del mismo; las CCMs de biocátodo se diferencian de una CCM convencional, al utilizar en la cámara catódica microorganismos que actúan como biocatalizadores para asistir la transferencia de electrones.

Por esta razón algunos investigadores en los últimos 10 años han estado trabajando bajo el concepto de biocátodos, por ejemplo, Gregory et al., 2004, reportaron que un cultivo puro de *Geobacter metallireducens* fue capaz de reducir nitrato a nitrito en una CCM con electrodos de grafito; Clauwaret et al., 2007, operaron una CCM de biocátodo utilizado un consorcio microbiano que reducía nitrato como aceptor final de electrones. Rosenbaum et al., 2010 y Huang et al., 2011, reportan los tipos de aceptores de electrones y los microorganismos oxidantes en los biocátodos. La utilización de CCMs biocátodo, han mostrado potencial aplicación en la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en el tratamiento de aguas residuales. Tandukar et al., (2009), demostraron la reducción biológica de  $\text{Cr}^{6+}$  en el cátodo de una CCM con una consecuente generación de electricidad, mientras que Huang et al., (2010), mejoraron la tasa de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y producción de energía utilizando bacterias nativas de un sitio contaminado con  $\text{Cr}^{6+}$  como inóculo.

En la Figura 3, se muestra el mecanismo propuesto por Tandukar et al., (2009) para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en una CCM de biocátodo separada por una membrana de intercambio de protones (MIP), en la cámara anódica bacterias anaerobias (exoelectrógenas) y acetato como sustrato y en la cámara catódica bacterias reductoras de cromo (CRB); las bacterias anaerobias oxidan el acetato y transfieren los electrones al ánodo para que estos circulen hasta el cátodo vía circuito externo a través de una resistencia, los protones pasan a la cámara catódica a través de la MIP, los electrones y los protones generados los utiliza la CRB para catalizar la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$ .



**Figura 3. Esquema de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en una CCM de biocátodo.** Tomada de Tandukar et al., 2009

Los biocátodos son viables en las CCM porque pueden aventajar a los cátodos abióticos por diversas razones (Zhang et al., 2012): (1) el costo de construcción y operación de las CCMs puede ser reducido; (2) los catalizadores metálicos se omiten porque son los microorganismos los que funcionan como biocatalizadores; (3) tienen la capacidad de incluir la reducción de contaminantes tales como:  $\text{NO}_3^-$ , 2-clorofenol,  $\text{ClO}_4^-$ , U(VI),  $\text{CO}_2$  y  $\text{Cr}^{6+}$  (Huang et al., 2010); lo que sugiere proponer mejoras en el desempeño de las CCMs para aumentar las DP y las tasas de reducción química en estos sistemas (Tandukar et al., 2009), acrecentando así la viabilidad económica y ambientalmente sostenible de una CCM (Huang et al., 2010).

### 3.6 DESEMPEÑO ELÉCTRICO DE LAS CCMs

El desempeño eléctrico de una CCM se estudia a partir de mediciones periódicas de voltaje (V) que se realizan en la resistencia externa conectada entre el ánodo y el cátodo, a partir del voltaje se pueden determinar los siguientes parámetros: corriente eléctrica generada (I), densidad de potencia (DP) y eficiencia coulombica (EC) (Rismani-Yazdy et al., 2011).

La corriente surge en virtud de una diferencia de potencial aplicada en los extremos de un conductor, para el cálculo de esta se aplica la *ley de Ohm* que plantea que el voltaje a través de un resistor (R) que es proporcional a la corriente que fluye a través de él (Serway, 2001), como se indica en la Ecuación 1.

$$V=I \cdot R \text{ Ec 1.}$$

Donde, V es el voltaje en voltios (v), I es la corriente en amperios (A), R es la resistencia aplicada en ohmios ( $\Omega$ ).

La densidad de potencia (DP) se expresa como la potencia por unidad de área del electrodo anódico (1) (Sharma y Li, 2010) o la potencia por unidad de volumen del sustrato (2), (Luo et al., 2010), se calcula de la siguiente manera:

$$DP_A = I \cdot V / A \quad \text{Ec 2.} \quad DP_V = I \cdot V / v \quad \text{Ec 3.}$$

Donde, I es la corriente, V es el potencial, A es el área de la superficie del electrodo anódico en  $m^2$  y v es el volumen del sustrato de la cámara anódica.

La eficiencia coulombica (EC) es un parámetro que permite obtener la fracción de energía eléctrica que se puede generar en la CCM a partir de un sustrato determinado. Su medición es importante porque posibilita comparar el desempeño de diferentes CCMs.

La EC se define como la relación total de carga en coulombs realmente transferidos desde el sustrato al ánodo y la máxima carga posible si toda la eliminación de sustrato produjera corriente, como se indica en la siguiente expresión matemática (Luo et al., 2010):

$$EC = \frac{C_p}{C_t} \times 100\% \quad \text{Ec 4.}$$

Donde,  $C_p$ : cantidad total de carga coulombs (C), se determina integrando la corriente frente al tiempo, es decir (Ecuación 5):

$$C_p = \int_0^{t'} I \cdot dt \quad \text{Ec 5.}, \quad \text{que es igual a } C_p = I \cdot t' \quad \text{Ec 6.} \quad \text{si } I \text{ es constante, } t: \text{ tiempo en segundos (s).}$$

Para obtener la EC, se calcula mediante la siguiente ecuación 7:

$$EC = \frac{\sum_{i=1}^n I \cdot t_i \cdot M}{F b \Delta S v} \times 100\% \quad \text{Ec 7.}$$

Donde,

I: es la intensidad de corriente (A) producida en un tiempo  $t_i$ ,  $t_i$ : es el tiempo en segundos (s), F: constante de Faraday ( $96485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$  de electrones), b: número de moles de electrones producido por mol de DQO ( $4 \text{ mol e}^-/\text{mol DQO}$ ),  $\Delta S$ : eliminación de la concentración de DQO ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), v: volumen del líquido de la cámara anódica (L) y M: peso molecular del oxígeno ( $32 \text{ g/mol}$ ) empleado en la CCM. No obstante el desempeño eléctrico de una CCM depende de numerosos factores, que implican un aumento o disminución en la cantidad de energía eléctrica generada, entre los aspectos fundamentales se encuentran (Burgos, 2012):

- a) La arquitectura del sistema.
- b) Materiales de los electrodos (ánodo y cátodo).
- c) MIP o puente salino.
- d) Resistencia interna.
- e) Los aceptores finales de electrones en la cámara catódica.
- f) Distancia de los electrodos.
- g) Sustratos que impactan en los rendimientos energéticos alcanzados.

### 3.7 PARAMETROS ANALÍTICOS

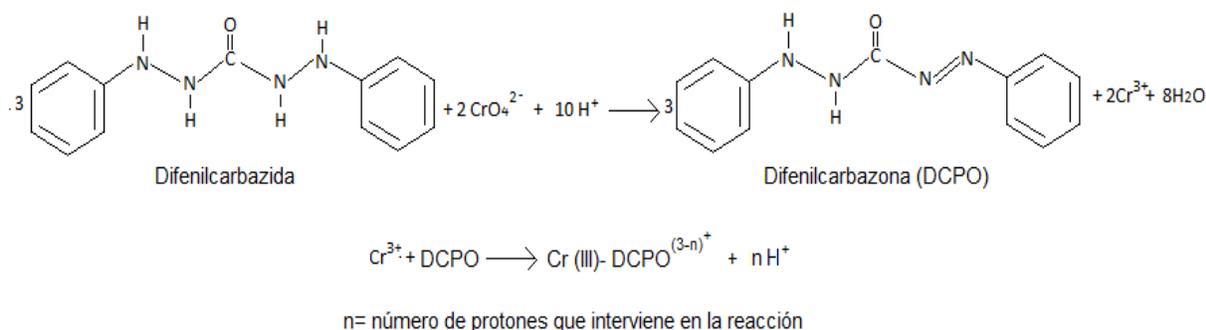
#### 3.7.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Este método se fundamenta en la naturaleza de las sustancias orgánicas que las hacen susceptibles de sufrir procesos de oxidación, principalmente en presencia de oxidantes fuertes (León, 2009). En este análisis la cantidad de oxidante consumido se expresa en términos de su equivalencia en oxígeno mg O<sub>2</sub>/ L (Burgos, 2012).

En este método se utiliza el dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) como agente oxidante fuerte, este oxida la materia orgánica presente en la muestra o en el estándar a analizar, esto hace que el cromo se pase a un estado de oxidación menor, la reducción del cromo depende directamente de su reacción con la materia orgánica total existente en la muestra, lo que permite cuantificar la materia orgánica presente en la muestra en términos de equivalente de oxígeno, por medio del método colorimétrico que mide la absorbancia del Cr<sup>3+</sup> a 600 nm (Métodos estándar 5220B y 5220D) (APHA, 1992).

#### 3.7.2 Método de Análisis de Cromo (Cr<sup>6+</sup>)

Para el análisis de cromo en estado hexavalente, el método comúnmente empleado es el espectrofotométrico que se basa en la reacción de Cr<sup>6+</sup> con la 1,5-difenilcarbazida; el Cr<sup>6+</sup> oxida la 1,5-difenilcarbazida a 1,5-difenilcarbazona reduciéndose a su vez a Cr<sup>3+</sup> y formando el complejo coloreado rojo-violeta (Figura 4), esta reacción se lleva a cabo en medio ácido (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), la intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo Cr<sup>6+</sup>; este compuesto absorbe en la región visible del espectro a una longitud de onda de 540 nm (Cascaret, 2010).



**Figura 4. Reacción de formación del complejo Cr(III)-difenilcarbazona.** Tomada de Cascaret, 2010.

La reacción de cromo con difenilcarbazida es generalmente libre de interferencias, sin embargo, determinadas sustancias pueden interferir si la concentración de cromo es relativamente baja, por ejemplo sales de molibdeno hexavalente y mercurio reaccionan con el reactivo, pero las intensidades son mucho más bajas que para el cromo al pH especificado; se pueden tolerar concentraciones de 200 mg/L (Mo o Hg). También pueden interferir el vanadio, titanio y hierro si las concentraciones son mayores a 5 mg/L, reduciendo la recuperación del

romo del 10-30 %, en el caso de presentarse hierro a concentraciones superiores a 1 mg/L, puede producir un color amarillo (APHA,1992).

### **3.8 APLICACIONES y AVANCES DE LAS CCMs**

Las CCMs hasta la fecha han surgido como una tecnología en desarrollo para la generación de electricidad a partir de biomasa, sin embargo la energía generada por estas aún es muy baja y a corto plazo para aplicarla a gran escala, no obstante algunas áreas de investigación están en la búsqueda de superar las limitaciones asociadas a estas (Sengodon y Hays, 2012).

A continuación, se mencionan algunas aplicaciones importantes de las CCMs (Du et al., 2007; Falcón et al., 2009).

1. Las CCMs pueden ser adecuadas para almacenar la electricidad en dispositivos recargables o para la alimentación de sistemas como sensores inalámbricos que sólo requieren baja potencia para transmitir señales.
2. Las CCMs pueden ser modificadas de manera que se utilicen para la producción de H<sub>2</sub>, por medio del proceso de electrólisis. Entre las ventajas que presenta este sistema se encuentra la mejora en EC y el H<sub>2</sub> producido puede ser acumulado y almacenado para su uso posterior.
3. Las aguas residuales contienen una multitud de compuestos orgánicos disueltos que requieren ser removidos antes de ser descargada al medio ambiente, estas pueden alimentarlas CCMs.
4. Datos del medio ambiente pueden ser útiles para entender y modelar respuestas de los ecosistemas, aquí nace una aplicación importante para las CCMs, las cuales pueden emplearse para monitorear ambientes, por ejemplo en el campo de los biosensores que pueden ser de utilidad como indicadores de sustancias tóxicas en ríos o en la entrada de plantas de tratamiento de aguas.

En los últimos años, se han logrado avances importantes en la investigación de CCMs, algunos de los estudios más relevantes desarrollados para el mejoramiento de esta tecnología, se nombran a continuación (Oliveira et al., 2013):

1. Las diferentes configuraciones y diseños de CCMs, así como los diferentes materiales de separación para el mejoramiento de esta tecnología en cuanto a la producción de energía eléctrica.
2. La identificación de las comunidades microbianas e investigación sobre el metabolismo microbiano.
3. Estudios sobre biocátodos para la reducción de contaminantes tales como: CO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cr<sup>6+</sup>, U (VI).
4. Los diferentes sustratos utilizados en CCMs.

5. La comparación de la digestión anaerobia convencional y la tecnología de CCM y el potencial de los sistemas de CCM como un complemento a la tecnología de digestión anaerobia.

Los estudios relacionados con este tipo de pilas de combustibles han permitido el desarrollo y fortalecimiento de las distintas áreas de investigación por ejemplo: en electroquímica, microbiología, biología molecular, biotecnología etc.

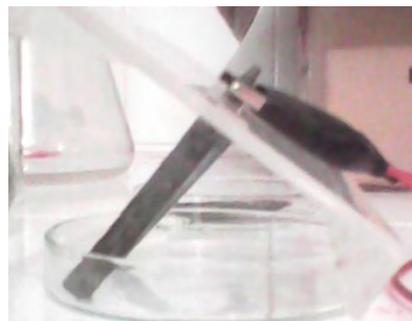
## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Diseño de las CCMs

Las celdas fueron diseñadas en el grupo de investigación BEQ de la Universidad de Nariño y se construyeron con piezas de acrílico cristal, constan de dos cámaras anódica y catódica de 343 mL de volumen cada una, separadas por una cavidad central con paredes perforadas (2 mm de diámetro) que contiene un puente salino (KCl 0,25 M en agar). Cada tapa tiene 2 perforaciones, una para introducir los electrodos (ánodo y cátodo) y la otra para la toma de muestras para los respectivos análisis; los electrodos de barras de grafito empleados para cada cámara tuvieron un área de 16,16 cm<sup>2</sup>; además como extensión de los electrodos se utilizaron lechos (camas) de grafito de 39,6 cm<sup>2</sup> de área. La distancia entre los electrodos fue de 5 cm (la más corta posible); los electrodos se conectaron a una resistencia externa que osciló entre 515-525 ohmios, por medio de un alambre conductor (Figura 5).



a.



b.

