

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS

**MODIFICACIÓN DE MATERIALES CARBONÁCEOS Y SU
POTENCIAL APLICACIÓN EN SISTEMAS
BIOELECTROQUÍMICOS**

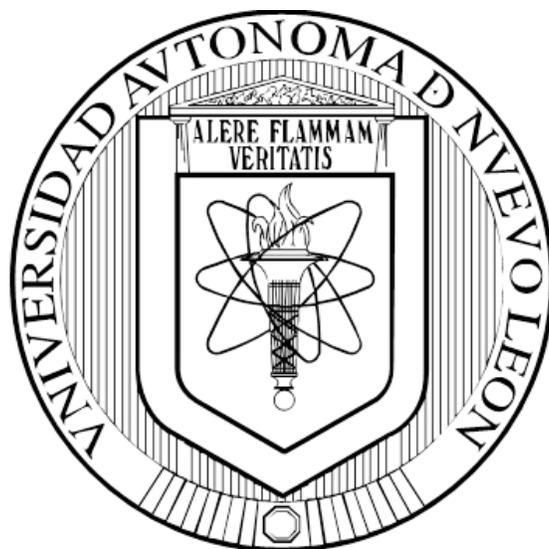
POR

DANIEL ALEJANDRO CASTAÑÓN GAONA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA
APLICADA**

DICIEMBRE, 2016

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS

**MODIFICACIÓN DE MATERIALES CARBONÁCEOS Y SU
POTENCIAL APLICACIÓN EN SISTEMAS
BIOELECTROQUÍMICOS**

POR

DANIEL ALEJANDRO CASTAÑÓN GAONA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAestrÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA
APLICADA**

DICIEMBRE, 2016

**MODIFICACIÓN DE MATERIALES CARBONÁCEOS Y SU
POTENCIAL APLICACIÓN EN SISTEMAS
BIOELECTROQUÍMICOS**

Aprobación de la tesis:

Dr. Luis Humberto Álvarez Valencia
Asesor de la Tesis

Dr. Refugio Bernardo García Reyes
Co-asesor de la tesis

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Revisor

Dra. Pilar del Carmen Morales San Claudio
Revisor

Dr. Héctor Javier Amezcua García
Revisor

Jefe de la División de Estudios de Postgrado o
Secretario de Postgrado o
Subdirector de Estudios de Postgrado

RESUMEN

Daniel Alejandro Castañón Gaona

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título de tesis: MODIFICACIÓN DE MATERIALES CARBONÁCEOS Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN CELDAS BIOELECTROQUÍMICAS.

Número de páginas: 50

Candidato de la Maestría en Ciencias
con Orientación en
Microbiología Aplicada

Área de estudio: Microbiología Aplicada

Propósito y métodos del estudio: El carbón activado ha sido ampliamente utilizado en muchos procesos, como en tratamiento de agua, uno de los usos que se le ha encontrado es como electrodo para procesos de generación de energía. Los mediadores redox son sustancias que ayudan en las reacciones de oxido-reducción para favorecerlas o aumentar su velocidad. El presente trabajo se centra en esto, al seleccionar y modificar distintos tipos de materiales carbonaceos (MC) con mediadores redox (MR) aunado a un proceso biológico con *Geobacter sulfurreducens* para la generación de energía. Los MC son 3 telas (FM50-k, tela simple y doble) con distintos tipos de tejido y los MR utilizados son antraquinona-2-sulfonato (AQS), antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS), riboflavina y lawsona. También se llevó a cabo una inmovilización de los mediadores redox que mejor característica tuvieron en los materiales carbonáceos.

Contribución y conclusiones: En las cinéticas para la transferencia de electrones de los MR se encontró que la riboflavina es el mediador con mayor eficiencia en el proceso, después la AQS, AQDS y lawsona. En cuanto a la caracterización de los MC se determinó la capacidad de transferencia biológica total de electrones donde el mejor comportamiento mostro es la tela doble, seguida por la FM50-k, luego la simple. También se hizo una determinación de grupos funcionales por el método de Boehm de los MC, donde se encontró que el material con mejores características para el proyecto es la tela FM50-k, siendo la que también posee la mayor capacidad de adsorción de mediadores redox (AQS y AQDS), y también teniendo un buen desempeño en las cinéticas de capacidad de transferencia de electrones además de la mayor resistencia mecánica de las tres fibras evaluadas.

TABLA DE CONTENIDO

Capitulo

1. Introducción.....	1
1.1 Sistemas bioelectroquímicos.....	1
1.2 Microorganismos exoelectrogénicos.....	3
1.3 Mediadores redox.....	4
2. Antecedentes.....	6
2.1 Celdas de Combustible Microbiano.....	6
2.2 Electrodo en celdas de combustible microbiano.....	7
2.2.1 Electrodo de carbón activado.....	7
2.2.2 Caracterización de los materiales carbonáceos...9	
2.2.3 Modificación de carbón activado.....	10
2.3 Microorganismos y los procesos de transferencia de electrones.....	11
2.3.1 Mecanismos de transferencia de electrones.....	12
2.4 Mediadores redox en los procesos de transferencia de electrones.....	15
3. Hipótesis.....	18
4. Objetivos.....	18
4.1 Objetivo general.....	18
4.2 Objetivos específicos.....	18
5. Metodología.....	19
5.1 Materiales y reactivos.....	19
5.2 <i>Geobacter sulfurreducens</i>.....	20

5.2.1	Medio NBAF y cultivo.....	20
5.2.2	Inóculo de <i>Geobacter sulfurreducens</i> para la cinética.....	21
5.3	Materiales carbonáceos.....	22
5.3.1	Micrografías.....	22
5.3.2	Capacidad total de transferencia de electrones..	22
5.3.3	Titulaciones Boehm.....	23
5.4	Pérdida de la integridad física.....	24
5.5	Modificación de materiales carbonáceos.....	24
5.5.1	Inmovilización de mediadores redox.....	24
5.5.2	Modificación con HNO ₃	26
5.6	Cinéticas de transferencia de electrones.....	27
5.6.1	Inóculo de <i>Geobacter sulfurreducens</i> para la cinética.....	27
5.6.2	Mediadores redox.....	27
5.6.3	Fibras de carbón.....	27
5.7	Evaluación del material carbonáceo en una celda de combustible microbiano.....	28
6.	Resultados y discusiones.....	29
6.1	Caracterización materiales carbonáceos crudos.....	29
6.1.1	Micrografías.....	29
6.1.2	Capacidad total de transferencia de electrones..	30
6.1.3	Titulación Boehm.....	31
6.1.4	Pérdida de la integridad física.....	33

6.2	Modificación de materiales carbonáceos.....	35
6.3	Cinéticas de transferencia de electrones.....	39
6.4	Curvas de polarización y de potencia.....	45
7.	Perspectivas.....	49
7.1	Aplicaciones en sistemas bioelectroquímicos.....	49
8.	Conclusiones.....	50
9.	Referencias.....	52

Lista de figuras

Figura 1. Ilustración de celda bioelectroquímica.....	3
Figura 2. Estructura de algunos compuestos usados como mediadores redox.....	5
Figura 3. Propuesta de mecanismos de transferencia de <i>Geobacter sulfurreducens</i> para la reducción de Fe ³⁺	14
Figura 4. Mecanismo de transformación de distintas especies y compuestos catalizados por una quinona modelo como mediador redox (MR).....	16
Figura 5. Fotografías tomadas con estereoscopio de los distintos materiales carbonáceos.....	19
Figura 6. Estructura de los mediadores redox a utilizar en esta investigación.....	20
Figura 7. Ilustración de la determinación de la CTE aplicando el método de la ferrozina.....	23
Figura 8. Mecanismo de cloración del material carbonáceo.....	25
Figura 9. Micrografías de los materiales carbonáceos.....	29
Figura 10. Evaluación de la CTE de los diferentes materiales carbonáceos por <i>G. sulfurreducens</i>	30
Figura 11. Grupos funcionales de los materiales carbonáceos.....	32
Figura 12. Fotografías de las Fibras después de las 24 horas de agitación, A) Fibra FM50-k, B) Fibra Simple, C) Fibra Doble.....	33
Figura 13. Ilustración de la relación que existe entre la cantidad de CTE y la cantidad de grupos quinonas.....	34

Figura 14. Isotermas adsorción de AQS (1) y AQDS (2) en las fibras de carbón activado.....	36
Figura 15. Capacidad de adsorción y desorción (promedios de dos lavados) de los materiales carbonáceos para ambos mediadores redox (AQS y AQDS).....	38
Figura 16. Cantidad de grupos fenólicos y mediadores redox inmovilizados en las fibras de carbón activado bajo estudio.....	39
Figura 17. Cinética de capacidad de transferencia de electrones para los mediadores redox solubles (riboflavina, AQS, AQDS y lawsona)...	41
Figura 18. Cinética de capacidad de transferencia de electrones para los materiales carbonáceos (fibra simple, FM50-k y doble).....	42
Figura 19. Cinética de capacidad de transferencia de electrones para los materiales carbonáceos modificados con AQS.....	43
Figura 20. Cinética de capacidad de transferencia de electrones para fibras de carbón activado modificados con AQDS.....	44
Figura 21. Cinética de capacidad de transferencia de electrones para las fibras de carbón activado oxidadas con HNO ₃	45
Figura 22. Curvas de polarización y potencia de la fibra FM50-K cruda (A) y modificada (B).....	47

Lista de tablas

Tabla 1. Potencial estándar E° y teórico E para la reducción de acetato en una celda de combustible microbiano en condiciones típicas.....	6
Tabla 2. Descripción de las diferentes estructuras que pueden presentar los materiales carbonáceos.....	8
Tabla 3. Técnicas empleadas para la caracterización de materiales carbonáceos.....	9
Tabla 4. Especies de bacterias capaces de transferir electrones según su metabolismo.....	12
Tabla 5. Componentes y cantidades para la elaboración del medio NBAF.....	21
Tabla 6. Pérdida de la integridad física de los materiales carbonáceos.....	34
Tabla 7. Resistencias utilizadas y voltajes registrados para el material carbonáceo crudo (A) y modificado (B).....	46

1. Introducción

En la actualidad existe un gran desarrollo tecnológico que ha facilitado cada vez más la vida del hombre, pero también se ha dado un aumento de la población de manera importante. A la par con estos hechos ha ido aumentando la demanda energética para satisfacer las necesidades que permiten este desarrollo, y como consecuencia se han explotado recursos no renovables altamente contaminantes. Esto ha traído como resultado la búsqueda de nuevas fuentes de energía que sean sustentables o renovables, además de ser amigables con el medio ambiente. Tal es el caso de la energía eólica, que usando la energía mecánica obtenida gracias al viento es posible generar energía eléctrica. La energía hidráulica, que también se transforma la energía mecánica en electricidad utilizando las corrientes de ríos, mareas y presas. La generación de energía a partir de luz obtenida del sol, usando celdas que catalicen la producción de electricidad. También los sistemas bioelectroquímicos se pueden utilizar como energía alternativa como las celdas de combustible microbiano que utiliza el metabolismo celular para la generación de energía. Como estos, existen más fuentes de energías que se pueden utilizar para satisfacer la demanda y aminorar el impacto ambiental.

1.1 Sistemas bioelectroquímicos

La electroquímica es una ciencia que estudia el proceso que involucra la transferencia de electrones entre las especies participantes, esto se relaciona con las reacciones químicas de oxido-reducción (redox).

Una tecnología emergente que involucra procesos redox son los sistemas bioelectroquímicos, y con ella el uso de celdas donde se cataliza la generación de energía ya sea en forma de hidrogeno como combustible en celdas de electrolisis microbiana (CEM) o la generación de electricidad en una celda de combustible microbiana (CCM). Con ayuda de estos sistemas se puede tratar aguas residuales y aprovechar la energía generada por el metabolismo de microorganismos que es transferida al ánodo (polo negativo) y desplazados por un material conductor al cátodo (polo positivo), y con este proceso llevar a cabo la generación de energía. Entender el funcionamiento y la construcción de las celdas requiere de un amplio conocimiento multidisciplinario ya que trabaja basándose en los campos de las ciencias y la ingeniería, como la microbiología, la electroquímica, química de los materiales, entre otras (Logan y colaboradores, 2006).

Las celdas constan de dos cámaras (Figura1), la anódica donde los microorganismos transfieren los electrones obtenidos de compuestos orgánicos utilizados como sustrato, y la cámara catódica, en donde se reciben los electrones provenientes del ánodo y pueden ser usados para catalizar la formación de un producto; además pueden o no poseer una membrana para el transporte de diversos productos de una cámara a otra. Siendo el electrodo (ánodo y cátodo) uno de los componentes clave para definir el rendimiento de los sistemas bioelectroquímicos (Rabaey y colaboradores, 2005).

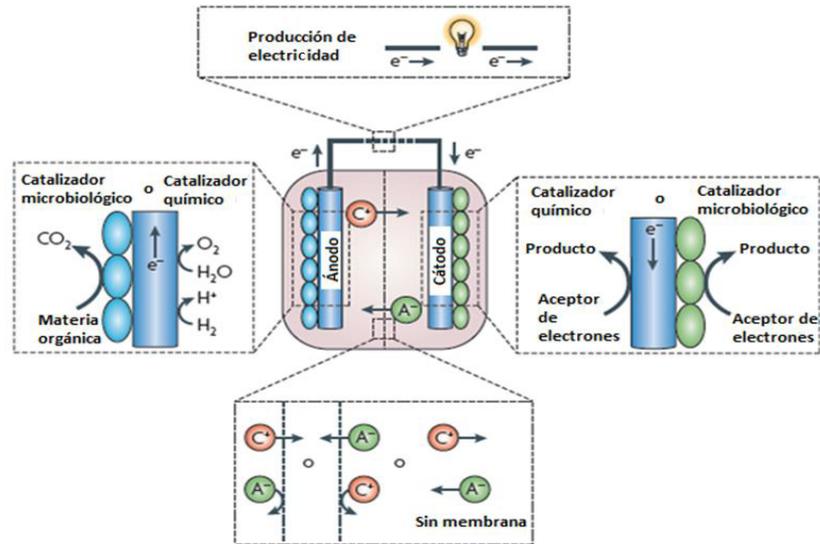


Figura 1. Ilustración de un sistema bioelectroquímico (Rabaey y Rozendal, 2010).

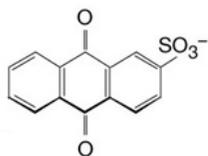
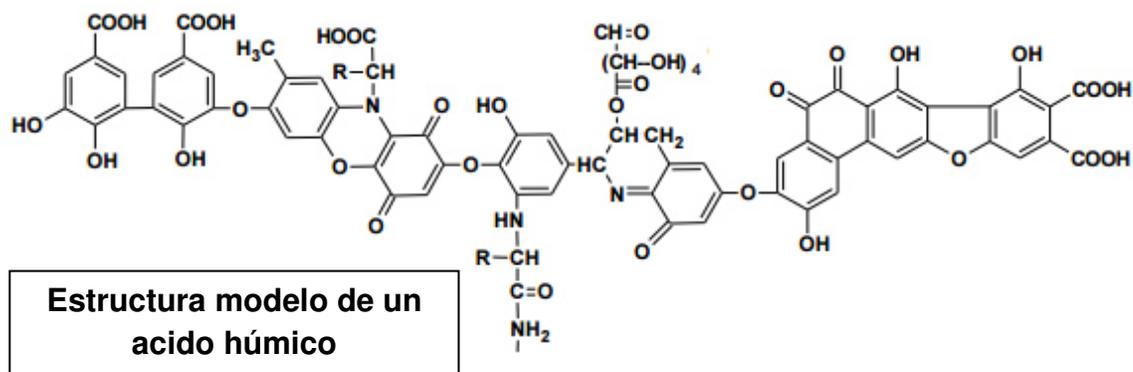
1.2 Microorganismos exoelectrogénicos

En los primeros años de vida del planeta la atmósfera estaba ausente de oxígeno, por lo que se cree que la vida inició con microorganismos adaptados para el ambiente existente, los cuales fueron desarrollando la capacidad de utilizar distintos tipos de compuestos para apoyar su metabolismo en condiciones anóxicas. Los microorganismos capaces de transferir los electrones generados en su metabolismo a compuestos exógenos son conocidos como exoelectrogénicos. Estos son capaces de transferir los electrones a compuestos solubles (como quinonas y sustancias húmicas) y/o a materiales sólidos, tal como los electrodos utilizados en celdas bioelectroquímicas para generar electricidad. Algunos de los microorganismos exoelectrogénicos identificados pertenecen a la familias *Geobacteraceae*, *Shewanella*, *Clostridia* y *Pseudomonas*, y son capaces de utilizar compuestos orgánicos (fumarato,

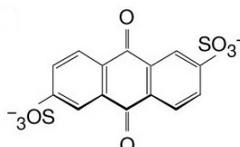
quinonas, materiales carbonáceos) e inorgánicos (Fe, Co, Cr) como último aceptor de electrones, acoplado a la oxidación de una variedad muy amplia de sustratos, incluyendo glucosa, acetato, lactato, y proteínas: así como con aguas residuales domésticas e incluso compuestos más recalcitrantes como puede ser el caso de hidrocarburos provenientes del petróleo, bencenos y compuestos más complejos (Cheng y Logan, 2007; Gregory y colaboradores, 2004).

1.3 Mediadores redox

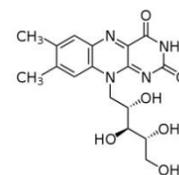
Los mediadores redox son compuestos con la habilidad de aceptar y donar electrones y, de esta manera, modificar la capacidad de transferencia entre un par redox al cambiar la velocidad del proceso. Tanto las sustancias húmicas como las quinonas modelo son compuestos que tienen la capacidad de actuar como mediadores redox. La mayoría de los microorganismos reductores del humus son bacterias y arqueas reductoras del hierro, capaces de aprovechar el potencial de las sustancias húmicas para llevar a cabo su metabolismo y eventualmente ser aprovechado de alguna forma por el hombre en una aplicación biotecnológica. Se ha demostrado que bacterias como *Geobacter spp.* son buenas reductoras del fierro, aumentando la velocidad si están presente las sustancias húmicas o algún otro mediador redox (Figura 2).



Antraquinona-2-sulfonato



Antraquinona-2,6-disulfonato



Riboflavina (vitamina B₁₂)

Figura 2. Estructura de algunos compuestos usados como mediadores redox.

Al ser buenos catalizadores de procesos bioquímicos, los ácidos húmicos y las quinonas modelo son altamente utilizadas como mediadores redox durante la degradación de contaminantes. Sin embargo, por su alta solubilidad tendría que ser agregado continuamente y eso genera un gran costo e impacto ambiental, ya que estos son recalcitrantes (Martinez y colaboradores, 2013).

2. Antecedentes

2.1 Celdas de Combustible Microbiano

Las celdas de combustible microbiano (CCM) son un sistema bioelectroquímico que genera corriente eléctrica utilizando microorganismos, esto mediante el consumo de un sustrato que actúa como donador de electrones. En la cámara anódica se lleva a cabo las reacciones de reducción del ánodo con la oxidación de materia orgánica, y la cámara catódica donde se lleva a cabo la oxidación del cátodo y reducción del oxígeno para producir agua. Las reacciones que se pueden llevar a cabo en estos sistemas son muy variados, dependiendo del compuesto que tome el papel de combustible (en la cámara anódica) esto siendo oxidado para transferirlos electrones hacia el cátodo. Tabla 1

Tabla 1. Potencial estándar E° y teórico E para la reducción de acetato en una celda de combustible microbiano en condiciones típicas (Logan, 2006).

Electrodo	Reacción	E° (V)	Condiciones	E (V)
Ánodo	$\text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $2\text{HCO}_3^- + 9\text{H}^+ + 8\text{e}^-$	0.187	$\text{HCO}_3^- = 5 \text{ mM}$, CH_3COO^- $= 5 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7$	-0.296
Cátodo	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow$ $2\text{H}_2\text{O}$	1.229	$\text{pO}_2 = 0.2$, $\text{pH} = 7$	0.805

Una CCM con ánodo que oxida acetato ($\text{HCO}_3^- = 5 \text{ mM}$, $\text{CH}_3\text{COO}^- = 5 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7$) y un cátodo que reduce oxígeno ($\text{pO}_2 = 0.2$, $\text{pH} = 7$) tienen una E_{fem} ($E_{\text{fem}} = E_{\text{cat}} - E_{\text{an}}$) - 0.296 y 0.805 que es igual a 1.101 V.

*fem: Fuerza electromotriz.

2.2 Electrodo en celdas de combustible microbiano

Para la selección de un buen electrodo se necesita cumplir algunas características esenciales (ya sea para producir electricidad o para generar hidrógeno) como es el tipo de estructura, que influye en la superficie de contacto; la composición, ya sea de algún material carbonáceo o metálico; la estabilidad, como resistencia mecánica y resistencia a la corrosión, además de los costos, son características fundamentales para la selección de estas.