**Figura 5. a) Celda de Combustible Microbiana (CCM) de biocátodo.** Cámara anódica (derecha), cámara central (puente salino), cámara biocatódica (derecha). **b) Electrodo de grafito.**

### 4.2 Recolección de las muestras ambientales fuente de microorganismos

Para esta investigación se emplearon tres tipos de inóculos: lodos anaerobios, lodos sulfidogénicos y aguas del río Pasto contaminadas con aguas residuales de curtiembres. Las muestras de lodos se recolectaron del RELLENO SANITARIO ANTANAS (RSA), que se encuentra localizado a 13 Km de la ciudad de San Juan de Pasto, sobre la Variante Daza-Buesaco en la Vereda La Josefina- Corregimiento Morasurco, a una altura de 2750 msnm, temperatura promedio de 12 °C y pluviosidad de 1200 mm/año.

La muestra de lodos anaerobios fue extraída del fondo de la laguna de igualación (caudal 2 L/s), la muestra de lodos sulfidogénicos que están enriquecidas con sulfato del sedimentador de la planta fisicoquímica; estas muestras se recolectaron en recipientes oscuros nuevos de ¼ de galón. Las muestras de agua del río Pasto fueron extraídas de un punto localizado detrás de las instalaciones de la Universidad de Nariño cerca de las zonas de

desagüe de las curtiembres, se recolectaron en un recipiente de vidrio de 1 L. Todas las muestras fueron transportadas a los laboratorios de la Universidad de Nariño y almacenadas en una nevera a una temperatura promedio de 4 °C, manteniéndose refrigeradas hasta su uso. (Figura 6).



a.



b.



c.

**Figura 6. Fuentes de las muestras ambientales empleadas como inóculos para las CCMs de biocátodo.** a) Laguna de igualación fuente de lodos anaerobios; b) sedimentador de la planta fisicoquímica fuente de los lodos sulfidogénicos; c) punto de desagüe de la fuente de las aguas residuales de las curtiembres sobre el río Pasto.

#### 4.3 Medio de cultivo e inóculos

**Cámara anódica.** Los inóculos que se utilizaron para la cámara anódica fueron los lodos anaerobios. Se inoculó al 10% (v/v) de lodo anaerobio, una solución anódica correspondiente a agua residual sintética (ARS) descrita por Cha et al., 2010 modificada en su fuente de carbono (Tabla 1); el volumen total de la solución fue de 300 mL.

Tabla 1. Composición de agua residual sintética contenida en la cámara anódica

Compuesto (macronutrientes)	Composición (g/L)	**Compuesto (micronutrientes)	Composición (mg/L)	**Compuesto (micronutrientes)	Composición (mg/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8,2	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	130	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	100
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7,0	FeCl <sub>3</sub>	1000	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (Mo <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	206
NH <sub>4</sub> Cl	0,1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6	AlCl <sub>3</sub>	50
NaHCO <sub>3</sub>	0,2	ZnCl <sub>2</sub>	70	CoCl <sub>2</sub>	238
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,01	CuCl <sub>2</sub>	2	NiCl <sub>2</sub>	24
<b>Fuente de carbono</b>	<b>Glucosa (0,25 M, 0,1 M, 0,05 M)</b>				

\*El agua residual sintética se asemeja al agua residual real, en lo referente a su composición orgánica e inorgánica como a sus características fisicoquímicas.

\*\*La solución de micronutrientes estará en proporción de 1 mL / L de la solución de macronutrientes. (Chaet al., 2010).

**Cámara Catódica.** Los inóculos que se utilizaron para la cámara catódica fueron lodos sulfidogénicos y aguas del río Pasto. Se inoculó al 10% (v/v) de lodos sulfidogénicos o aguas del río Pasto, una solución catódica de macronutrientes descrita por Huang et al., (2010) y micronutrientes descrita por Cha et al., (2010) (Tabla 2), enriquecida con dicromato de potasio K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: (Cr<sup>6+</sup>) a 50ppm; el volumen total de la solución catódica fue de 300mL.

Tabla 2. Composición de la solución catódica

Compuesto (macronutrientes)	Composición (g/L)	Compuesto (micronutrientes)	Composición (mg/L)	Solución de Micronutrientes	Composición (mg/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4,4	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	130	AlCl <sub>3</sub>	50
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3,4	FeCl <sub>3</sub>	1000		
NH <sub>4</sub> Cl	1,3	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6	CoCl <sub>2</sub>	238
NaHCO <sub>3</sub>	1,0	ZnCl <sub>2</sub>	70		
NaCl	0,5	CuCl <sub>2</sub>	2	NiCl <sub>2</sub>	24
CaCl <sub>2</sub>	0,0146	*MgCl <sub>2</sub>	100		
MgCl <sub>2</sub>	0,2	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (Mo <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	206		

\* Se sustituyó MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O por MgCl<sub>2</sub> para evitar la reducción de sulfato. Huang et al. (2010)

#### 4.4 Aclimatación

Este proceso tuvo como propósito promover la formación de biopelícula sobre las superficies de los electrodos de grafito y los lechos de minas de grafito, a partir de los inóculos, lodos anaerobios, sulfidogénicos y agua del río Pasto. El periodo de aclimatación se llevó a cabo en condiciones de anaerobiosis en beakers de 400 mL, a temperatura ambiente por 7

meses. Durante los primeros 4 meses de activación, se realizaron cada semana alimentaciones de 10mL con nuevas soluciones anódica y catódica, los 3 meses siguientes para el fortalecimiento de la biopelícula se realizó una alimentación por mes de 150 mL con nuevas soluciones anódica y catódica, acompañada además de recambio de lodos y de agua de río, para cada caso.

#### 4.5 Operación de las CCMs

Para las CCMs se utilizaron los electrodos de barras de grafito y los lechos de minas conteniendo una biopelícula que fue formada durante 7 meses con diferente tipo de inóculo: lodos sulfidogénicos (celdas S) y aguas del río Pasto contaminadas con aguas residuales de curtiembres (celdas P), expuestos a una solución de  $K_2Cr_2O_7$ :  $Cr^{6+}$  a 50 ppm; mientras que en la cámara anódica se mantuvo el mismo tipo de inóculo (lodo anaerobio) expuesto a diferente concentración de glucosa: celda 1: 0,25 M, celda 2: 0,1 M y celda 3: 0,05 M. Las CCMs fueron operadas a temperatura ambiente y en modo *batch* durante tres ciclos, es decir, añadiendo nuevas soluciones anódica y catódica (con sus respectivos inóculos) cuando el voltaje llegaba a cero, durante tres veces. El registro del voltaje en circuito cerrado se hizo grabando continuamente los datos a través de una cámara web. Además se extrajeron muestras para los análisis de DQO y  $Cr^{6+}$  al inicio y final de cada ciclo. (Figura 7).



**Figura 7. Celdas de combustible de biocátodo para la reducción de cromo hexavalente y generación de energía.** a) CCM con inóculos: Lodos anaerobios-Lodos Sulfidogénicos. b) CCM con inóculos: Lodos Anaerobios- Agua del río Pasto.

#### 4.6 Determinación de voltaje (mV) y densidad de potencia (mW /m<sup>2</sup>) en las CCMs de biocátodo

Con la finalidad de monitorear los cambios de voltaje en el tiempo de cada celda en estudio, la medición de voltaje se realizó utilizando multímetros (marca Uni-Trend®). Se realizaron las mediciones de voltaje sobre la resistencia externa conectada entre el ánodo y el cátodo. Las lecturas de voltaje se registraron en una computadora cada hora, con la ayuda de una cámara web y la instalación del programa webcam XP 5 para fotografiar las pantallas de los multímetros que muestran las mediciones y posterior almacenaje de estas fotografías en un archivo digital para obtener el respectivo gráfico de la señal de voltaje de las CCMs en estudio y a partir de estos datos se construyeron graficas de voltaje (mV) vs tiempo (t).

Además se hizo el cálculo de corriente (I) en función del tiempo (t) usando la ley de Ohm descrita en la Ecuación 1, donde se relacionan las variables voltaje (V), corriente (I) y resistencia (R). Con los datos de voltaje, corriente y área de los electrodos se calcularon DP ( $\text{mW} / \text{m}^2$ ) en los puntos iniciales de cada ciclo y los máximos durante los mismos, a partir de la Ecuación 2.

#### 4.7 Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La cantidad de materia orgánica (MO) removida de las aguas residuales sintéticas se determinó midiendo la DQO de las muestras. Los resultados de los análisis se expresan en miligramos de oxígeno equivalente al contenido de MO por litro ( $\text{mg O}_2/\text{L}$ ) (León, 2009). La DQO se determinó al inicio y final de cada ciclo, para esto se recolectaron 4 mL de muestra de la cámara anódica de cada celda y se filtraron; se prepararon las muestras de acuerdo al protocolo establecido en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño basado en el método estándar 5220B. El método consistió en realizar una digestión con una solución oxidante y una solución catalizadora en un reactor de digestión E&Q Termoreactor (Figura 8) y posteriormente mediciones de absorbancia de las soluciones en el espectro de luz visible a 600 nm.

La solución oxidante se preparó con 10,216 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  previamente secado en una mufla a  $103^\circ\text{C}$  durante 2 horas, se disolvieron en 500 mL de agua destilada; seguidamente se adicionaron 167 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y 33,3 g de  $\text{HgSO}_4$ , esta mezcla se aforó hasta a un 1L con agua destilada tipo II. La solución catalizadora contiene 5,5 g de  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  en 566,123 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado.

Previamente se prepararon soluciones patrón de ftalato ácido de potasio (KHP) y se realizó una curva de calibración para la interpolación de las lecturas de las muestras.



a.



b.

**Figura 8. Instrumentos para la determinación de DQO.** a) Termoreactor E&Q (derecha) b) Espectrofotómetro Perkin Elmer (Izquierda).

##### 4.7.1 Curva de calibración

La curva se construyó tomando alícuotas de la solución patrón primario de ftalato ácido de potasio de concentración igual a 1000 ppm, con equivalentes de DQO en un intervalo de 100-1000  $\text{mg O}_2/\text{L}$ , para altas concentraciones. Se pesaron 0,851 g de KHP, previamente secado a  $120^\circ\text{C}$  por 2 horas; y se disolvieron en un litro de agua destilada tipo II.

Esta solución tiene un contenido teórico de DQO de 1000 mg/L (ppm) y es estable por 3 meses en refrigeración. Se agregaron a cada vial 3,5 mL de solución catalítica, 1,5 mL de solución digestora y 2,5 mL de KHP, seguidamente se realizó la digestión de las soluciones en un reactor de digestión E&Q Termoreactor durante 2 horas. Los viales se enfriaron a temperatura ambiente y se construyó la curva de concentración de DQO (mgO<sub>2</sub>/L) contra las absorbancias. La curva se realizó por triplicado. Se determinó el rango lineal de la curva de calibración y se realizó un tratamiento estadístico de los datos, estableciendo parámetros como precisión, como se indica en las Ecuaciones (8-9), con el fin de dar confiabilidad a los resultados encontrados.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n (X_i - \bar{X})^2}{(n - 1)}} \text{ Ec 8} \quad C.V. = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \% \text{ Ec 9}$$

Donde, S: desviación estándar; Xi: resultado de la medición,  $\bar{X}$ : promedio de los valores de la distribución de datos y n-1: grados de libertad; CV: coeficiente de variación.

#### 4.8 Determinación de cromo (Cr<sup>6+</sup>)

La metodología utilizada para la determinación de Cr<sup>6+</sup> fue validada estadísticamente en este estudio (Anexo 4). La cuantificación de Cr<sup>6+</sup> remanente se determinó al inicio y final de cada ciclo, para esto se recolectaron 4mL de muestra de la cámara catódica de cada celda y se filtraron; se utilizó el método de la 1,5-difenilcarbazida en medio ácido (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), según el método estándar 3500D (APHA, 1992) y posterior lectura de absorbancia a 543 nm con un espectrofotómetro Pharo 3000, se determinó la concentración de Cr<sup>6+</sup> presente por interpolación de la curva de calibración. Previamente se prepararon soluciones de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> de concentración conocida y se realizó una curva de calibración para la interpolación de las lecturas de las muestras.



Figura 9. Espectrofotómetro Pharo 3000

##### 4.8.1 Curva de calibración

La curva se construyó tomando alícuotas de la solución de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> de concentración igual a 5 ppm en un intervalo de 0,2-1 ppm. Se agregó a un balón de 10 mL, 0,25 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado, 2 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 2 mL de solución de 1,5-difenilcarbazida (0,25 g de difenilcarbazida en 50 mL de acetona).

Se realizó un barrido espectral para determinar la longitud de onda de mayor absorción y seguidamente se realizó la medición de absorbancias de las soluciones y a partir de esos datos se construyó la curva de concentración de cromo contra las absorbancias. La curva se realizó por triplicado. Se determinó el rango lineal de la curva de calibración y se realizó un tratamiento estadístico de los datos, estableciendo parámetros como precisión, límite de cuantificación y límite de detección como se indica en las Ecuaciones (8-11), con el fin de dar confiabilidad a los resultados encontrados.

$$y_{LD} = \frac{y_B + 3S_B}{m} \quad \text{Ec. 10} \qquad y_{LC} = \frac{y_B + 10S_B}{m} \quad \text{Ec. 11}$$

Donde  $y_{LD}$  es el límite de detección,  $y_{LC}$  es el límite de cuantificación,  $y_B$  es la señal del blanco,  $m$  es la pendiente de la curva y  $S_B$  es la desviación estándar del blanco.

#### **4.8.2 Tratamiento, preservación y almacenamiento de las muestras para cálculos de DQO y $\text{Cr}^{6+}$**

Las muestras de la cámara anódica, se filtraron y se trataron para su análisis de inmediato, tomando 0,1 mL de muestra y llevándolo a un aforo de 10 mL con agua destilada tipo II. De esta solución se tomaron 2,5 mL y se adicionaron a tubos de reacción previamente preparados como se mencionó en la sección 4.7.1, seguidamente fueron llevados a digestión en una placa de calentamiento con horadaciones para los tubos (previamente precalentada) a una temperatura de 150°C durante dos horas. En ocasiones las muestras no digeridas o tratadas de inmediato se mantenían en refrigeración a 4°C, agregándoles  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado.

Las muestras de la cámara catódica se trataron para su análisis inmediatamente después de haberlas tomado, agregando 1 mL de muestra filtrada a un balón aforado de 10 mL, de esta dilución se tomaron 2 mL y se le realizó el mismo procedimiento que los patrones (Sección 4.9.1). En ocasiones las muestras no tratadas de inmediato se mantenían en refrigeración a 4°C, hasta su análisis.

#### **4.9 Determinación de Eficiencia Coulómbica (EC) en las CCMs de biocátodo.**

Con los datos de corriente, se obtuvieron graficas de corriente (I) vs tiempo (t) (Anexo 1) que se utilizaron para calcular la carga total en coulombs ( $C_p$ ) a partir de la Ecuación 4. La EC de las celdas se determinó por cada ciclo de operación en base a los datos de corriente calculados y DQO removido en las celdas utilizando la Ecuación 7(Luo et al., 2010).

#### **4.10 Diseño Experimental y análisis estadístico**

Se llevó a cabo un diseño experimental factorial; para las CCMs de biocátodo los factores fueron: los ciclos de operación (A) a tres niveles (1, 2, 3), concentración de sustrato (B) a tres niveles (0,25 M, 0,1 M, 0,05 M) y tipo de inóculo(C) a dos niveles (lodos sulfidogénicos y agua de río Pasto). Se trabajó con 6 unidades experimentales, todas las CCMs fueron operadas en modo *batch* y se monitorearon como variables respuesta: % remoción de materia orgánica (MO), % de reducción de cromo y EC.

Los factores fueron codificados de tal forma que facilitaran la interpretación de los diferentes efectos como se muestra en la siguiente Tabla 3, para el factor ciclos: el ciclo 1 el nivel inferior (-1), ciclo 2 (0) y ciclo 3 nivel superior (1), para el factor concentración: 0,05 M (-1), 0,1 M (0) y 0,25 M (1), para inóculos: lodos sulfidogénicos (-1) y agua de río Pasto (1).

Tabla 3. Diseño experimental

Bloque	Ciclos (A)	Concentración (B)	Inóculos (C)
1	-1	-1	-1
1	0	-1	-1
1	1	-1	-1
1	-1	0	-1
1	0	0	-1
1	1	0	-1
1	-1	1	-1
1	0	1	-1
1	1	1	-1
1	-1	-1	1
1	0	-1	1
1	1	-1	1
1	-1	0	1
1	0	0	1
1	1	0	1
1	-1	1	1
1	0	1	1
1	1	1	1

Para el análisis estadístico se realizó una ANOVA multifactorial con un nivel mínimo de significancia de 0,05 utilizando Statgraphics Centurión, además se analizaron gráficos de efectos principales, pruebas de múltiples rangos y gráficos de interacciones de los factores sobre las variables respuestas.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 DISEÑO DE LAS CCMs

En esta investigación, se demostró que utilizando CCMs de biocátodo diseñadas en el grupo BEQ operadas a temperatura ambiente fue posible reducir  $\text{Cr}^{6+}$ , generar electricidad y remover materia orgánica (MO). Las CCMs utilizadas tienen las siguientes características: puente salino constituido por KCl/agar como separador físico entre una cámara y otra, barras de grafito como electrodos conductores y como superficie de contacto para el desarrollo de biopelículas bacterianas y distancia entre los electrodos de 5cm.

Pese a que en este sistema se usó puente salino por ser económico y sencillo de usar, es importante resaltar que tiene la desventaja de generar una alta resistencia interna en la celda disminuyendo la eficiencia producida, por eso para futuras investigaciones se recomienda la utilización de MIP como separador en las CCMs (Li et al, 2010; Min et al., 2005).

Se emplearon como electrodos barras de grafito y se construyeron lechos de minas de grafito como una extensión de los mismos, ya que los materiales carbonosos poseen buena biocompatibilidad, estabilidad química, alta conductividad y relativamente son de bajo costo (Wei et al., 2011), además se tuvo en cuenta lo demostrado por Di Lorenzo et al. 2009 y Galindo 2005 quienes incrementaron el área de los electrodos expuesta a las bacterias, observaron un aumento de la densidad potencia (DP) generada.

Por otra parte en el diseño de la celda también fue necesario considerar la distancia entre electrodos, razón por la cual las perforaciones en las tapas de las celdas, se hicieron de manera estratégica, de tal forma que la distancia entre estos fue la más corta posible en este caso de 5 cm, ya que esto facilita la transferencia de electrones (Buitrón y Pérez, 2011).

Es importante resaltar que el desempeño de la celda no solo dependió de los factores anteriormente mencionados, sino también de la participación de los microorganismos en la generación de electricidad por oxidación del sustrato en la cámara anódica así como también por la recepción de electrones para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en la cámara catódica.

### 5.2 MICROORGANISMOS EMPLEADOS Y ACLIMATACIÓN

En la cámara anódica se inocularon microorganismos provenientes de lodos anaerobios, se emplearon estas muestras basándose en investigaciones que han demostrado que los microorganismos presentes allí generan mayor electricidad y son comúnmente usados como inóculo para las CCMs (Du et al., 2007). En estudios previos llevados a cabo en el Grupo BEQ, se compararon lodos anaerobios y lodos mixtos (aerobios-anaerobios) en la cámara anódica de CCMs de biocátodo, donde se obtuvieron mejores resultados con lodos anaerobios (Bolaños et al., 2011; Revelo et al., 2013a).

En la cámara catódica se inocularon microorganismos provenientes de lodos sulfidogénicos que poseen BSR (Pagnanelli et al., 2012) o aguas del río Pasto contaminadas con aguas residuales de las curtiembres; las primeras muestras se emplearon basándose en investigaciones que han demostrado que el tratamiento biológico con BSR pueden reducir diferentes metales y por ende son capaces de reducir  $\text{Cr}^{6+}$  (Smith y Gadd, 2000; Soledad, 2006; Singh et al., 2011), por otra parte la utilización de agua de río como inóculo, partió de la consideración propuesta por Huang et al., (2010), que utilizaron bacterias nativas de sitios contaminados con cromo, en este contexto considerando que este metal proviene de actividades como el curtido de pieles y los desechos se descargan en el río Pasto, el aprovechamiento de las bacterias presentes en el agua, que son resistentes al metal, se consideró pertinente utilizarla como inóculo para la reducción de este.

La aclimatación se llevó a cabo durante un periodo de 7 meses en el grupo BEQ, lo cual incidió en la formación de una capa blanca que recubrió el ánodo y el cátodo (Figura 10), según lo demostrado por Muñoz y Galindo, 2011 durante la aclimatación se presenta formación de biopelículas con una comunidad microbiana, las cuales permiten un mejor funcionamiento del sistema. Además en estudios de cultivo de estas biopelículas, llevadas a cabo en el grupo BEQ, se demostró la presencia de colonias bacterianas en las biopelículas de los electrodos, con diferente morfología y recuento (Erazo y Usbeck, 2013), comprobándose la necesidad del proceso de aclimatación.



**Figura 10. Electrodos con biopelícula.** Ánodo (Izquierda), Cátodo (Derecha). Fuente: esta investigación

### 5.3 GENERACIÓN DE VOLTAJE (mV) EN LAS CCMs DE BIOCÁTODOS

Para evaluar la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  y la generación de energía en las CCMs de biocátodo, en esta investigación se analizaron dos importantes factores como fueron el tipo de inóculo de la cámara catódica y la concentración de sustrato en la cámara anódica en seis CCMs, durante un diferente periodo total de operación en circuito cerrado como se indica en la Tabla 4. Las siguientes tablas son fuente de esta investigación.

Tabla 4. CCMs de biocátodo como unidades experimentales para evaluar la reducción de  $Cr^{6+}$  y la generación de energía con diferente tiempo total de operación\*.

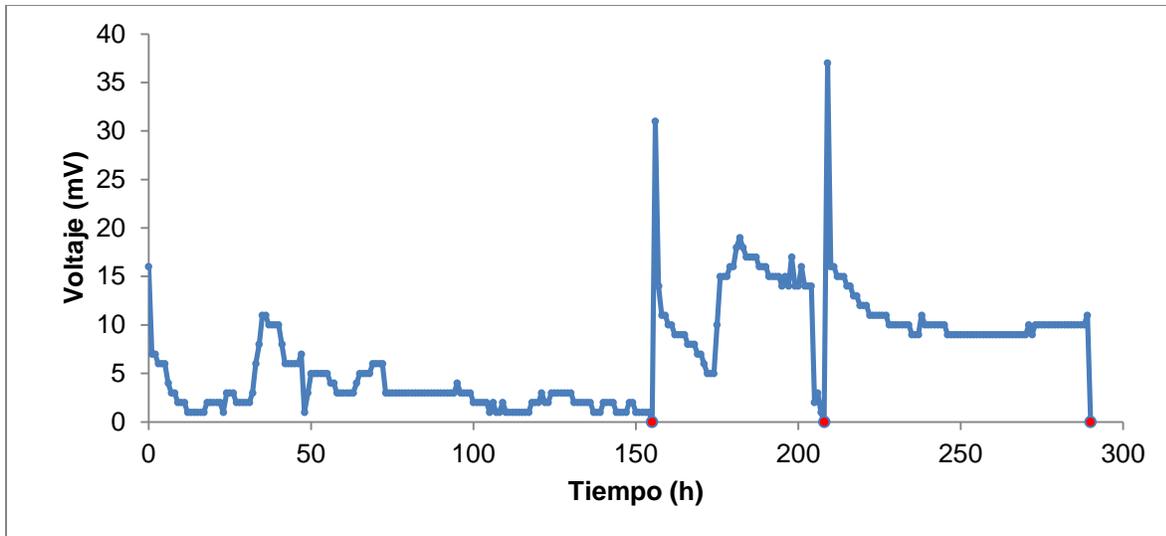
Concentración de Glucosa (M) (Cámara Anódica)	Inóculo (Cámara Catódica)	Denominación de las CCMs	Tiempo Total de operación (h)	Ciclos (h) (1,2,3)
0,25	Lodos Sulfidogénicos	S1	290	0-155 156-208 209-290
	Agua río Pasto	P1	1033	0-697 698-890 891-1033
0,1	Lodos Sulfidogénicos	S2	1161	0-315 316-1035 1036-1161
	Agua río Pasto	P2	1735	0-874 875-1478 1479-1735
0,05	Lodos Sulfidogénicos	S3	1375	0-1062 1063-1155 1556-1375
	Agua río Pasto	P3	1888	0-1297 1298-1700 1701-1888

\*El Inóculo usado en la cámara anódica para todas las celdas fueron lodos anaerobios.

El tiempo total de operación de las celdas varió de acuerdo a la concentración de glucosa de la cámara anódica así como también por el tipo de inóculo usado en la cámara catódica, se puede observar que tanto para las celdas S como P, a medida que disminuye la concentración de glucosa, aumenta el tiempo total de operación; siendo para las celdas P los tiempos más largos.

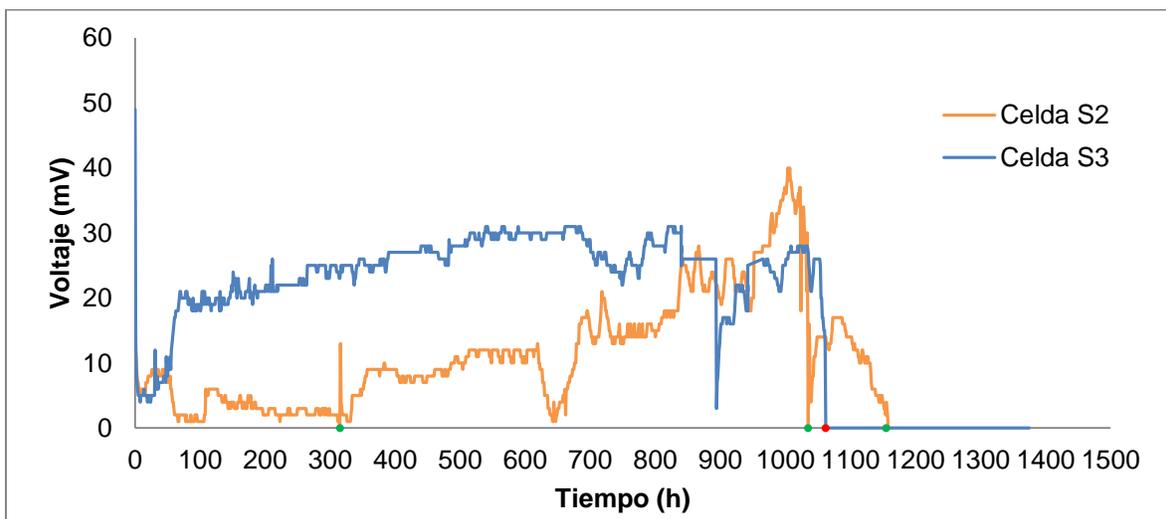
A continuación se presentan los resultados de voltaje, obtenidos en las CCMs operadas a diferente concentración de glucosa (cámara anódica) y tipo de inóculo (cámara catódica).

En la Figura 11 se observa el comportamiento eléctrico de S1 en circuito cerrado durante los tres ciclos, los puntos en color rojo indican la finalización de un ciclo y de alimentación con medio fresco. Se presentan tres periodos de tiempo correspondientes a cada ciclo (Tabla 4), siendo el primer ciclo el más largo; los dos ciclos posteriores a pesar de ser más cortos aumentaron las magnitudes de voltaje. Además se pueden observar los voltajes máximos luego de cerrar el circuito y durante el ciclo, como se presentará más adelante en la Tabla 5. Las siguientes figuras son fuente de esta investigación.