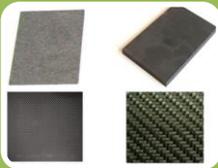
Con lo que respecta al ánodo, particularmente para las reacciones de óxido-reducción de moléculas orgánicas y en reacciones biológicas, los electrodos en base de carbón pueden ser una buena opción debido a su capacidad de conducción, las diversas estructuras que puede presentar, no presenta inhibición para los microorganismos en los procesos biológicos, además de su gran área de contacto y la porosidad del material, éstos puede presentar una alternativa a los electrodos metálicos (McCreery, 2008).

2.2.1 Electrodo de carbón activado

Los materiales carbonáceos que se pueden usar como electrodos provienen de diversas fuentes y pueden presentarse en distintas formas y estructuras de las cuales destacan tres: 1) estructuras planas como placas, hojas de grafito y papel de carbón, que tienen una superficie lisa, sin embargo, su baja área específica y su alto costo, no favorece su aplicación en electrodos a gran escala; la estructura embalada tiene una alta área específica; 2) el carbón activado granular y pequeños cubos de grafito o de fieltro de carbono también

se pueden utilizar como materiales para el embalaje de las celdas microbianas. Y se ha visto que usando carbón activado granular como el electrodo, tenía una densidad de potencia de 2.5 veces más alto que la tela de carbono; 3) el ánodo de cepillo de grafito es un electrodo ideal que logra alta área superficial, alta porosidad, y una eficiente captación de corriente (Tabla 1) (Cheng y Logan, 2007; Wei y colaboradores, 2011).

Tabla 2. Descripción de las diferentes estructuras que pueden presentar los materiales carbonáceos en electrodos para celdas bioelectroquímicas.

<p>Estructura plana</p> 	<p>Superficie relativamente lisa facilitando la medición cuantitativa de la biomasa por unidad de área de superficie.</p>	<p>Jincheng y colaboradores, 2011</p>
<p>Estructura embalada</p> 	<p>Poseen una alta área específica, el grafito granular utilizado en celdas microbianas se estima entre 817 y 2,720 m²/m³.</p>	<p>Rabaey y colaboradores, 2005</p>
<p>Estructura de cepillo</p> 	<p>Un cepillo de 2.5 x 2.5 cm, tenía una superficie de 18,200 m²/m³ y 95% de porosidad.</p>	<p>Logan, 2007</p>

2.2.2 Caracterización de los materiales Carbonáceos

Conocer la superficie de los materiales carbonáceos proporciona una idea de su comportamiento y eficiencia para distintos propósitos, ya sea como material adsorbente, catalizador de reacciones, o soporte para transferencia de electrones. Diversas técnicas se han implementado para conocer las características de estos materiales, desde la determinación del punto isoeléctrico, el punto de carga cero, hasta los grupos funcionales que posea.

Tabla 3. Técnicas empleadas para la caracterización de materiales carbonáceos

Técnica	Determinación
Voltametría	Actividad redox
Potenciometría	Superficie reactiva
Electrocinéticas	Superficie de carga, punto isoeléctrico
Titulaciones ácido-base	Tipo y número de grupos funcionales
Espectroscopia de rayos X	Grupos funcionales

Boehm y su introducción de las titulaciones ácido-base, contribuyó con una de las técnicas para la caracterización superficial cuantitativa de grupos oxigenados (ácidos y básicos) empleada en materiales carbonáceos.

Las titulaciones se basan en equilibrar muestras de carbón en soluciones alcalinas con distintos pKa, usualmente NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, NaOC₂H₂, y también en HCl como solución ácida, posteriormente titulando la solución de reacción con soluciones ácidas y alcalinas estandarizadas se obtiene con NaHCO₃ los grupos carboxílicos; con Na₂CO₃ los grupos carboxílicos y lactónicos; con NaOH los grupos carboxílicos, lactónicos y fenólicos; con NaOC₂H₂ los grupos carboxílicos, lactónicos, fenólicos y carbonilo; y con al HCl se obtienen los grupos básicos totales. Calculando las diferencias podemos obtener la cantidad individual de grupos funcionales presentes en el material (Rios-Hurtado, 2013).

2.2.3 Modificación de carbón activado

En el caso de los sistemas bioelectroquímicos son muy utilizados los electrodos en base de carbón para llevar a cabo la transferencia de electrones. Con la modificación de los materiales Carbonáceos se busca mejorar las características de los mismos para ayudar a algún proceso de interés, como puede ser para favorecer la adsorción de algún compuesto o catalizar alguna reacción. Un ejemplo de ello es con la incorporación de grupos funcionales redox al soporte carbonáceo, como es el caso del rojo neutro soportado en tejido de grafito y utilizando *Shewanella* la densidad máxima de potencia se incrementó de 0.02 a 9.1mW/m² (Feng y colaboradores, 2010). Otro ejemplo es

la incorporación de iones metálicos como el Mn^{4+} en el ánodo y Fe^{3+} en el cátodo, ambos en soportes de grafito donde se aumentó la densidad de potencia en más de 1000 veces (Park y Zeikus, 2003). Además, el tratamiento con gas amoniacado a un electrodo de tela de carbón en conjunto con el uso de un buffer de fosfatos aumentó en un 48% la producción de energía utilizando un inóculo de aguas residuales domésticas, en comparación al mismo sistema sin el buffer ni la modificación. (Eaktasang y colaboradores, 2012). También, la oxidación del material carbonáceo para la activación del mismo es una alternativa para mejorar la producción de energía en los sistemas bioelectroquímicos, fieltro de carbón con ácido sulfúrico y ácido nítrico se logró aumentar la producción de energía en un 40% usando una cepa de *Desulfovibrio desulfuricans* (Álvarez y colaboradores, 2013).

2.3 Microorganismos y los procesos de transferencia de electrones

El descubrimiento de microorganismos electrogénicos revolucionó el uso de los sistemas bioelectroquímicos, antes de éstos, el estudio de transferencia de electrones era dado por el metabolismo fermentativo de distintos tipos de microorganismos como *Proteus* (Kim y colaboradores, 2000), pero esto no significa que sean capaces de usar aceptores extracelulares como por ejemplo el Fe^{3+} para el transporte de electrones. Microorganismos como *E. coli* y distintas levaduras eran usadas en estos sistemas bioelectroquímicos, en donde se obtenían pobres señales de corriente; sin embargo era descartada la

actividad microbiana y estas respuestas fueron atribuidas a la presencia de especies redox activas liberadas después de la lisis celular (Raghuvulu, 2011).

2.3.1 Mecanismos de transferencia de electrones

Existen distintas rutas por las cuales los microorganismos son capaces de transferir electrones a su aceptor final, ya sean aerobios facultativos capaces de producir especies reactivas a partir de fermentación o anaerobios estrictos cuyos metabolismos exigen aceptores de electrones distintos al oxígeno (Tabla 3). Los mecanismos pueden ser por transferencia directa e indirecta.

Tabla 4. Especies de bacterias capaces de transferir electrones según su metabolismo (Rabaey y Verstraete, 2005).

Tipo de metabolismo	Microorganismos	Terminal para el transporte de electrones
Oxidativo	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Sistemas de citocromos c
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sistemas de citocromos c
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	Quinonas
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piocianina
Fermentativo	<i>Clostridium butyricum</i>	Sistema de citocromos
	<i>Enterococcus faecium</i>	desconocido

El proceso de transferencia puede llevarse a cabo en contacto directo con el último aceptor de electrones en los que participa la formación de un

conglomerado de bacterias que transfieren directamente los electrones desde su membrana celular al compuesto a reducir (Melton y colaboradores, 2014). Además algunos microorganismos expresan características particulares que les ayuda para sobrevivir en el ambiente en que se encuentran, tal es el caso de las estructuras proteicas llamadas pilis, que sirven para mantener una comunicación con las células circundantes, además de poder interactuar con elementos potencialmente benéficos para los microorganismos, pueden ser usados como puente para el transporte de electrones, especialmente para compuestos insolubles (Gorby y Beveridge 2005). Tal es el caso de las especies de *Geobacter* y *Shewanella*, que son microorganismos capaces de reducir el Fe^{3+} con ayuda de los pilis, con los que entran en contacto directo con el material y llevan a cabo la transferencia de electrones reduciendo el Fe^{3+} a Fe^{2+} . En el caso de *Geobacter*, los electrones obtenidos del metabolismo viajan hacia la cadena respiratoria donde están involucradas algunas enzimas como la NADH deshidrogenasa y mediadores redox como la menaquinona, además de algunos citocromos (MacA, PpcA, OmcB, OmcE, OMcS) que conducen los electrones hacia el pili y de éste a Fe^{3+} (Lovley, 2006) (Figura 3).

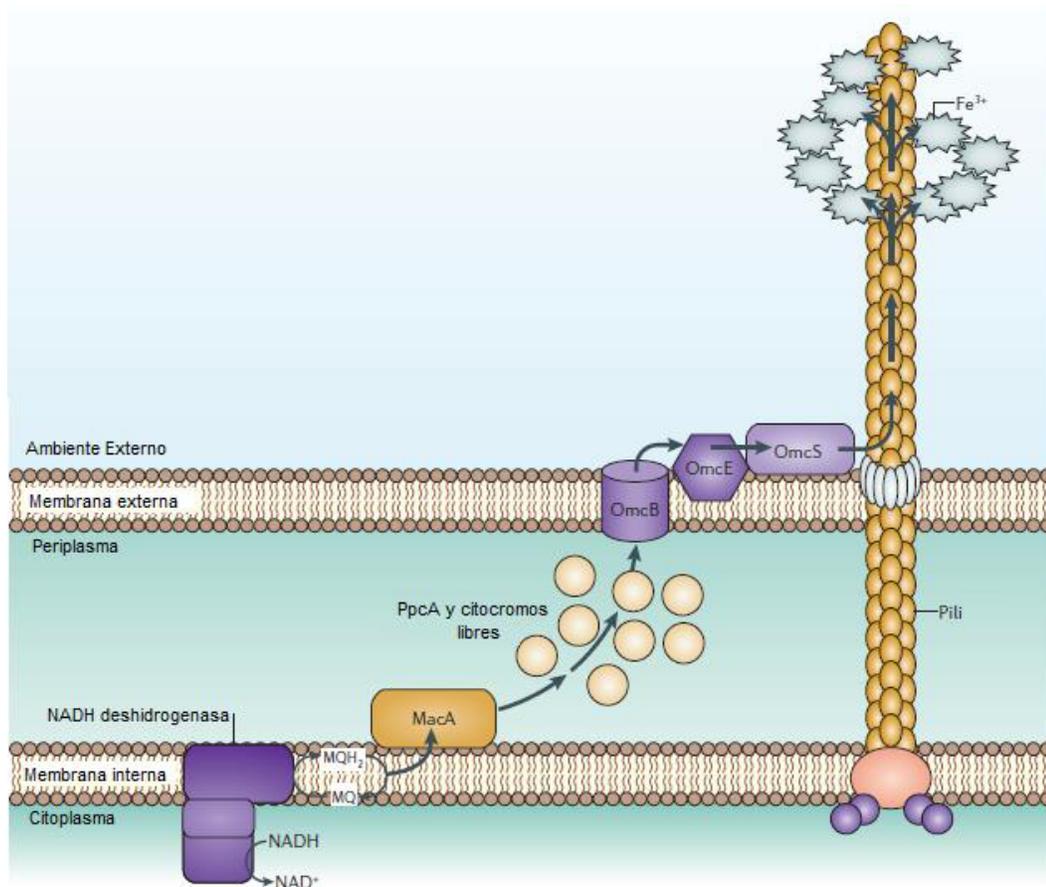


Figura 3. Propuesta de mecanismos de transferencia de *Geobacter sulfurreducens* para la reducción de Fe^{3+} . (Lovley, 2006)

La transferencia indirecta de electrones puede darse en el metabolismo oxidativo y fermentativo de los microorganismos, ya sea usando los metabolitos excretados al medio con potencial reductor o compuestos capaces de recibir y donar electrones, así llevar a cabo el proceso de transferencia de electrones.