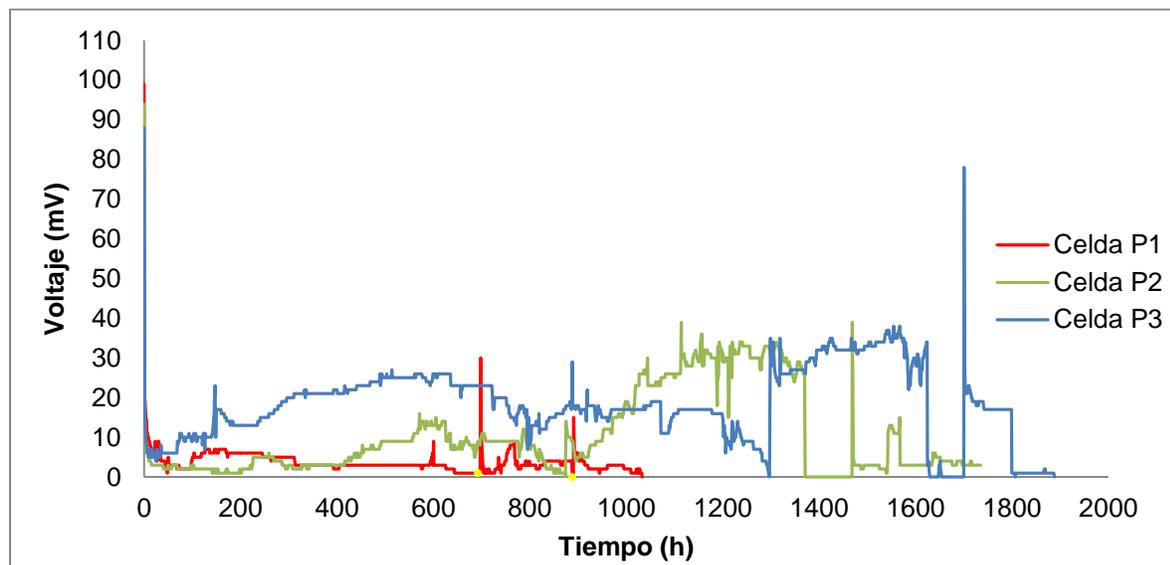
**Figura 11. Generación de voltaje en la CCM que contiene glucosa a 0,25 M y lodos sulfidogénicos (S1).**

En la Figura 12 se observa el comportamiento de las celdas S2 y S3 en circuito cerrado, en comparación con S1, estas tuvieron un mayor periodo total de operación como se indicó en la Tabla 4. De igual forma, se presentan voltajes máximos al iniciar los ciclos y durante estos (Tabla 5). Para la celda S2 el segundo ciclo es donde se obtuvo la mayor generación de voltaje y el tercero una caída de voltaje pronunciada en el tiempo con un periodo de duración mucho más corto que los dos anteriores. Para la celda S3 se observa que a medida que pasa el tiempo existe un comportamiento creciente del voltaje obteniéndose una medición de  $27 \pm 3$  mV durante 311 h; los siguientes ciclos no mostraron mediciones de voltaje.



**Figura 12. Generación de voltaje en la CCM que contiene glucosa a 0,1 M (S2) y 0,05 M (S3) y lodos sulfidogénicos.**

En la Figura 13 se observa el comportamiento de las celdas P1, P2 y P3, donde se observa la variación del voltaje con respecto al tiempo en los diferentes ciclos, en las celdas el primer ciclo fue el más largo, el segundo el que presentó mayor voltaje (excepto P1) y el tercero el más corto. De igual forma para estas celdas, se presentan voltajes máximos al iniciar los ciclos y durante los mismos (Tabla 5).



**Figura 13. Generación de voltaje en las CCMs de biocátodo P1, P2, P3.**

Realizando una comparación general del voltaje obtenido en las celdas S con las P, se puede decir que en las celdas P se registraron mediciones de voltaje por tiempos más prolongados quizás porque el inóculo de la cámara catódica necesitó de mayor tiempo de adaptación y estabilización; pero en cuanto a la magnitud de voltaje no se observó en las celdas P un aumento significativo del mismo con respecto a las celdas S, esto podría deberse a que en todos los experimentos se utilizó puente salino que creó igual resistencia interna lo que tradujo en voltajes similares; sin embargo no se pueden descartar otros factores que inciden en el desempeño eléctrico de las CCMs, para ello se requieren futuras investigaciones.

En la Tabla 5, se puede observar un resumen del comportamiento eléctrico mostrado por las celdas S y P.

**Tabla 5. Comportamiento eléctrico de las celdas S y P\*.**

Celdas	Ciclos	Voltaje (mV) inicial	Voltaje Máximo (mV) Durante el ciclo	Densidad de potencia (mW/m <sup>2</sup> )	
				Inicial	Durante ciclo
S1	1	16	11	0,088	0,042
	2	31	19	<b>0,331</b>	<b>0,125</b>
	3	37	16	<b>0,472</b>	0,088
S2	1	35	9	<b>0,427</b>	0,028
	2	13	40	0,059	<b>0,557</b>
	3	16	18	0,089	0,113

S3	1	49	27	<b>0,822</b>	<b>0,25</b>
P1	1	99	9	<b>3,393</b>	0,028
	2	30	9	<b>0,312</b>	0,028
	3	15	8	0,078	0,022
P2	1	94	16	<b>3,03</b>	0,088
	2	14	39	0,067	<b>0,522</b>
	3	39	13	<b>0,522</b>	0,058
P3	1	88	29	<b>2,671</b>	<b>0,29</b>
	2	16	34	0,088	<b>0,399</b>
	3	78	17	<b>2,098</b>	0,1

\*los valores resaltados de color azul son los voltajes máximos obtenidos de cada celda durante el transcurso de los ciclos.

Las celdas se mantuvieron cuatro días en circuito abierto por cada ciclo de operación, durante este periodo se presenta una diferencia de potencial y por ende existió una acumulación de cargas dentro de las CCMs, al cerrar el circuito, los electrones circulan del ánodo al cátodo generando una corriente eléctrica que a su vez produce un potencial sobre la resistencia externa (Tabla 5). Se observa que el voltaje medido en dicha resistencia disminuye con el tiempo, hasta que se produce un incremento del mismo (Figuras 11-13), no obstante durante todo el experimento se obtuvieron voltajes fluctuantes con el tiempo. Las fluctuaciones de voltaje descritas anteriormente pueden ser el resultado de la complejidad de estos sistemas, según Chae et al. (2009) afirman que el desempeño eléctrico de las CCMs se le atribuye a la capacidad metabólica de los microorganismos presentes en las biopelículas del ánodo para oxidar la materia orgánica y generar energía eléctrica.

Los resultados obtenidos para todas las celdas, indican que los voltajes iniciales varían entre cada ciclo de operación pero no tienen incidencia sobre los voltajes obtenidos durante el transcurso de los ciclos (Tabla 4), los voltajes iniciales son producto de la alimentación con sustrato fresco lo cual refleja una medición alta del voltaje en ese momento, mientras que el voltaje generado demuestra la capacidad de los microorganismos en oxidar el sustrato en un tiempo determinado (Cirik, 2014).

Los valores de voltaje más bajos obtenidos en los ciclos fueron para S1 y P1 (concentración de glucosa de 0,25 M) en comparación con las demás celdas (Tabla 4), este resultado se asemeja al modelo de cinética tipo saturación entre la concentración de sustrato y el voltaje generado (Sharma y Li, 2010) (es decir, a medida que aumenta la concentración del sustrato, aumentan estas magnitudes, hasta que hay suficiente sustrato y por más que se aumente su concentración, las magnitudes se mantienen constantes) (Anexo E), lo que quiere decir que los microorganismos solo asimilaron una parte del sustrato lo cual hace que no aumente de manera significativa la magnitud de voltaje.

Por otra parte, los resultados obtenidos en las celdas muestran que durante el segundo ciclo se presentan los máximos voltajes, quizás en este ciclo, la biopelícula está en una fase madura y que está implicada en la mayor generación de electricidad ya que como lo

demonstraron Chae et al. (2009), los microorganismos adheridos al electrodo son los principales responsables de la generación de electricidad. Es interesante observar que para S3 en los siguientes ciclos no se generó voltaje, posiblemente a medida que disminuye la concentración de glucosa esta no es suficiente para soportar la biopelícula hasta los siguientes ciclos, no obstante para esta celda se encontró la mayor riqueza y abundancia de colonias bacterianas según lo demostrado por Erazo y Usbeck (2013), este resultado probablemente indica que, las bacterias cultivables ya no desempeñaron la función de generar electrones y transferirlos al electrodo para generar un voltaje, sin embargo se requieren futuras investigaciones para demostrar su función en la generación de electricidad y en la biopelícula.

En general los resultados del voltaje obtenidos en estas celdas, permitieron demostrar la capacidad de los microorganismos de aprovechar la glucosa a distintas concentraciones y su influencia en el desempeño eléctrico dentro de las celdas por cada ciclo de operación, cumpliéndose uno de los objetivos perseguidos en esta investigación.

En la literatura se encuentra un parámetro de análisis del desempeño eléctrico, es la DP, la cual refleja la generación de voltaje frente al área de los electrodos del experimento en particular, desde esta perspectiva la Tabla 4 muestra que los valores obtenidos de DP, son importantes si se compara con el obtenido por Xafenias et al. (2013) quienes en una CCM de biocátodo para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  con MIP y como fuente de carbono lactato obtuvieron una DP de  $1,7 \text{ mW/m}^2$  pues algunos de los valores obtenidos en esta investigación lo superan en una unidad. Por otra parte si se compara con otras investigaciones, los valores de DP aquí obtenidos pueden ser considerados bajos, por ejemplo: Tandukar et al. (2009), utilizando una CCM de biocátodo para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  con MIP y como fuente de carbono acetato (cámara anódica) la máxima potencia generada fue de  $55,5 \text{ mW/m}^2$ ; Singhvi and Chhabra (2013) utilizando una CCM de doble cámara con puente salino de cátodo abiótico para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  usado biomasa de algas en la cámara anódica, obtuvieron una máxima DP de  $207 \text{ mW/m}^2$ .

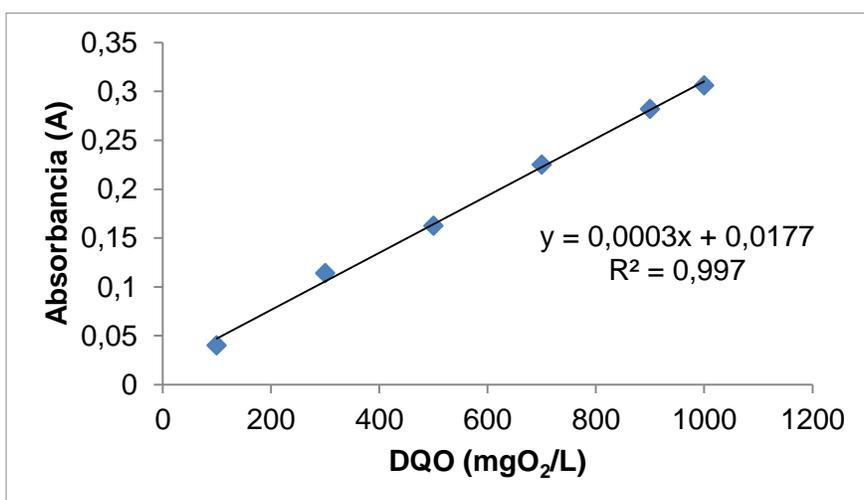
En general estas CCMs de biocátodo mostraron valores máximos de voltaje y DP, iniciales y durante los ciclos (Tabla 4) que no fueron representativos si se compara con los obtenidos en otras investigaciones de hasta  $600 \text{ mV}$  y  $7200 \text{ mW/m}^2$  respectivamente (Álzate et al., 2008; Revelo et al., 2013b), sin embargo bajo las condiciones en que fue desarrollado el experimento se puede decir que fue posible generar energía eléctrica en CCMs de biocátodo de bajo costo y aprovechando inóculos propios de la región.

## **5.4 DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO)**

### **5.4.1 Curva de calibración**

Para el estudio de la remoción de materia orgánica, expresada en términos de DQO, se realizó una curva de calibración basada en el método estándar 5220 D que establece un rango óptimo de trabajo entre  $100$  y  $900 \text{ mg O}_2/\text{L}$  (APHA, 1992).

La Figura 14, representa la curva de calibración a través de la cual se realizó la evaluación de la linealidad del método, al aplicar la regresión lineal para  $n=3$ , con el objetivo de obtener la recta de mejor ajuste. Se obtuvo un coeficiente de correlación por encima del límite establecido ( $R^2 > 0,99$ ), que permitió aceptar la linealidad en este rango, esto indica claramente la dependencia lineal existente entre la concentración y la absorbancia en el intervalo evaluado. Los datos de absorbancias obtenidos en la medición espectrofotométrica después de analizar las muestras patrón, mostraron una reproducibilidad aceptable según la regresión lineal y la mayoría de los coeficientes de variación no superaron el 10 % (Anexo B). A partir de la curva de calibración con rango lineal aceptable, se pudo cuantificar el valor de DQO en las muestras de la cámara anódica de las celdas.



**Figura 14. Curva de calibración para la cuantificación de la demanda química de oxígeno (DQO).**

#### 5.4.2 Análisis de remoción de MO en las CCMs de biocátodo

Las muestras filtradas de cada celda (cámara anódica), fueron utilizadas para un análisis de DQO expresada como mg O<sub>2</sub>/L, con el fin de calcular la eficiencia de remoción de materia orgánica (MO). Para cada ciclo se tuvo en cuenta la DQO inicial y DQO final (Anexo C). Para determinar la concentración de las muestras, se utilizó la ecuación de la recta de la curva de calibración (Figura 14). Cada muestra se preparó de acuerdo a la sección 4.7, como se trabajó con concentraciones altas y teniendo en cuenta el rango de la curva, se efectuaron diluciones a 100 veces. El porcentaje de remoción de MO en las CCMs de biocátodo se resume en la Tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de remoción de materia orgánica en las CCMs de biocátodo\*.

Ciclos	Celdas					
	S1	S2	S3	P1	P2	P3
1	32,2	43,2	<b>91,5</b>	47,6	<b>96,5</b>	<b>97,9</b>
2	31,9	<b>73,3</b>	13,9	19,9	<b>96</b>	<b>63,6</b>
3	<b>35,5</b>	30,1	16,3	26,8	24,8	46,5

\*Los valores resaltados en color verde indican los porcentajes de remoción más altos de cada celda.

La Tabla 6 permite observar que en todas las celdas se obtuvo remoción de MO en cada ciclo demostrándose la actividad microbiana a nivel de la cámara anódica (Rabaey et al., 2003). Los porcentajes más altos de remoción se presentaron para las celdas P3 (97,9 %), P2 (96,5 %) y S3 (91,5 %) durante el primer ciclo, seguido por las celdas P2 (96 %) y S2 (73,3 %) en el segundo ciclo, mientras que para las celdas S1 y P1, se obtuvo remoción <50 % en todos los ciclos; lo que demuestra que la mayor remoción de MO se obtuvo a menores concentraciones de glucosa, presentándose nuevamente un modelo semejante al de una cinética tipo saturación (Sharma y Li, 2010), de tal forma que a una concentración alta de sustrato en las CCMs, las bacterias no asimilan toda la materia orgánica introducida resultando en valores bajos de remoción comparados con las celdas de menor concentración (S3 y P3).

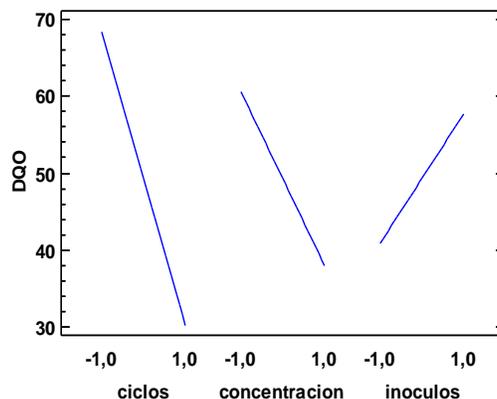
Además, el análisis de varianza realizado permitió determinar qué factores (ciclos, concentración, inóculos) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la variable respuesta: % remoción de MO, a un nivel de confianza de 95 %. Como se puede observar en la Tabla 7, el factor A correspondiente a ciclos, produce diferencias significativas en el % remoción de MO puesto que el nivel de significación es menor que 0,05, esta variable dependerá de cómo varíe este factor.

Estas diferencias causadas por los ciclos se pueden explicar por la duración de cada ciclo, en esta investigación se observó que los primeros ciclos fueron los más largos excepto para la celda S2 que fue el segundo ciclo, indicando que a mayor duración de los ciclos mayor % remoción de MO, según lo demostrado por Cirik, 2014, que alcanzó una eliminación del 90 % en un periodo de 15 días y un porcentaje del 56 % en un período de 10 días, afectándose negativamente la remoción de MO por la disminución del tiempo del ciclo, estos resultados también pueden incidir en la generación de voltaje sea por tiempos más largos o cortos.

Tabla 7. Análisis de Varianza para % remoción de MO

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ciclos	4368,18	2	2184,09	7,05	0,0489
B:concentracion	2695,07	2	1347,54	4,35	0,0993
C:inoculos	1278,49	1	1278,49	4,12	0,1121

La Figura 15 muestra de manera más clara cuál es la incidencia de cada factor sobre el % remoción MO, se puede apreciar que la mayor diferencia corresponde al primer ciclo (-1) y es de 38,2 %, seguido por la concentración de 0,05 M (-1) (22,7 %) y por el inóculo de agua de río Pasto (1) (16,7 %), estos dos últimos factores tienen un efecto sobre esta variable de manera menos marcada que los ciclos. Además la Figura 15, permite determinar en qué ciclo, a que concentración y que tipo de inóculo se presentaron los más altos % de remoción de MO, siendo el primer ciclo (-1), a una concentración de 0,05 M (-1) y con agua de río Pasto (1) como inóculo.



**Figura 15. Efectos individuales de cada factor sobre % remoción MO.**

A modo de confirmación del resultado anterior se utilizó la prueba de múltiples rangos (Tabla 8) la que establece cuales medias son significativamente diferentes de otras. Se puede observar en la Tabla 8 que los ciclos 1(-1) y 3(1) no son grupos homogéneos, lo que significa que las medias poblacionales son estadísticamente diferentes a un nivel de confianza del 95 %. Además se puede decir que el ciclo 1 es el que más influye en el % de remoción MO como se mencionó anteriormente.

Tabla 8. Pruebas de Múltiple Rangos para % remoción de MO por ciclos

Método: 95,0 porcentaje LSD

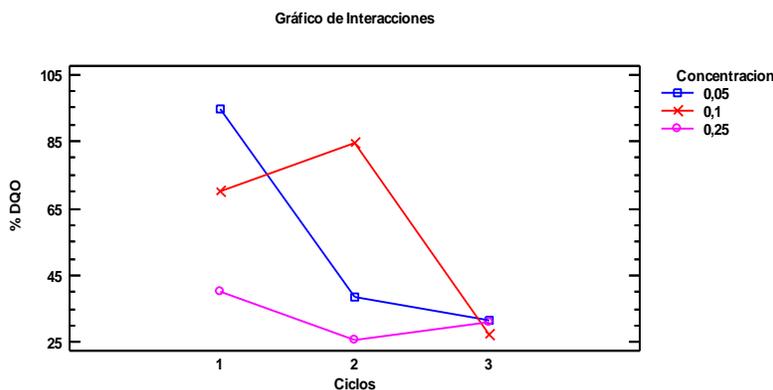
ciclos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	6	30,0	7,18733	X
0	6	49,7667	7,18733	XX
-1	6	68,15	7,18733	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
-1 - 0		18,3833	28,221
-1 - 1	*	38,15	28,221
0 - 1		19,7667	28,221

\* indica una diferencia significativa.

La Figura 16 muestra como varia el % de remoción MO a las diferentes concentraciones por cada ciclo de operación. Se puede observar nuevamente que el mayor % de remoción de MO se presentó en el primer ciclo para las celdas que trabajaron a una concentración de glucosa de 0,05 M con un valor mayor al 90%, mientras que en el segundo ciclo se obtuvieron mejores resultados para las celdas con glucosa a 0,1 M mayor al 80 %, por último en el tercer ciclo, en todas las celdas a cualquier concentración de glucosa el % remoción de MO es menor al 45 %, se puede decir que operar las CCMs durante varios ciclos no aportaron un incremento significativo sobre esta variable, lo cual bajo las condiciones en que llevó a cabo el experimento se hace necesario tan solo un ciclo y utilizar sustrato a menores concentraciones.

En las CCMs operadas bajo las condiciones descritas en este estudio, se logró alcanzar una remoción de MO superior al 90 % cuando se usó sustrato a bajas concentraciones (0,05 M y 0,1 M), lo cual demuestra una eficiente actividad microbiana según lo descrito por Sharma y Li, (2010) y es correspondiente con los resultados obtenidos de voltaje, demostrándose nuevamente la influencia de la concentración de sustrato sobre la producción de energía eléctrica.



**Figura 16. Variación del % de remoción de MO a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.**

## 5.5 DETERMINACIÓN DE CROMO ( $\text{Cr}^{6+}$ )

### 5.5.1. Curva de calibración

Para el estudio de la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , expresada en términos de ppm, se construyó la curva de calibrado en un rango de trabajo de 0,2 y 1 ppm (Figura 14). Se realizó un análisis estadístico de datos para la determinación de  $\text{Cr}^{6+}$  mediante espectrofotometría Uv-Vis; donde se tuvieron en cuenta parámetros como: linealidad, precisión, exactitud, límites de cuantificación y límites de detección para lo cual se partió de la formación de un complejo coloreado generado por la reacción de  $\text{Cr}^{6+}$  con la 1,5 difenilcarbazida (Figura 4), realizando tres mediciones para la construcción de una curva de calibración.

En el proceso de análisis estadístico fue necesario establecer la concordancia de los datos obtenidos tras la medida de las absorbancias mediante la utilización del test Q a un nivel de confianza del 95 %, utilizando este procedimiento no se descartó ningún dato (Anexo D). Con respecto al análisis de linealidad ésta se determinó al establecer la recta de mejor ajuste que en este caso correspondió a la obtenida a partir de los valores promedio de las absorbancias, con un alto coeficiente de correlación (0,998), lo que demostró una dependencia lineal existente entre la concentración y la señal analítica (absorbancia) y permitió aceptar la linealidad en el intervalo evaluado.

Se observó en general una buena precisión y exactitud del método en la construcción de las curvas de calibración empleando distintas concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$ , pues las tres repeticiones arrojaron valores de absorbancia que resultaron en su mayoría ser homogéneos

para cada concentración, es decir, todo esto apuntó a que el método permite una buena reproducibilidad de los resultados (señal analítica-absorbancia), la mayoría de los valores de los coeficientes de variación (CV) no superaron el 15 % y no se identificaron diferencias significativas entre los valores de absorbancias promedio obtenidas y las calculadas a partir de reportes literarios de absorptividad molar. Finalmente se estableció que el método puede emplearse para la detección de  $\text{Cr}^{6+}$  en muestras cuya concentración se encuentre por encima de 0,0318 ppm y cuantifica con precisión a un 95 % de confiabilidad, muestras cuya concentración de  $\text{Cr}^{6+}$  sea igual o mayor a 0,0882 ppm. La figura 17, representa la curva de calibración con la que se obtuvieron los valores de  $\text{Cr}^{6+}$  en las muestras de la cámara catódica de las celdas.

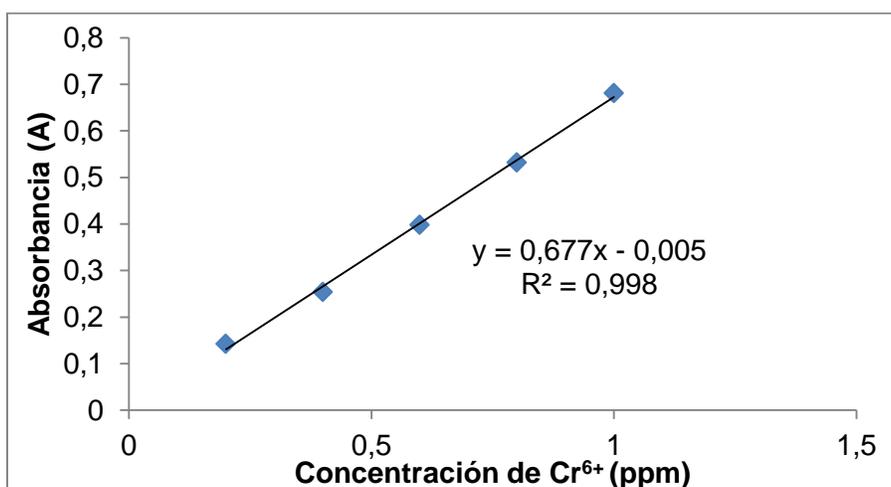


Figura 17. Curva de calibración para la cuantificación de  $\text{Cr}^{6+}$ .

### 5.5.2. Análisis de ( $\text{Cr}^{6+}$ ) en las CCMs de biocátodo

Las muestras filtradas de cada celda (cámaras catódicas), fueron utilizadas para realizar un análisis de  $\text{Cr}^{6+}$ , con el fin de calcular la eficiencia de reducción con relación a los valores iniciales. Cada muestra se preparó de acuerdo a la sección 4.8, además como se trabajó con concentraciones altas, se efectuaron diluciones a 50 veces. Para determinar la concentración de  $\text{Cr}^{6+}$ , se partió de la ecuación de la recta de la curva de calibración (Figura 18). El porcentaje de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en las CCMs de biocátodo se resume en la Tabla 9.

Tabla 9. Reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en las CCMs de biocátodo\*.

CELDA	CICLOS	$\text{Cr}^{6+}$ INICIAL (ppm)	$\text{Cr}^{6+}$ FINAL (ppm)	% REDUCCIÓN
S1	1	25,7	12,9	49,8
	2	22,8	15,7	31,4
	3	29,1	14,8	49,2
S2	1	26,7	12,8	52,1
	2	26,4	10,9	58,7
	3	19,4	15,2	21,6

<b>S3</b>	1	21	6,3	<b>70,0</b>
	2	29,8	19,6	34,2
	3	37,7	31,6	16,2
<b>P1</b>	1	45,3	25,9	<b>42,9</b>
	2	47,4	40,0	15,7
	3	46,6	38,5	17,4
<b>P2</b>	1	46,5	31,0	33,2
	2	46,6	18,2	<b>60,9</b>
	3	43,9	40,3	8,2
<b>P3</b>	1	45,2	6,2	<b>86,3</b>
	2	46,0	32,9	28,3
	3	46,6	37,6	19,3

\*Los valores resaltados en azul son los mayores porcentajes de reducción para cada una de las CCMs de biocátodo.

Como se puede observar en la Tabla 9, mediante el método de espectroscopia UV-Vis, se logró cuantificar la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en las CCMs de biocátodo, cumpliéndose con otro de los objetivos de esta investigación, este método valorado estadísticamente es un aporte para el grupo BEQ para futuras investigaciones. En lo que respecta a esta investigación, la Tabla 9 permite observar que existe una tendencia general donde a menor concentración de glucosa como fuente de carbono en la cámara anódica mayor reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  en la cámara catódica de las celdas, siendo para P3 (86,3 %) y S3 (70 %) los porcentajes más altos de reducción, seguido por las celdas P2 (60,9 %) y S2 (58,7 %), mientras que para las celdas S1 y P1, se obtuvo remoción <55 % en todos los ciclos. Cabe resaltar que la mayoría de los valores de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  coinciden con los más altos porcentajes de remoción de MO (Tabla 6); estos resultados son interesantes porque demuestran el funcionamiento del sistema, donde los electrones se generan a partir de la descomposición del sustrato que realizan los microorganismos en el ánodo en la cámara anódica y son transferidos hasta el cátodo en la cámara catódica donde los microorganismos utilizan el  $\text{Cr}^{6+}$  como aceptor final de electrones y lo reducen.

En el análisis de varianza para el porcentaje de reducción de cromo, se observó que existen dos efectos principales debidos a los factores: ciclos (A) e inóculos (C) y una interacción entre ciclos y concentración (A-B), indicando tres valores-p menores que 0,05 (Tabla 10) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el % reducción de cromo a un nivel de confianza del 95,0 %.