En el metabolismo oxidativo tenemos al género *Pseudomonas* que son microorganismos anaerobios facultativos con la propiedad de producir un compuesto llamado piocianina, la cual es una molécula que puede ser usada como transportadora de electrones, haciendo factible el uso de este género de

microorganismos en sistemas bioelectroquímicos (Rabaey y colaboradores, 2005). Tanto el género *Geobacter* como *Shewanella* además de ser capaces de usar pilis para el proceso de transferencia, también pueden usar moléculas transportadoras de electrones conocidas como mediadores redox, se ha reportado que ambos microorganismos pueden utilizar ácidos húmicos además de quinonas (Antraquinona 2,6-disulfonato y naftoquinona) como aceptor de electrones (Hernández-Montoya y colaboradores, 2012; Newman y Kolter, 2000).

2.4 Mediadores redox en los procesos de transferencia de electrones

Los mediadores redox son sustancias capaces de acelerar la transferencia de electrones al servir como catalizadores para las reacciones de oxido-reducción, ya sean estas biológicas o no, siendo la razón por la cual se estudian para poder implementarlas en sistemas como pueden ser las celdas bioelectroquímicas. Compuestos como los ácidos húmicos, fúlvicos e incluso quinonas modelos, son implementados en procesos biológicos para aprovechar su capacidad de catalizador y llevar a cabo la biotransformación de contaminantes o incluso la generación de energía.

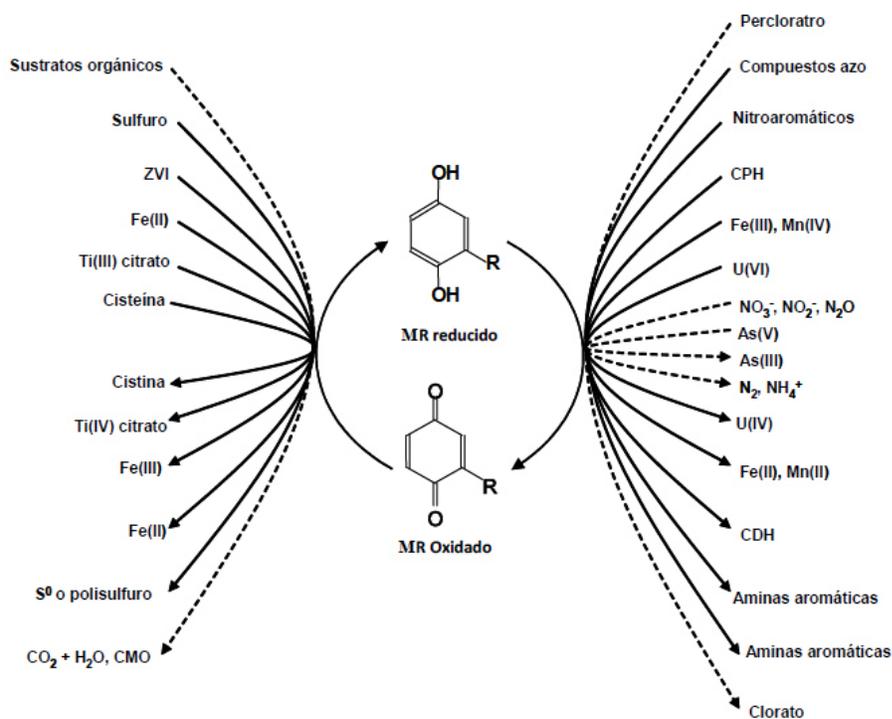


Figura 4. Mecanismo de transformación de distintas especies y compuestos catalizados por una quinona modelo como mediador redox (MR). Compuestos más oxidados (CMO), compuestos polihalogenados (CPH), compuestos deshalogenados (CDH) (Álvarez y colaboradores, 2013).

La inmovilización de un grupo quinona como la antraquinona 2,6-disulfonato (AQDS) logro aumentar la capacidad de decoloración de azul directo 71, naranja de metilo y negro ericromo en un reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, por sus siglas en ingles) de un 76.5%, 70.1% y 80.3% sin mediador a un 86.7%, 81.4% y 86.7%, respectivamente con lodo activado anaerobio (Cervantes y colaboradores, 2011). En la degradación de hidrocarburos, específicamente benceno y fenantreno, en una celda bioelectroquímica donde se probaron distintas condiciones para la biotransformación y obtención de energía, se utilizaron dos mediadores redox,

la antraquinona 2 sulfonato (AQS) y la riboflavina, en donde no hubo una mayor biotransformación de estos compuestos, sin embargo aumentó la densidad de poder máxima, y la eficiencia Coulombica 1.14 y 1.18 veces respectivamente con AQS y 55.6 y 3.27 veces con riboflavina, utilizando un lodo anaerobio (Adelaja y colaboradores, 2015).

3. Hipótesis

Los materiales carbonáceos modificados químicamente mejoran la capacidad de transferencia de electrones (CTE) en comparación al material no modificado lo cual potencializa su uso como electrodo en celdas bioelectroquímicas.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Evaluar distintos tipos de MC modificados químicamente (oxidación e inmovilización de MR) para potenciar su uso como electrodos en celdas bioelectroquímicas.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar cuantitativamente los grupos funcionales en los MC por titulaciones potenciométricas.
- Modificar químicamente la superficie de los MC mediante oxidación e inmovilización de MR.
- Evaluar la CTE microbiológica en los MC, MR y MC modificados.
- Evaluar el MC con mejores características (como soporte y catalizador) en un sistema bioelectroquímico.

5. Metodología

La parte experimental de la caracterización, modificación y evaluación de capacidad de transferencia de electrones se llevó a cabo en el laboratorio de Ciencias Ambientales del Centro de Laboratorios Especializados de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL y la evaluación del sistema bioelectroquímico en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, en el Instituto de Ingeniería de la UNAM.

5.1 Materiales y mediadores

Los materiales a evaluar son tres telas de carbón activado de la marca Zorflex, de Charcoal house: Single weave (Simple), Doble weave (Doble) y Knit FM50k (FM50-k). Estos serán evaluados y descartados según las características que expongan ante las pruebas descritas en este estudio (Figura 5).



Figura 5. Fotografías tomadas con estereoscopio de los distintos materiales carbonáceos

Los compuestos a utilizar y probar como mediadores redox serán la antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS), antraquinona-2-sulfonato, la riboflavina (vitamina B₂) y lawsona, las cuales se cribaran de acuerdo a su efecto y características fisicoquímicas (Figura 6).

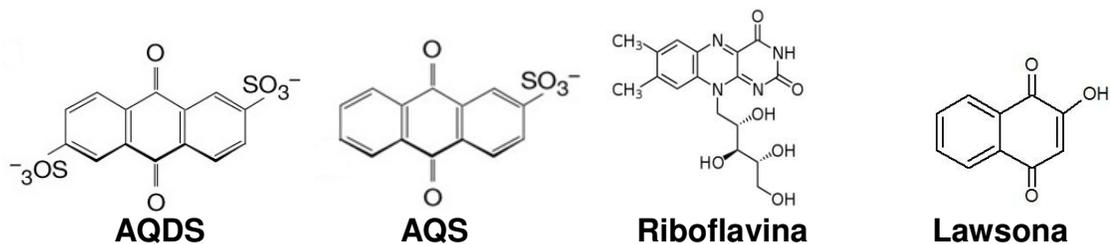


Figura 6. Estructura de los mediadores redox a utilizar.

5.2 *Geobacter sulfurreducens*

Se utilizara una cepa de *Geobacter sulfurreducens* que se obtuvo del Laboratorio de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, el cual es un microorganismo anaerobio estricto, no fermentador, no móvil, bacilo gram-negativo poseedor de pilis, que puede oxidar el acetato con Fe (III), Co (III), fumarato o malato como aceptores de electrones.

5.2.1 Medio NBAF y cultivo

El medio de cultivo utilizado es un medio químicamente conocido adaptado a condiciones anaerobias, esto cambiando la atmósfera con N₂/CO₂ (80:20), y enriquecido con extracto de levadura al 5% y cisteína al 1.1% que se agregan junto con el inóculo a la hora de la resiembra.

Tabla 5. Componentes y cantidades para la elaboración del medio NBAF

Componente	Cantidad
Agua destilada	800 ml
Fumarato de sodio 1M	40 ml
Solución de minerales	10 ml
Solución NB mix	10 ml
Vitaminas	15 ml
Na₂SeO₃ 1mM	1 ml
Resazurina 1%	0.5 ml
CaCl₂·H₂O	0.045 g
MgSO₄·7H₂O	0.1 g
NaHCO₃	1.8 g
Na₂CO₃·H₂O	0.585 g
Acetato de sodio	2.04 g

5.2.2 Inoculo de *Geobacter sulfurreducens* para la cinética

Se prepara el medio de cinética el cual es el medio de crecimiento pero omitiendo algunos componentes que son aceptores finales de electrones como la cisteína, el extracto de levadura, la resazurina, solución de vitaminas y el fumarato.

Se incuba un frasco serológico con 10 mL de cultivo para crecimiento por 48 h, posteriormente este frasco se transfiere en uno con un volumen final de 90 mL de medio de cultivo de crecimiento y se incuba durante 24 horas, al término del

período de incubación se lleva a cabo el cambio de medio sin aceptores finales y ajuste de densidad óptica, esto centrifugando a 4500 rpm por 8min, decantando el medio de cultivo y resuspendiendo en medio de cinética y diluyendo el cultivo hasta alcanzar una densidad óptica de 0.120.