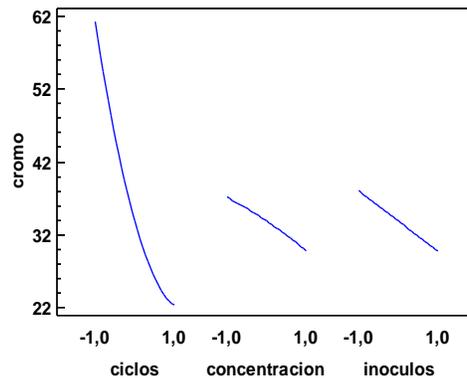
Estos resultados demuestran la influencia de los ciclos discutidos anteriormente para % remoción MO, en este caso a mayor duración de los ciclos mayor % reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ ; y la relevancia de los microorganismos en el cátodo, encontrándose estadísticamente diferencias entre un inóculo y otro.

Tabla 10. Análisis de Varianza para % reducción de cromo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:ciclos	4812,64	2	2406,32	59,99	<b>0,0010</b>
B:concentración	161,973	2	80,9867	2,02	0,2477

C:inoculos	311,667	1	311,667	7,77	0,0494
INTERACCIONES					
AB	1699,77	4	424,942	10,59	0,0210
AC	387,551	2	193,776	4,83	0,0857
BC	436,191	2	218,096	5,44	0,0723
RESIDUOS	160,456	4	40,1139		
TOTAL (CORREGIDO)	7970,24	17			

Los efectos individuales de cada factor analizados sobre el % de reducción de cromo se muestran en la Figura 18. Se puede observar que el mayor efecto lo produce el factor A en el nivel bajo (-1) correspondiente al ciclo uno con una diferencia del 39 %, esto quiere decir que los valores más altos de reducción de cromo se encontraron en este ciclo. Además se puede observar que el factor C también tiene un efecto sobre la variable aunque en menor proporción que el factor A pues la diferencia es de un 8 %, se puede decir que el inóculo con que se obtuvo mejor respuesta de % de reducción cromo fue para el lodo sulfidogénico (-1).



**Figura 18. Efectos individuales de cada factor sobre cromo.**

Para apoyar este resultado se realizaron pruebas de múltiples rangos tanto para ciclos (Tabla 11) como para inóculos (Tabla 12), indicando que en el caso de ciclos existieron diferencias significativas para los tres pares de datos dado que los grupos no fueron homogéneos entre si; observando que el ciclo uno (-1) existió mayor % reducción de cromo y el ciclo tres (1) el de menor porcentaje obtenido.

**Tabla 11. Pruebas de Múltiple Rangos para cromo por ciclos**

Método: 95,0 porcentaje LSD

ciclos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	6	21,9833	2,58566	X
0	6	33,5833	2,58566	X
-1	6	60,9833	2,58566	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
-1 - 0	*	27,4	10,1526
-1 - 1	*	39,0	10,1526
0 - 1	*	11,6	10,1526

\* indica una diferencia significativa.

La prueba de múltiples rangos para inóculos muestra que existió una diferencia significativa entre lodos sulfidogénicos (-1) y agua de río Pasto (1), observándose que los lodos sulfidogénicos hicieron un mayor aporte en la reducción de cromo, sin embargo cabe resaltar que el mayor porcentaje de reducción de cromo (86,3 %) fue obtenido en la celda operada con el inóculo agua de río Pasto en el primer ciclo (P3).

Tabla 12. Pruebas de Múltiple Rangos para cromo por inóculos

Método: 95,0 porcentaje LSD

inóculos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,0	9	34,6889	2,11118	X
-1,0	9	43,0111	2,11118	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
-1,0 - 1,0	*	8,32222	8,28956

\* indica una diferencia significativa.

La Figura 19 muestra como varia el % porcentaje de reducción de  $Cr^{6+}$  con diferentes inóculos por cada ciclo de operación. Se puede observar que el mayor % de reducción de  $Cr^{6+}$  se presentó en el primer ciclo tanto para las celdas con agua de río Pasto como para lodos sulfidogénicos con un valores entre 50-60 %, mientras que en los ciclos dos y tres se observa una diferencia un poco más marcada entre un inóculo y otro, siendo para los lodos sulfidogénicos los que presentaron mayores % de reducción entre un 40 y 30 % respectivamente mientras que para el inóculo de agua de río Pasto se obtuvieron valores de reducción entre 15-20 %.

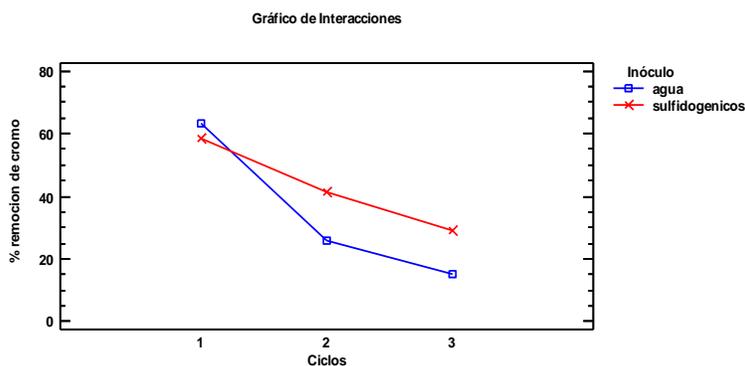


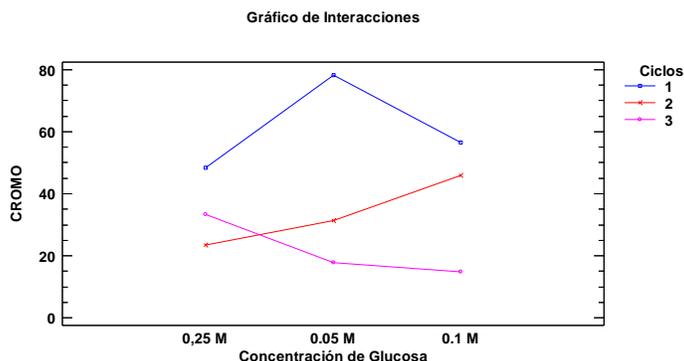
Figura 19. Variación del % porcentaje de reducción de  $Cr^{6+}$  con diferentes inóculos por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.

En general estos resultados permitieron valorar la eficiencia para la reducción de  $Cr^{6+}$  de dos diferentes tipos de inóculos empleados en las CCMs de biocátodo cumpliéndose otro de los objetivos de esta investigación. Se puede decir que la influencia de los inóculos en la cámara catódica, juegan un papel importante en la recepción de los electrones.

Los lodos sulfidogénicos que poseen BSR, las cuales en ausencia de sulfato usaron el cromo como aceptor de electrones permitieron un buen desempeño global de las celdas S para la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  obteniendo porcentajes entre 40-70 % en los dos primeros ciclos de operación (Tabla 9), estos porcentajes son importantes bajo las condiciones llevadas a cabo en la experimentación; si se compara con otros estudios realizados únicamente con BSR y con una fuente externa de carbono como electrodonor; por ejemplo: Smith y Gadd, (2000), quienes utilizaron biopelículas bacterianas de BSR para la reducción y precipitación de cromato, mostraron que un 88 % de cromo hexavalente fue removido en la solución y un 80 % de cromo trivalente precipitó. Singh et al. (2011) en un biorreactor a pequeña escala encontraron que la máxima remoción de  $\text{Cr}^{6+}$  de una solución a una concentración inicial de 50 ppm era de un 96 % utilizando como fuente de carbono lactato. Pagnanelli et al. (2012) en reactores inoculados con BSR para el tratamiento biológico de aguas contaminadas de  $\text{Cr}^{6+}$  y como electrodonor etanol, obtuvieron un porcentaje de eliminación del 90 %. Estos estudios apuntan a la capacidad que tienen las BSR para reducir y precipitar este metal destacando su potencial y aplicación en tratamientos de aguas residuales a gran escala.

Se demostró que las bacterias presentes en el inóculo del agua del río Pasto, lograron reducir el ( $\text{Cr}^{6+}$ ) en el medio de cultivo (suplementado con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ : 50ppm  $\text{Cr}^{6+}$ ) bajo las condiciones experimentales propuestas en esta investigación. El mayor porcentaje de reducción de ( $\text{Cr}^{6+}$ ) (86,3 %) se obtuvo en la celda P3 no obstante en los siguientes ciclos disminuyó progresivamente, esto se ve reflejado por la disminución de remoción de MO (Tabla 6), ya que como se mencionó anteriormente la generación de electrones necesarios para llevar a cabo la reducción en el cátodo provienen de la oxidación de la glucosa en el ánodo.

A continuación se presentan el gráfico de interacciones entre ciclos y concentración (Figura 20), donde se indica que durante el primer ciclo se presentó el mayor % de reducción de cromo para todas las celdas, siendo las de menor concentración de glucosa las que resaltan (>70 %). Además se puede observar que durante los siguientes ciclos el porcentaje de remoción está por debajo del 50 %.



**Figura 20. Variación del % reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.**

La Figura 20 confirma los resultados obtenidos en la Tabla 9 relacionados con la reducción de cromo en las celdas que operan a menores concentraciones de glucosa. Por lo tanto con respecto a la reducción de  $Cr^{6+}$  se puede lograr empleando un ciclo a bajas concentraciones de glucosa y empleando inóculos procedentes de lodos sulfidogénicos; aunque estadísticamente los resultados mostraron que los lodos sulfidogénicos usados como biocátodo obtuvieron mejor respuesta de % reducción de cromo, cabe resaltar que el % de reducción de cromo más alto que fue de 86,3 % fue obtenido en la celda operada con la menor concentración de glucosa y con agua del río Pasto en el primer ciclo.

## 5.6 DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA COULÓMBICA (EC) EN LAS CCMs DE BIOCATÓDO

Como complemento del desempeño eléctrico de las celdas, se consideró otro parámetro, la eficiencia coulombica (EC) de las celdas por cada ciclo de operación, este nos da una información global del experimento ya que involucra un área bajo la curva en un tiempo determinado, mientras que en el caso de la DP solo se consideran puntos de máximo voltaje.

Para este estudio, el cálculo de las ECs de las CCMs de biocátodo se basó en la remoción de MO y en la generación de corriente como se describió en la Ecuación 7; se utilizaron las gráficas de corriente en función del tiempo de operación de cada CCM (Anexo 1) a partir de las cuales se obtuvo la carga total en coulombs (C) generada en la cámara anódica a partir de la oxidación microbiana de la materia orgánica. En la Tabla 13 se muestran las eficiencias calculadas para cada celda y se puede observar como varían de acuerdo a la concentración de sustrato por cada ciclo transcurrido.

Tabla 13. Eficiencia Coulombica (%) de las CCMs de biocátodo\*.

Ciclos	Celdas					
	S1	S2	S3	P1	P2	P3
1	0,0059	0,0227	<b>1,0451</b>	<b>0,0231</b>	0,0436	<b>0,9232</b>
2	0,0080	<b>0,1184</b>	0	0,0135	<b>0,1052</b>	0,6743
3	<b>0,0093</b>	0,0415	0	0,0056	0,0391	0,1737

\*Los valores resaltados en naranja muestran los valores más altos de EC obtenidos en las CCMs de biocátodo.

Los valores de EC obtenidos para este tipo de celdas fueron mínimos, si se los compara otros estudios de hasta un 70 % (Álzate et al., 2008), esta diferencia tan marcada se debe a las diferentes condiciones de operación, el tipo de electrodos, separadores y diferentes inóculos, lo cual hizo que disminuyera la eficiencia de las celdas, sin embargo, se demuestra que es posible la generación de electricidad utilizando CCMs de biocátodo propuestas en esta investigación.

La EC está directamente relacionada con la remoción de materia orgánica, de esta manera a mayor remoción de MO mayor EC (Cirik, 2014) como puede observarse en la Tabla 13 donde se obtuvieron valores de EC correspondientes a los mayores % de remoción de MO, presentándose las mayores eficiencias en los primeros ciclos y a menor concentración de glucosa.

Además, el análisis de varianza realizado para la EC, indicó que el factor B: concentración es el que tiene un efecto estadísticamente significativo sobre esta variable puesto que el p-valor es menor que 0,05 (Tabla 14), como lo evidencian las celdas S3 y P3 (las de menor concentración) con valores más altos de EC (1,0451 % y 0,9232 % respectivamente), mientras que las celdas S1 y P1 (las de mayor concentración) se obtuvieron los valores más bajos.

Tabla 14. Análisis de Varianza para EC

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ciclos	0,275101	2	0,137551	4,84	0,0856
B:concentracion	0,757915	2	0,378958	13,32	0,0170
C:inoculos	0,0312833	1	0,0312833	1,10	0,3535

El anterior resultado también se confirma con la prueba de múltiples rangos (Tabla 15), la cual indicó que existen dos grupos homogéneos de concentración (0,25 M:1 y 0,1 M:0) sin diferencias estadísticamente significativas en sus promedios y que contribuyen de manera similar en EC, mientras que la concentración de 0,05 M indicó que es la que más influyó en los valores de EC.

Tabla 15. Pruebas de Múltiple Rangos para EC por concentración

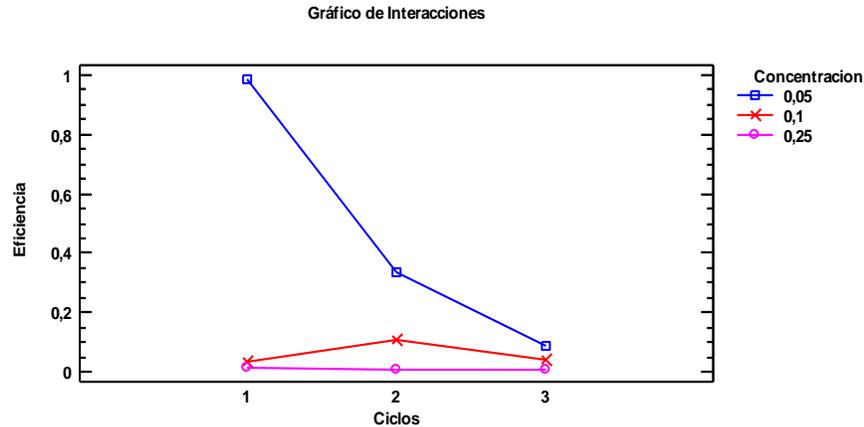
Método: 95,0 porcentaje LSD

Concentración	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	6	0,0109	0,068851	X
0	6	0,06175	0,068851	X
-1	6	0,469383	0,068851	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
-1-0	*	0,407633	0,270344
-1-1	*	0,458483	0,270344
0-1		0,05085	0,270344

\* indica una diferencia significativa.

La Figura 21 muestra como varía la EC a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación. Se puede observar que a baja concentración (0,05 M) se obtuvieron los mayores valores de EC siendo el mayor en el primer ciclo. Además se puede observar que en el ciclo 3 para todas celdas a las distintas concentraciones empleadas, el valor de EC está por debajo del 0,2 %. Para este tipo de celdas existió una relación inversa entre la concentración de sustrato y la EC obtenidas, ya que los valores más bajos fueron para S1 y P1, como se muestra en la Tabla 13, que implica que a altas concentraciones de sustrato se inhibe la generación de energía en las CCMs.



**Figura 21. Variación de EC a diferentes concentraciones por cada ciclo de operación en CCMs de biocátodo.**

Estas diferencias causadas por la concentración de glucosa, donde muestran una relación inversa con la EC (a mayor concentración menor EC) se pueden explicar según lo demostrado por Sharma y Li (2010) quienes determinaron la EC en una CCM con MIP variando la concentración de glucosa, sus resultados mostraron que los valores de EC decrecen significativamente al aumentar la concentración del sustrato ensayado limitando la generación de energía en la CCMs, siendo la eficiencia más alta para la glucosa (0,5mM) de tan solo un 19 %.

Además se debe considerar que la eficiencia de la glucosa como combustible es baja, debido a que es un sustrato fermentable por tanto su consumo se debe a diversos metabolismos competitivos como la fermentación y metanogénesis que no pueden producir electricidad (Chae et al.,2009 ; Sharma y Li, 2010).

Es pertinente discutir con relación a la duración de los ciclos el cual fue diferente para cada una de las celdas, esto puede tener un efecto importante en la generación de electricidad como fue demostrado por Cirik, (2014), un ciclo largo mayor remoción de MO y por ende EC. En esta investigación la celda P3 tuvo una magnitud de voltaje más alta en el segundo ciclo que en el primero sin embargo la EC es menor (0,6743 %), esta situación se puede explicar porque el cálculo de EC involucra la variable tiempo lo cual es mucho más corto en el ciclo 2 donde el voltaje es mayor, por tanto para futuras investigaciones es importante normalizar el tiempo pues es relevante para la generación de energía eléctrica.

Chae et al. (2009), obtuvieron resultados similares a pesar de que usaron celdas de diferente configuración pues son con cátodo aireado; observaron que las celdas al operar con glucosa el incremento del voltaje fue bastante bajo requiriéndose de un largo periodo de 42 horas para alcanzar el máximo voltaje con una EC de solamente 3,3 %.

Por otro lado, se observó en la celda S3 no se obtuvo repuesta de voltaje y por ende EC en los ciclos dos y tres, no obstante si se obtuvieron resultados de remoción de MO (Tabla 5)

como ya se mencionó puede haber ocurrido que los microorganismos generadores de voltaje perdieron su actividad microbiana en los siguientes ciclos y por tanto las bacterias usaron gran parte del sustrato para sus funciones vitales.

Si se tienen en cuenta los % de remoción de MO (Tabla 6), los valores altos no implican en valores altos de EC en cuanto a su magnitud, esto podría explicarse porque las CCMs como sistemas generadores de electricidad son aún ineficientes, debido a la resistencia interna del sistema dependiente de diferentes factores tales como: otros posibles aceptores terminales de e<sup>-</sup>, ineficiencia del puente salino, material y porosidad del electrodo entre otros (Chae et al., 2009; Li et al., 2010; Burgos, 2012).

No obstante estos resultados demuestran que utilizando CCMs de biocátodo con materiales de fácil obtención es posible generar electricidad y que operar a una baja concentración de glucosa, se obtienen valores de EC más altos.

## CONCLUSIONES

Mediante el dispositivo ensamblado en el laboratorio, celda de biocátodo (CCM-biocátodo-Grupo de Investigación en Bioelectroquímica), fue posible reducir el  $\text{Cr}^{6+}$  en un 86,3 % (celda P3: inoculo agua de río Pasto), remover materia orgánica (MO) en un 97,9 % (celda P3) y generar electricidad a muy baja intensidad (40 mV) (celda S2: inóculo lodos sulfidogénicos)

Se demostró estadísticamente que la concentración de MO influye en gran medida en el comportamiento de las celdas. Las celdas operadas a menor concentración de MO (0,05 y 0,1M) mostraron un mayor porcentaje de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$ , remoción de MO y eficiencia coulombica (EC). Además se observó que en el primer ciclo se presenta el mejor desempeño de las celdas en cuanto a remoción de MO, reducción de cromo y EC.

Se demostró estadísticamente que utilizar los microorganismos de los lodos sulfidogénicos en el biocátodo, fue mejor el desempeño eléctrico de la celda (celda S3, 1,0451 % de EC), con un % de remoción de MO 91,5 % y de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  de 70 %. Aunque el mayor % de reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  (86,3 %) se obtuvo con aguas del río Pasto en la celda P3.

Se implementó y evaluó un método analítico para la cuantificación de  $\text{Cr}^{6+}$  utilizando como herramienta analítica la espectrofotometría UV-Vis.

## RECOMENDACIONES

Observando la eficiencia en remoción de  $\text{Cr}^{6+}$ , un elemento altamente tóxico, es factible pensar en escalar este tipo de tratamiento con el fin de tratar un problema altamente crítico en la Universidad de Nariño: el tratamiento de desechos de los laboratorios especializados que contienen altas concentraciones de  $\text{Cr}^{6+}$ .

Se recomienda utilizar MIP para disminuir la resistencia interna de las CCMs, con el fin de mejorar la generación de energía eléctrica en estos dispositivos.

Sería importante considerar el efecto del área de los electrodos así como también la variación de la distancia entre los mismos, ya que son factores que pueden determinar el aumento o disminución de la potencia generada en las celdas.

Se recomienda que a futuras investigaciones se fije el tiempo de operación de los ciclos con el fin de realizar comparaciones de eficiencias coulombicas ya que este parámetro involucra la variable tiempo, además se podría realizar un seguimiento diario de la remoción de materia orgánica así como también en la medición de cromo u otras variables (pH, temperatura).

Sería importante realizar una cinética tipo saturación entre la concentración de sustrato y voltaje generado en las CCMs de biocátodo encaminada a establecer un rango máximo de concentración en estos dispositivos obteniendo los máximos voltajes.

Para estudios futuros, en caso de considerar la aplicación de las celdas para tratamiento directo de aguas del río Pasto contaminadas con  $\text{Cr}^{6+}$ , se recomienda realizar un análisis fisicoquímico completo de las mismas, y caracterizar en ello otros posibles aceptores electrones como el  $\text{Fe}^{3+}$  u otras especies que podrían afectar el proceso.

## REFERENCIAS

- Álzate, A. (2004). Diagnóstico ambiental del sector curtiembre de Colombia proyecto gestión ambiental en la industria de curtiembre. Centro nacional de producción más limpia. p. 8-9.
- Álzate, L., Fuentes, C., Alvarez, A., & Sebastian, P. (2008). Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo PEM. *Interciencia*, 33(7), 503-509.
- APHA-AWWA-WPCF. (1992). Metodos Normalizados para el analisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz de Santos S.A. p.p.1360.
- Bábula, P., Adam, V., Opatrilova, R., Zehnalek, J., Havel, L., & Kizek, R. (2008). Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. *Environ Chem Lett*, 6, 189-213.
- Barakat, M. (2010). Review: New trends in removing heavy metals from. *Arabian Journal of Chemistry*, 4, 361-377.
- Barrera, C., Lugo, V., & Bilyeu, B. (2012). A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous. *Journal of Hazardous Materials*, 1-12.
- Betancourth, M., Botero, J., & Rivera, S. (2004). Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Colombia Médica*, 35(3), 34-39.
- Bolaños, A., Parra, M., Viveros, J., López, S., Bolaños, J., Ruiz, J., Hurtado, N., Revelo, D. (2011). Celdas de combustible microbianas de biocátodo para la reducción de cromo hexavalente y producción simultánea de energía eléctrica utilizando lodos activados. Grupo de Investigación en Bioelectroquímica (BEQ) – Universidad de Nariño.
- Buitrón, G., & Perez, J. (2011). Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 14(1), 5-11.
- Burgos, R. (2012). Evaluación electroquímica de materiales anódicos y su aplicación en celdas de combustible microbiana. (tesis pregrado). Mérida, Yucatán, México.
- Cascaret, D., Pérez, R., Aguilera, I., & Calzado, O. (2010). Validación interna del método espectrofotométrico por adecuación, para la determinación de cromo (VI) en aguas residuales. *Revista cubana de química*, 22(3), 9-13.
- Castillo, C. & Caicedo, A. Retención del cromo de vertimientos de curtiembre. (2001). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto.
- Castillo, C & Caicedo, A. Identificación de la naturaleza química del cromo proveniente de efluentes de curtiembre, en el sistema de adsorción cromo – marmolina. (2004). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto.

- Cha, J., Choi, S., Yu, H., Kim, H., & Kim, C. (2010). Directly applicable microbial fuel cells in aeration tank for wastewater treatment. *Bioelectrochemistry*, *78*, 72-79.
- Chae, K.-J., Choi, M.-J., Lee, J.-W., Kim, K.-Y., & Kim, I. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, *100*, 3518-3525.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environment International*, *36*, 299-307.
- Cirik, K. (2014). Optimization of Bioelectricity Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cell: Effect of Electrode Material, Initial Substrate Concentration, and Cycle Time. *Appl Biochem Biotechnol*, *173*, 205-214.
- Cristiani, P., Carvalho, M., Guerrini, E., Daghighi, M., Santoro, C., & Li, B. (2013). Cathodic and anodic biofilms in Single Chamber Microbial Fuel Cells. *Bioelectrochemistry*, *92*, 6-13.
- Derek, L. (2011). Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. *Environmental Microbiology Reports*, *3*(1), 27-35.
- Dhal, B., Thatoi, H., Das, N., & Pandey, B. (2013). Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. *Journal of Hazardous Materials*, *272*-291.
- Di Lorenzo, M., Scott, K., Curtis, T., & Head, I. (2009). Effect of increasing anode surface area on the performance of a single chamber microbial fuel cell. Recuperado de: <http://www.sinab.unal.edu.co/contenido/recursos/bases.php?var=s>. (mayo 10 de 2013)
- Du, Z., Li, H., & Gu, T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, *25*, 464-482.
- Eastmond, D., MacGregor, J., Slesinski, R. (2008). Trivalent Chromium: Assessing the Genotoxic Risk of an Essential Trace Element and Widely Used Human and Animal Nutritional Supplement. *Environmental Toxicology*. *38*(3), 173-190.
- Erazo, P., Usbekc, I. (2013). Evaluación de la riqueza y abundancia de colonias asociadas a los electrodos de CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI) con respecto a la generación de electricidad. Grupo de Investigación en Bioelectroquímica (BEQ)-Universidad de Nariño
- Esteve, A. (2008). Bacterias productoras de electricidad. *Actualidad*, *45*, 34-37.
- Falcon, A., Lozano, E., & Juarez, K. (2009). Bioelectricidad. *Biotechnologia*, *13*(3), 62-75.
- Freguia, S., Rabaey, K., Yuan, Z., & Keller, J. (2008). Syntrophic processes drive the conversion of glucose in microbial fuel cell anodes. *Environ. Sci. Technol.*, *42*, 7937-7943.

- Galindo, J. (2005). Estudio de una celda de combustible orgánico utilizada para la generación de energía eléctrica en procesos de tratamiento biológico de aguas residuales. (Trabajo de grado magister en ingeniería civil). Universidad de los Andes. Facultad de ingeniería civil y ambiental. Bogotá D.C.
- Gil, E., Saldarriaga, C., & Ocampo, A. (2006). Uso de cenizas volantes en la eliminación de Cr(III) de aguas residuales. Medellín, Antioquia, Colombia.
- Giraldo, E. 1993. Tratamientos anaerobios de las aguas residuales domésticas. Limitaciones y potencialidades. Rev. Ingeniería UniAndes, 5-6.
- Harris, D. (2001). *Análisis químico cuantitativo* (segunda ed.). Reverte S.A. p.p. 924
- Hernández, A. (2003). *Microbiología Industrial. EUNED* p. 49
- Huang , L., Chen , J., Quan, X., & Yang, F. (2010). Enhancement of hexavalent chromium reduction and electricity production from a biocathode fuel cell. *Bioprocess Biosystems Engineering*, 33, 937-945.
- Huang, L., Chai, X., Chen, G., & Logan , B. (2011). Effect of Set Potential on Hexavalent Chromium Reduction and Electricity Generation from Biocathode Microbial Fuel Cells. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 5025-5031.
- Khezami, L. y Capart, R. 2005. Removal of chromium (VI) from aqueous solution by activated carbons: kinetic and equilibrium studies. *J. Hazard. Mater.* 123: 223- 231.
- Kitchen, F. (2008). Evaluación técnica preliminar de la reducción de cromo hexavalente por medio de un proceso electrolítico. Universidad de Los Andes, Bogotá.Colombia.1-5.
- Lee, H., Parameswaran, P., Kato-Marcus, A., Torres, C., & Rittmann, B. (2008). Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells (MFCs) utilizing fermentable and non-fermentable substrates. *Water Res.*, 42, 1501-1510.
- Li, W., Sheng, G., Liu, X., & Yu, H. (2010). Recent advances in the separators for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 1-9.
- Li, Y., Lu, A., Din, H., Jin, S., Yan, Y., Wang, C., y otros. (2009). Cr(VI) reduction at rutile-catalyzed cathode in microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 11, 1496-1499.
- Liu, H. y Logan, B. (2004). Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4040-4046.
- Logan, B., Hamelers, B., Rozendal, R., Schroder, U., Keller, J., Freguia, S., y otros. (2006). Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental science & technology*, 40, 5181-5192.