5.3 Caracterización de materiales carbonáceos

5.3.1 Micrografías

Se prepara alrededor de 2 cm de cada tela, se lleva a una estufa a 80°C por 12 horas para eliminar la humedad, se coloca en un contenedor con silica como desecador, luego se toma una muestra representativa y se bañan con oro para después llevar al microscopio.

5.3.2 Capacidad de transferencia de electrones (CTE)

Preparación del medio de prueba para la reducción de los MC con *G. sulfurreducens*, se coloca 30 mg (1g/L) de MC en cada frasco serológico con 27 mL del medio de cinética (cada MC por triplicado), se prepara el inóculo de acuerdo al punto 5.2.2 y se colocan 3 mL para que la densidad óptica sea de 0.012 en un volumen final de 30 mL, se incuba a 37°C a 150 rpm por una semana, al finalizar se agregan 15 mL de citrato férrico 20 mM, se deja reaccionar por 30 min y se agregan 15 ml de HCl al 0.5 N y se lleva a cabo la medición para determinar la capacidad de transferencia utilizando el método de la ferrozina (Hernandez y colaboradores, 2012), que consiste en cuantificación

del Fe²⁺ producido por la reducción del citrato férrico, mostrando indirectamente la cantidad de electrones transferidos. (Figura 7)

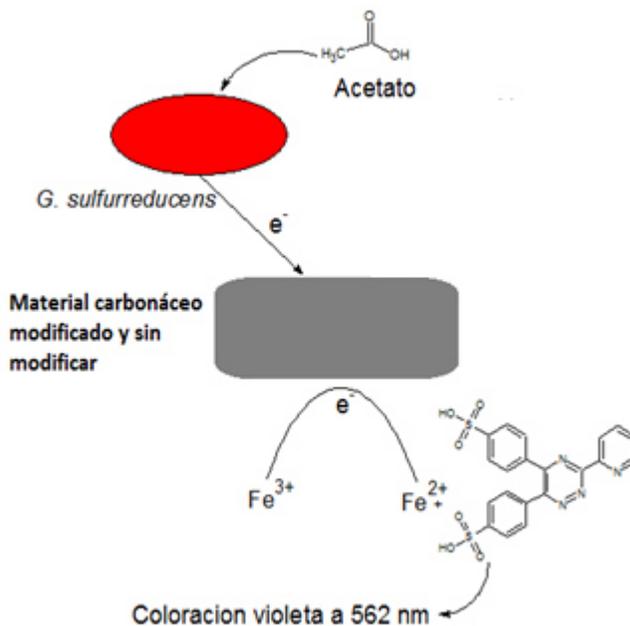


Figura 7. Ilustración de la determinación de la CTE aplicando el método de la ferrozina

5.3.3 Titulaciones Boehm

Se preparan las soluciones de reacción, HCl, NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃ y C₂H₅ONa, todas a una concentración de 0.1 N, se pesan 200 mg de cada material carbonáceo y se colocan en tubos de plástico de 50 mL con 25 mL de cada una de las soluciones (se hace por triplicado). Se coloca a temperatura constante y en agitación (37°C a 150 rpm) por dos días. Se determinan los grupos ácidos y básicos por una titulación ácido-base potenciométrica.

5.4 Pérdida de la integridad física.

Se colocan en botellas serológica 20 mL de agua destilada y 40 mg de cada material carbonáceo, se agitan a 150 rpm durante 24 horas. Posteriormente se retira el agua y se recupera el material carbonáceo, posteriormente se observa si mantiene su forma y se lleva a cabo un lavado con agua destilada, posteriormente se seca la porción íntegra del material a 100°C por 2 horas y se determina la pérdida de peso.

5.5 Modificación de materiales carbonáceos

La modificación se lleva a cabo con una solución ácida y un catalizador metálico, y por medio de una digestión ácida, con esto promover el intercambio de grupos funcionales y la oxidación superficial de los materiales carbonáceos.

5.5.1 Inmovilización de Mediadores redox

Se lleva a cabo la cloración preparando una solución de reacción con $ZnCl_2$ al 26% en HCl concentrado, y se colocan 3 g del material carbonáceo por cada 100 ml de solución. Se deja reaccionar por 48 horas con agitación ocasional. Al término del período de reacción, se llevan a cabo una serie de lavados con 30 mL de HCl concentrado, repitiendo 3 veces este procedimiento.

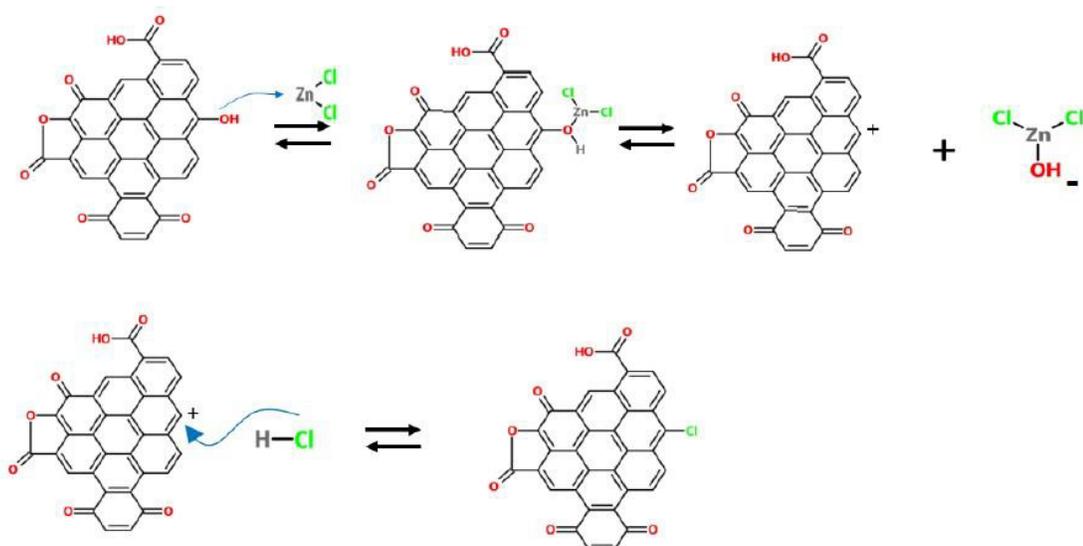


Figura 8. Mecanismo de cloración de material carbonáceo (Olivo, 2015).

Para las isotermas se preparan distintas soluciones del mediador (AQS y AQDS) en concentración de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 ppm y se toma lectura en el espectrofotómetro a 330 nm, se toman 30 mL de cada solución y se colocan en un tubo de 50 mL, se pesa 30 mg de cada material carbonáceo y se coloca en cada tubo (todo triplicado), luego se colocan en la incubadora a 37°C a 150 rpm durante 48 horas. Al término se saca una muestra de cada tubo y se lee en espectrofotómetro a 330nm.

Para determinar la capacidad de adsorción del material carbonáceo se utiliza la siguiente ecuación:

$$Q_e = \frac{V(C_0 - C_{eq})}{W} \quad \text{Ecuación 1}$$

dónde:

Q_e : Es la capacidad de adsorción en mg/g .

V : El volumen de la solución.

C_0 : Concentración inicial

C_{eq} : Concentración en el equilibrio

W : Masa del material carbonáceo

El material resultante de la inmovilización se pesa y coloca en 30 mL de medio de cinética, se lleva a la incubadora a 37°C a 150 rpm durante 24 horas, posterior a esto se toma una muestra del medio y se lee la absorbancia para determinar la presencia de mediador. Este procedimiento se repite hasta no detectar lectura.

Para determinar la cantidad de mediador presente después del lavado se utiliza la siguiente ecuación:

$$Q_d = Q_e - \left(\frac{M \cdot V}{W} \right) \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

Q_d : La capacidad de adsorción después del lavado

M : La concentración del mediador redox desorbido

Se secan a 60°C durante 12 horas y se guardan en bolsas con cierre hermético.

5.5.2 Modificación con HNO₃

Se prepara una solución de HNO₃ al 50%, se pesan 4 g del material carbonáceo a modificar y se transfiere a un matraz bola de tres bocas, se coloca en una manta de calentamiento y se monta el equipo de reflujo, se vierte el HNO₃ y se digiere durante 4 horas a una temperatura de 80°C.

Posterior a esto se llevan a cabo 8 lavados con 50 mL de agua desionizada, se secan en una estufa aireada a 100 °C y se guardan en bolsas con cierre hermético sacando la mayor cantidad de aire.

5.6 Cinéticas de transferencia de electrones

5.6.1 Mediadores redox

Con medio de cinética se preparan las distintas soluciones de prueba para cada mediador (AQS, AQDS, Riboflavina y lawsona) para una concentración final de 100 µM y citrato férrico 20 mM. Se colocan 18 mL de medio (por triplicado para cada mediador) se acondiciona (se burbujea con N₂/CO₂ y esteriliza) y se inoculan 2 ml de *G. sulfurreducens*, se toma la primera muestra y se determina la capacidad con la prueba de ferrozina. Se incuba a 37°C a 150 rpm y se toma muestra cada 3 horas para proceder con la prueba de la ferrozina.

5.6.2 Fibras de carbón

Se prepara medio de cinética con 20 mM de citrato férrico en el volumen final. Se colocan 40 mg de cada fibra (cruda y modificada por triplicado) en un frasco serológico de 60 mL, se colocan 18 mL de medio y se inoculan 2 mL de *G. sulfurreducens*, y se procede como en el punto 5.5.1

5.7 Evaluación del material carbonáceo en una celda de combustible microbiano

La evaluación del material en el sistema bioelectroquímico se llevó a cabo en una celda con cámara anódica anaerobia y catódica aerobia de 500 mL cada una.

La prueba se llevo a cabo con lodo anaerobio como biocatalizador del proceso. Como ánolito se utilizó medio de cultivo, el cual fue acondicionado para mantener la anaerobiosis y de católito se usó buffer de fosfatos a 50mM (450 mL de ambos).

En la cámara anódica se colocó 4.5 x 4.5 cm del material carbonáceo como electrodo y espuma de níquel en la cámara catódica.

Se incubo durante 3 semanas, cambiando el medio y el buffer cada 4 días, posteriormente se procedió a llevar a cabo las curvas de polarización y de potencia.

6. Resultados y discusiones

6.1 Caracterización de materiales carbonáceos crudos

6.1.1 Micrografías

Observamos la textura, la diferencia estructural, la forma del tejido y morfología de los diversos materiales carbonáceos. (Figura 9)

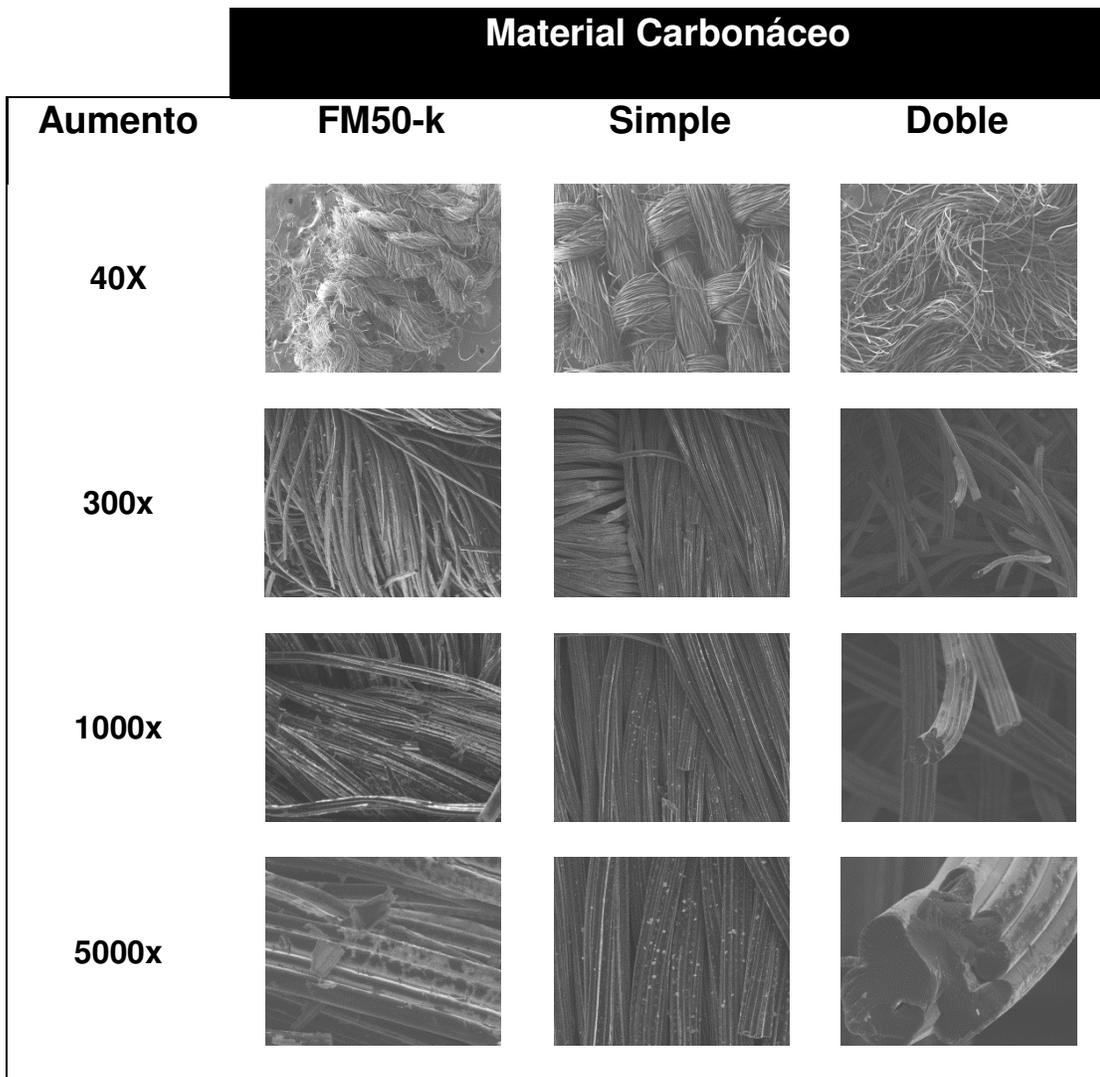


Figura 9. Micrografías de los materiales carbonáceos a distintas magnitudes de aumentos.

En las micrografías podemos observar que el tipo de tejido de la tela FM50-k es la más compacta y ordenada, seguido por la tela Simple, y por último la Doble que es muy desordenando y con un área superficial externa más expuesta. Esta característica puede ser de ayuda, puesto más expuesta este la superficie del material carbonaceo, puede favorecer la CTE.

6.1.2 Capacidad de transferencia de electrones (CTE)

La capacidad de transferencia fue evaluada por el método de la ferrozina para los tres materiales carbonáceos después del periodo de incubación de 7 días.

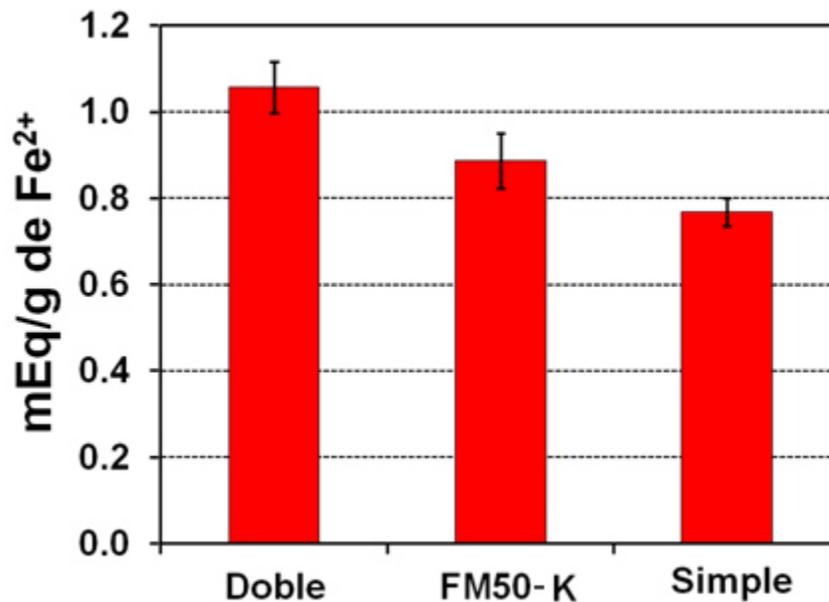


Figura 10. Evaluación de la CTE de los diferentes materiales carbonáceos por *G. sulfurredecens*.

Se puede observar en la Figura 10 que la tela doble tiene la mayor capacidad con 1.08 mEq/g, seguida por la FM50-k con 0.89mEq/g y la Simple con 0.78 mEq/g, esto puede ser debido a la diferencia de grupos funcionales presentes

en la superficie de las telas y también el tipo de tejido, comparando la capacidad de transferencia del carbón activado granular que es de 0.199 mEq/g (Del Ángel, 2015) las fibras tienen un mejor desempeño multiplicando en varias veces la capacidad de carbón granular.

6.1.3 Titulación Boehm

La caracterización muestra que entre los materiales crudos existen diferentes cantidades de los grupos presentes en sus superficies. Los grupos funcionales de principal interés son los grupos cuya estructura presente hidroxilos (-OH), ya que están directamente involucrados en la inmovilización de los mediadores redox (Olivo, 2015); además de los grupos quinona, por ser los principales responsables en los procesos de transferencia de electrones. La Figura 11 muestra el resultado de las titulaciones Boehm de los materiales evaluados, podemos observar la cantidad de grupos carboxílicos, lactónicos, quinona y fenólicos, además de los grupos ácidos y básicos totales. La tela FM50-k contiene 1.726 mEq/g de ácidos totales, 0.199 mEq/g de carboxílicos, 0.295 mEq/g de lactónicos, 0.313 mEq/g de quinona, 1.143 mEq/g fenólicos, y 0.056 mEq/g de grupos básicos; la tela Simple muestra 1.037 mEq/g de ácidos totales, 0.534 mEq/g de carboxílicos, 0.049 mEq/g de lactónicos, 0.264 mEq/g de quinona, 0.453 mEq/g de fenólicos y 0.327 de grupos básicos; la tela Doble tiene 1.234 mEq/g de ácidos totales, 0.248 mEq/g de carboxílicos, 0.394 de lactónicos, 0.493 mEq/g de quinona, 0.591 mEq/g de fenólicos y 0.372 de básicos. En el 201boe3 Amezquita y colaboradores [24], llevaron a cabo una

caracterización de una tela de carbón activado comercial de poliacrilonitrilo de KoHTmex donde determinó los grupos funcionales obteniendo grupos carboxílicos con 0.16 mEq/g, lactónicos con 0.74 mEq/g, fenólicos con 0.223 mEq/g, carbonilos (quinona) con 0.775 mEq/g, ácidos totales con 1.9 mEq/g y básicos totales con 0.109 mEq/g., la cual presenta distinta densidad de grupos en comparación con las fibras evaluadas en este trabajo siendo característico de cada fibra en particular.

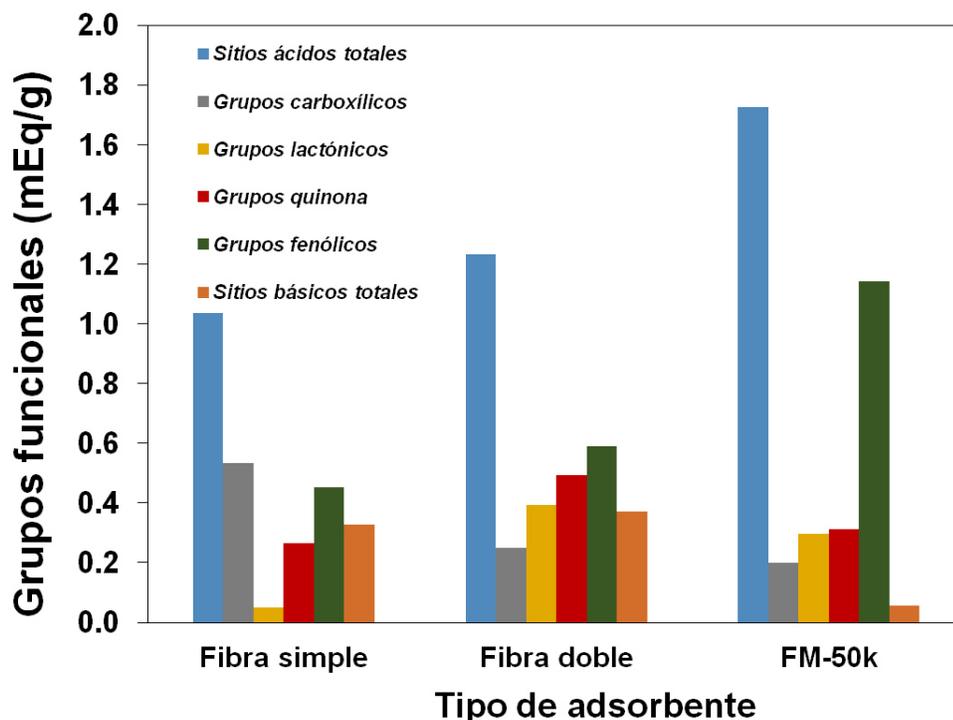


Figura 11. Determinación de grupos funcionales de los distintos materiales carbonáceos.