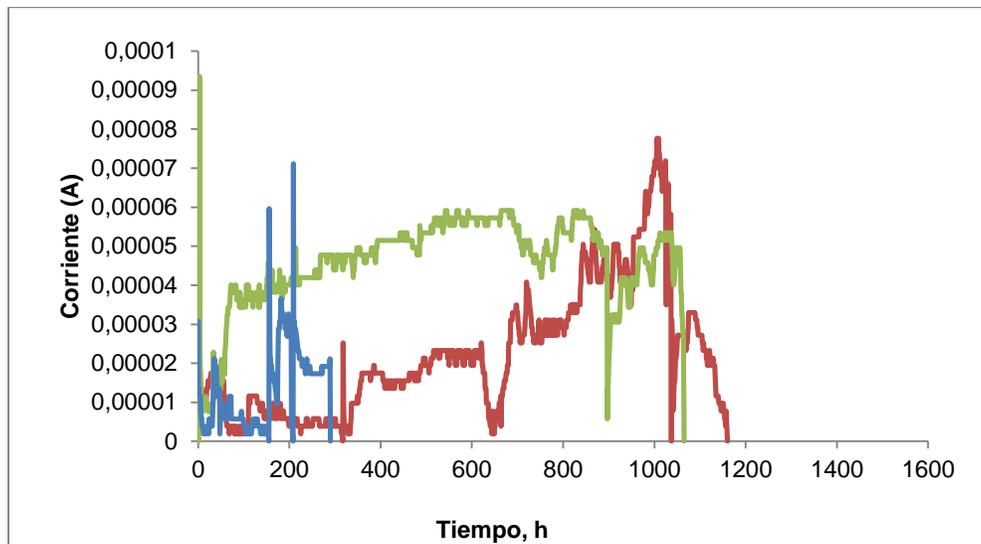
- Lovley, D. (2008). The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Biotechnology*, 565-569.
- Lovley, D. (2011). Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. *Environmental Microbiology Reports*, 3(1), 27-35.
- Luo, Y., Zhang, R., Liu, G., Li, M., & Zhang, C. (2010). Electricity generation from indole and microbial community analysis in the microbial fuel cell. *Journal of Hazardous Materials*, 176, 759-764.
- Mathuriya, A., & Yakhmi, J. (2014). Microbial fuel cell to recover heavy metals. doi:10.1007/s10311-014-0474-2
- Min, B., Cheng, S., & Logan, B. (2005). Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research*, 39, 1675-1686.
- Min, B., & Logan, B. (2004). Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrate in flat plate microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 5809-5834.
- Mohan, D., & Pittman, C. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. *Journal of Hazardous Materials*, 137, 762-811.
- Muñoz, M., Galindo, C. (2011). Energía limpia por la actividad electroquímica de las biopelículas de un biodigestor. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Oliveira, V., Simoes, M., Melo, L., & Pinto, A. (2013). Overview on the developments of microbial fuel cells. *Biochemical Engineering Journal*, 73, 53-64.
- Ortiz, G., Moreno, L., Jimenez, J. Bacterias Eléctricas, 74-77. Recuperado de: [http://www.upo.es/moleqlla/export/sites/moleqlla/documentos/Articulo\\_destacado\\_numero\\_4.pdf](http://www.upo.es/moleqlla/export/sites/moleqlla/documentos/Articulo_destacado_numero_4.pdf). (septiembre 7 de 2014)
- Pagnanelli, F., Cruz-Viggi, C., Cibati, A., Uccelletti, D., Toro, L., & Palleschi, C. (2012). Biotreatment of Cr(VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol. *Journal of Hazardous Materials*, 186-192.
- Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L., & Vanbroekhoven, K. (2010). A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*, 101, 1533-1543.
- Rabaey, K., Ossieur, W., Verhaege, M., & Verstraete, W. (2003). Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. 1-6.
- Rabaey, K., & Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology*, 23(6), 291-298.
- Ralph, S. (1977). *Química general*. Reverte. p.p. 872.

- Revelo, D; Hurtado, N; Ruiz, J. (2013a). Informe final: proyecto de investigación tecnología bioelectroquímica aplicada al tratamiento de aguas residuales sintéticas. Grupo de Investigación en Bioelectroquímica (BEQ). Universidad de Nariño.
- Revelo, D; Hurtado, N; Ruiz, J. (2013b). Celdas de combustible microbianas (CCMs): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía. *Información tecnológica*, 24(6), 17-28. doi:10.4067/S0718-07642013000600004
- Rios, E. 2006. Energías Renovables Biológicas–Hidrógeno-Pilas de Combustible-II. p.171-172.
- Rismani-Yazdi, H., Carver, S., Christy, A., & Tuovinen, O. (2011). Cathodic limitations in microbial fuel cells: An overview. *Journal of Power Sources*, 102, 278-283.
- Romanenko, V. y Koren'Ken, V. (1977). A pure culture of bacteria utilizing chromates and bichromates and hydrogen acceptors in growth under anaerobic conditions. *Microbiology* 46, 414–417.
- Rosenbaum, M., Aulenta, F., Villano, M., & Angenet, L. (2010). Cathodes as electron donors for microbial metabolism: Which extracellular electron transfer mechanisms are involved? *Bioresource Technology*.
- Rozendal, R., Hamelers, H., Rabaey, K., Keller, J., & Buisman, J. (2008). Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*, 26(8), 450-459.
- Sacco, N., Bonetto, M., Corton, E. (2008). Generación de Electricidad en una Celda de Combustible Microbiana Mediada Utilizando Micro-ánodos Descartables. Ciudad Universitaria. Buenos Aires, Argentina.
- Saha, R., Nandi, R., Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*. 64, 1782-1806.
- Schröder, U. (2009). Fuel cells – Exploratory fuel cells / Microbial Fuel Cells. *Encyclopedia of Electrochemical Power Sources*. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444527455002902> (septiembre 15 de 2014).
- Sengodan, P. y Hays, D. (2012). Microbial Fuel Cells. Future Fuel Technologies, National Petroleum Council (NPC) Study, 1-13.
- Serway, R., Faughn, J. (2001). Física (quinta edición). Pearson Educación, México, p.p. 849.
- Sharma, V., & Kundu, P. (2010). Biocatalysts in microbial fuel cells. *Enzyme and Microbial Technology*, 47(5), 179-188.
- Sharma, Y., & Li, B. (2010). The variation of power generation with organic substrates in single-chamber microbial fuel cells (SCMFCs). *Bioresource Technology*, 101, 1844-1850.

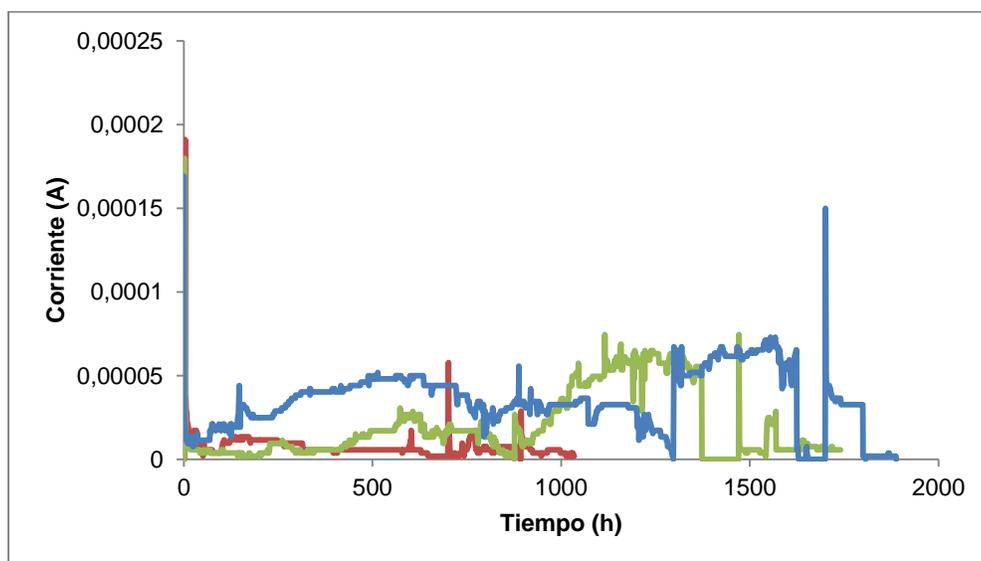
- Singh R, Kumar A, Kirrolia A, Kumar R, Yadav N, Bishnoi N. (2011). Removal of sulphate, COD and Cr(VI) in simulated and real wastewater by sulphate reducing bacteria enrichment in small bioreactor and FTIR study. *Bioresource Technology*, 102, 677–682.
- Singhvi, P., & Chhabra, M. (2013). Simultaneous Chromium Removal and Power Generation Using Algal Biomass in a Dual Chambered Salt Bridge Microbial Fuel Cell. *Bioremediation & Biodegradation*, 4(5), 1-4.
- Smith, W. y Gadd, G. (2000). Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 983- 991.
- Soledad, M.2006. Uso de bacterias sulfato-reductoras Inmovilizadas para la precipitación de metales pesados (tesis pregrado). Universidad Nacional de la Plata. Argentina. p. 9-17.
- Tandukar, M., Huber, S., Onodera, T., & Pavlostathis, S. (2009). Biological chromium (VI) reduction in the cathode of a microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol*, 43(21), 8159-8165.
- Thrash, J.C., y Coates, J.D. (2008). Review: direct and indirect electrical stimulation of microbial metabolism. *Environ Sci Technol*,42,3921–3931.
- Venkata, M., Veer, R. y Sarma, P., (2008). Biochemical evaluation of bioelectricity production process from anaerobic wastewater treatment in a single chambered microbial fuel cell (MFC) employing glass wool membrane. *Biosensors and Bioelectronics*, 23, 1326-1332.
- Zang G, Zhao Q, Jiao Y, Wang K, Lee D-J, Ren N. 2012. Biocathode microbial fuel cell for efficient electricity recovery from dairy manure. *Biosensors and Bioelectronics*. 31, 537-543.
- Wei, J., Liang, P., & Huang, X. (2011). Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 1-12.
- Xafenias, N., Zhang, Y., & Banks, C. (2013). Enhanced performance of hexavalent chromium reducing cathodes in the presence of *Shewanella oneidensis* MR-1 and lactate. *Environmental Science and Technology*. doi: 10.1021/es304606u.
- Xafenias, N., Zhang, Y., & Banks, C. (2014). Evaluating hexavalent chromium reduction and electricity production in microbial fuel cells with alkaline cathodes. *Int. J. Environ. Sci. Technol*. doi: 10.1007/s13762-014-0651-7.

## ANEXOS

### Anexo A.



a. Generación de corriente eléctrica en la CCMs de biocátodo S1, S2, S3



b. Generación de corriente eléctrica en la CCMs de biocátodo P1, P2, P3

## Anexo B. Análisis estadístico de la curva de calibración de DQO

C ppm	A1	A2	A3	Ā	S	CV (%)
100	0,046	0,037	0,037	0,040	0,0052	13
300	0,115	0,114	0,113	0,114	0,0010	0,88
500	0,165	0,164	0,159	0,163	0,0032	1,96
700	0,223	0,220	0,232	0,225	0,0062	2,75
900	0,277	0,281	0,288	0,282	0,0056	1,99
1000	0,307	0,315	0,296	0,306	0,0095	3,1

## Anexo C. Datos de DQO inicial y final por cada ciclo de operación en las CCMs de biocátodo.

Celdas	Ciclos	DQO inicial (mg /L)	DQO final (mg /L)
S1	1	51767	35100
	2	49100	33433
	3	48767	31433
S2	1	25433	14433
	2	24100	6433
	3	24100	17767
S3	1	5100	433
	2	4767	4100
	3	4100	3433
P1	1	48767	25544
	2	48656	38989
	3	48433	35433
P2	1	22211	767
	2	22100	878
	3	21989	16544
P3	1	4656	100
	2	4544	1656
	3	4544	2433

## Anexo D. Resultados del análisis estadístico del método para la cuantificación de Cr<sup>6+</sup>

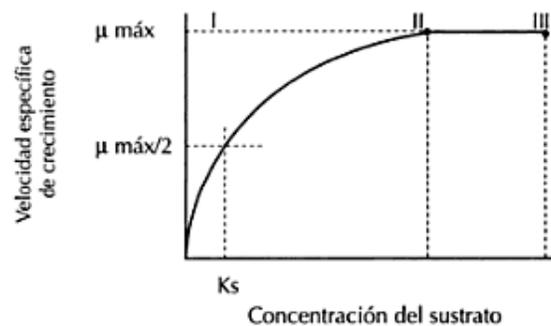
C ppm	A1	A2	A3	*Qcal	Ā	S	CV (%)	μ (95 %) ±	At	Er (%)
0,2	<b>0,186</b>	0,110	0,132	0,710	0,143	0,0391	27,3	0,119	0,154	-7,14
0,4	<b>0,280</b>	0,234	0,248	0,696	0,254	0,0236	9,29	0,0718	0,308	-17,5
0,6	0,395	0,410	0,388	----	0,398	0,0112	2,82	0,0340	0,461	-13,7
0,8	<b>0,462</b>	0,542	0,591	0,620	0,532	0,0705	13,25	0,214	0,615	-13,5
1	0,659	0,662	<b>0,721</b>	0,952	0,681	0,0347	5,10	0,105	0,769	-11,4

\*Qcal fue menor que Qcrit (Qcal < Qcrit) no se descartaron datos discordantes.

Parámetros	Valores
Número de muestras	3
Media	0,00520
Desviación estándar	0,00545
Límite de detección	0,0318 ppm
Límite de cuantificación	0,0882 ppm

## Anexo E. Modelo de Monod

Este modelo explica el efecto de la concentración de sustrato (Cs) sobre la velocidad de crecimiento microbiano (μ), es decir a medida que aumenta la concentración del sustrato, la velocidad de crecimiento tiende a la velocidad máxima, hasta que hay suficiente sustrato y por más que se aumente su concentración, se mantiene constante; este modelo se toma como base para la explicación de la relación existente entre la concentración de sustrato y voltaje generado; mencionado en el documento.



Efecto de la concentración de sustrato limitante sobre la velocidad de crecimiento microbiano.

Fuente Hernández, A. Microbiología Industrial. (2003)