Tomando en cuenta la cantidad de grupos quinona presentes en cada material carbonáceo y presentando al mismo tiempo su CTE podemos observar que hay

una relación, mientras mayor sea la cantidad de grupos quinona, mayor es la CTE de cada material (Figura 12).

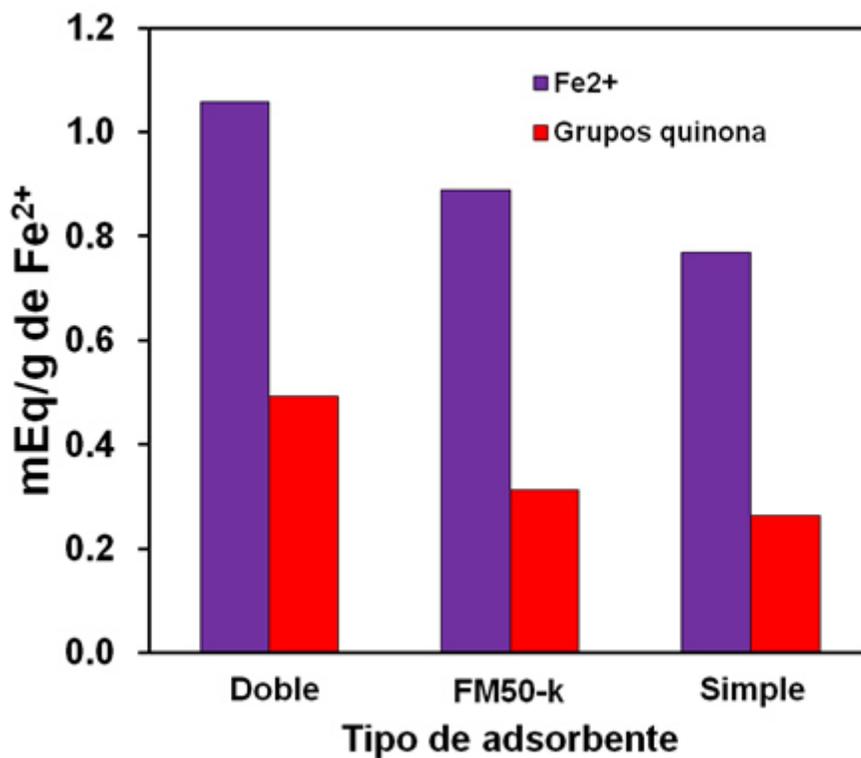


Figura 12. Ilustración de la relación que existe entre la cantidad la CTE y la cantidad de grupos quinonas.

6.1.4 Pérdida de la integridad física.

Se colocaron los materiales en frascos serológicos y en agitación constante, los datos de la prueba se colocan en la Tabla 6.

Tabla 6. Pérdida de la integridad física de los materiales carbonáceos.

Material Carbonáceo	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Pérdida (mg)
FM50-k	20.1	18.9	1.2
Simple	20.5	17.4	3.1
Doble	20	-	-

Después de las 24 horas de agitación hubo desprendimiento de telas en cada uno de los materiales evaluados, donde la tela FM50-k tiene más resistencia mecánica que los otros materiales, conservando su forma y teniendo una pérdida en peso del alrededor del 6%; la Simple mantuvo su forma también, sin embargo presentó una pérdida de peso mayor de alrededor del 15%; la Doble no fue capaz de mantener su forma por lo que su resistencia mecánica es demasiado baja (Figura 13).

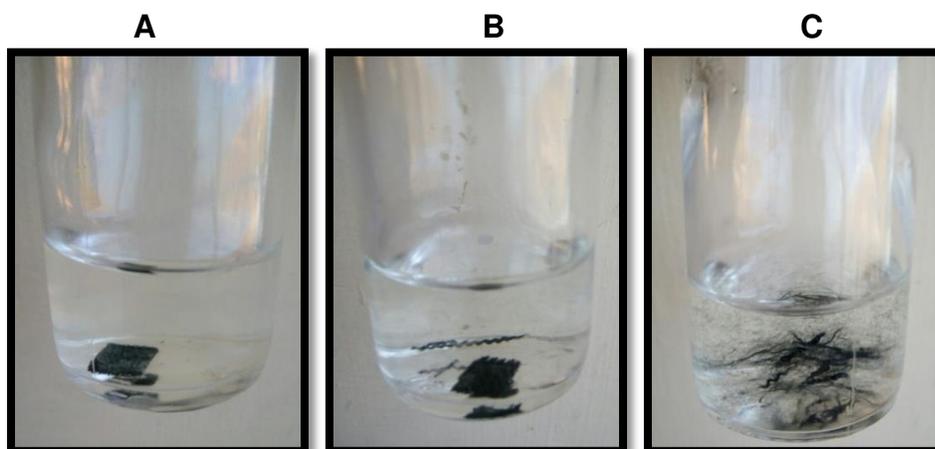


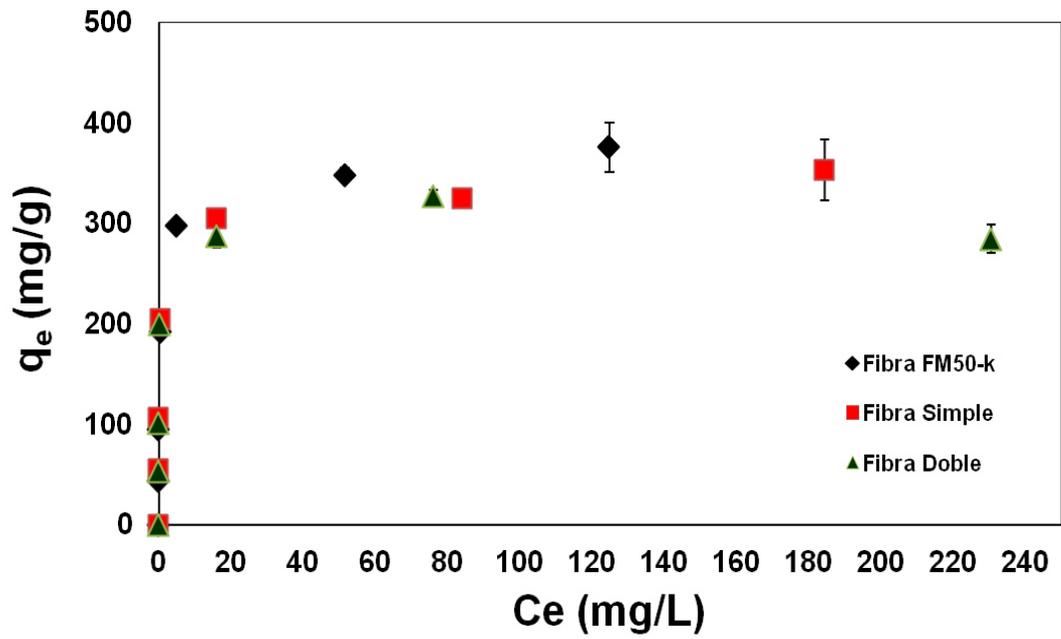
Figura 13. Fotografías de las Fibras después de las 24 horas de agitación, A) Fibra FM50-k, B) Fibra Simple, C) Fibra Doble

6.2 Modificación de materiales carbonáceos

Una modificación fue la inmovilización, llevándose a cabo una cloración y luego isotermas de adsorción para poder inmovilizar los mediadores redox, después se llevaron a cabo lavados para medir la desorción del mediador en los materiales modificados. En este punto tanto la riboflavina como la lawsona representaron un problema, puesto que no era posible llevar a cabo la inmovilización ya que la solubilidad de estos compuestos durante las isotermas no era favorecida en el pH utilizado durante el proceso. Ambos compuestos son solubles en agua en soluciones alcalinas, problema que representa en la técnica de inmovilización por la sustitución de los grupos clorados o inmovilizados con mediador por grupos hidroxilos.

La otra modificación fue la oxidación de cada material carbonaceo llevada a cabo por un método de digestión con ácido.

1



2

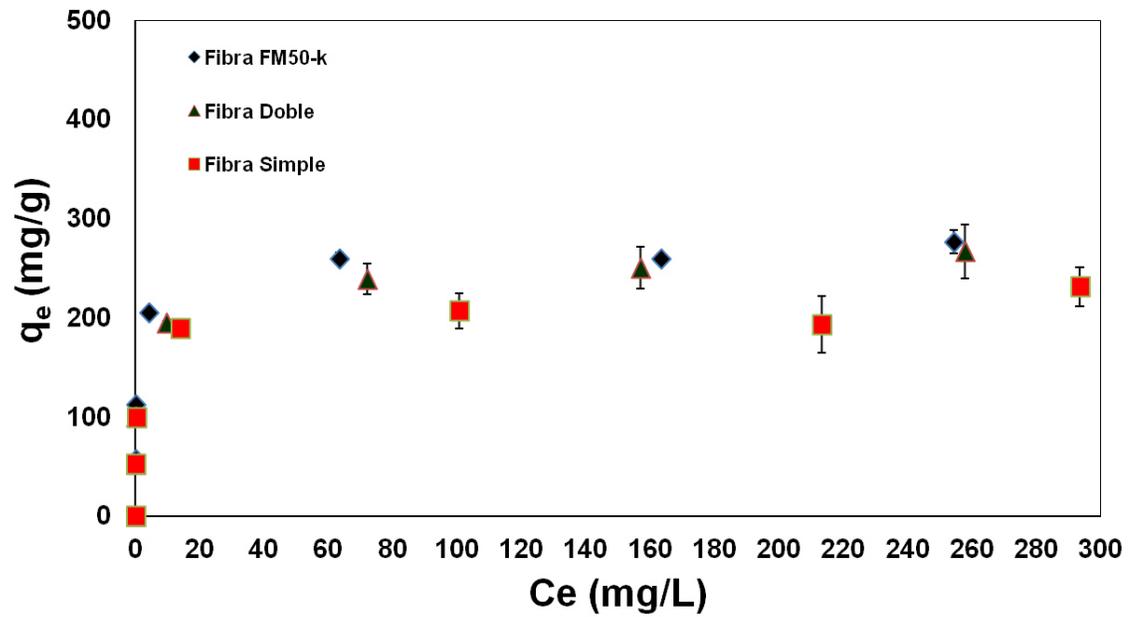


Figura 14. Isothermas de 1) AQS y 2) AQDS en su adsorción en las fibras de carbón activado.

Las isothermas de adsorción nos indican la capacidad de retención del mediador redox (Figura 14). La capacidad máxima de retención de AQS de la tela FM50-k fue de 375.8 mg/g, la Simple 352.9 mg/g y la Doble 283.6 mg/g. En cuanto a la capacidad de adsorción máxima del AQDS, la tela FM50-k mostró 276.7 mg/g, la Simple 231.2 mg/g y la Doble 267 mg/g. Comparando con Del Angel en 2015 quien trabajó con carbón activado granular de origen mineral donde adsorbió 71 mg de AQDS/g de carbón y observando una diferencia notable en cuanto a las fibras de carbón activado. En anteriores trabajos Cervantes y colaboradores en el 2011, determinaron una capacidad de adsorción de hasta 1500mg de AQDS/g de carbón, donde utilizó carbón activado granular, producido a partir de cáscara de coco en un proceso de activación con vapor.

Se hicieron dos lavados a las telas que mostraron llegar al punto de equilibrio y se obtuvieron las cantidades de mediador desorbido. La tela FM50-k mostró una desorción de 38 y 28 mg/g, para la Simple mostró 20 y 13 mg/g AQS y AQDS respectivamente y la Doble muestra 32 mg/g para ambos mediadores.

(Figura 15).

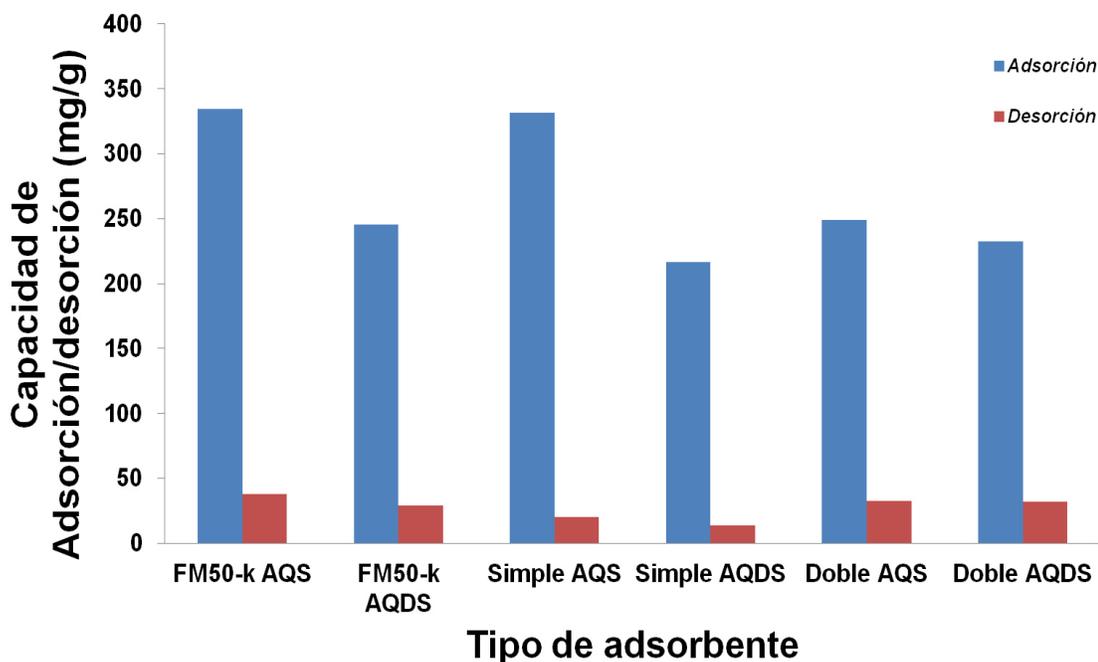


Figura 15. Capacidad de adsorción y desorción (promedios de dos lavados) de los materiales carbonáceos para ambos mediadores redox (AQS y AQDS).

Se puede observar una relación entre los grupos hidroxilos (carboxílicos y fenólicos) y la cantidad de mediador inmovilizado en los distintos materiales carbonáceos. Entre mayor cantidad de grupos OH^- presentes en el material crudo, mayor cantidad de mediador puede ser inmovilizado.

(Figura 16)

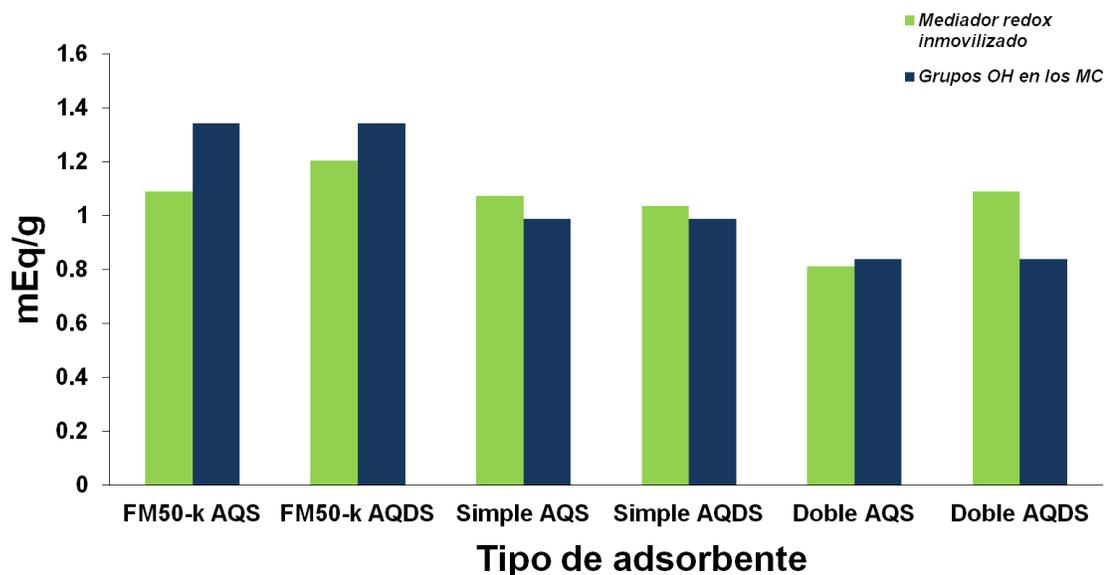


Figura 16. Grupos OH^- presentes en los materiales carbonaceos y mediadores redox inmovilizados en los mismos.

6.3 Cinéticas de transferencia de electrones

En las cinéticas podemos observar la cantidad de electrones transferidos en el tiempo de forma indirecta determinando la cantidad de Fe^{3+} reducido por este proceso. Se llevaron a cabo cinéticas diferentes, determinando la capacidad de los mediadores solubles, los materiales crudos y los materiales modificados (inmovilización u oxidación).

La cinética con los mediadores solubles (Figura 17) nos muestra la cantidad de Fe^{3+} reducido con respecto al tiempo para los mediadores utilizados y como estos son capaces de catalizar la reacción de transferencia. La riboflavina fue el mediador con mayor capacidad de transferencia reduciendo 48.9 veces más

Fe^{+3} que el control sin mediador, seguida por el AQS quien reduce 34.5 veces más que el control, después esta el AQDS actuando 16.9 veces más y por último la Lawsona reduciendo solo 1.5 veces más que el control.

La riboflavina es una vitamina esencial en el crecimiento de los seres vivos, formando parte importante en el proceso metabólico del los mismos al ser precursor de moléculas con el grupo flavin, que presente en la cadena de trasporte de electrones y en una molécula acarreadora de electrones el FAD^{2+} . En 2014 Akihiro y colaboradores, demostraron que el género *Geobacter* es capaz de secretar compuestos con grupos flavin en apoyo a la transferencia de electrones, además del sistema de pilis que poseen. Siendo esta una posible razón del por qué la transferencia de electrones es catalizada en mayor medida por la riboflavina.

Li y colaboradores en el 2014, llevaron a cabo pruebas de capacidad de transferencia de electrones de distintas quinonas, en donde también llevaron a cabo reducción de Fe^{3+} , encontrando que AQS tiene mayor capacidad de transferencia que AQDS, resultado que es comparable con este estudio.

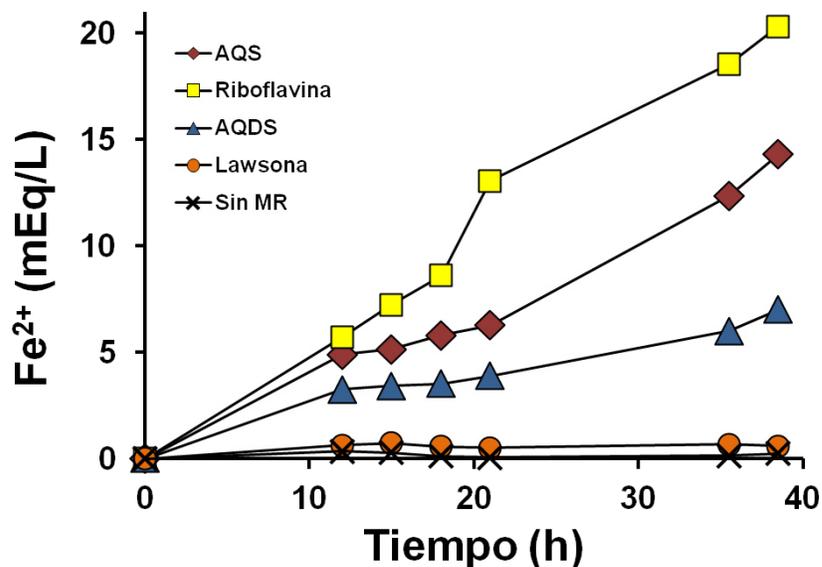


Figura 17. Cinética de CTE para los mediadores redox solubles (Riboflavina, AQS, AQDS y Lawsona).

En cuanto a las cinéticas de CTE de los materiales carbonáceos podemos observar que siguen un comportamiento distinto a la CTE. En donde la tela con mayor CTE fue la Doble, seguida por la FM50-k y la Simple. En el caso (Figura 18) de la cinética la fibra Simple tuvo una mayor CTE teniendo 15.82 veces más reducción que el control positivo, después la FM50-k con 14,87 veces más y por último la Doble con 9.01 veces. También podemos observar que las telas sin *G. sulfurreducens* (agente reductor) no dieron señal de reducción, por lo que se confirma que carecen de capacidad de transferencia endógena.

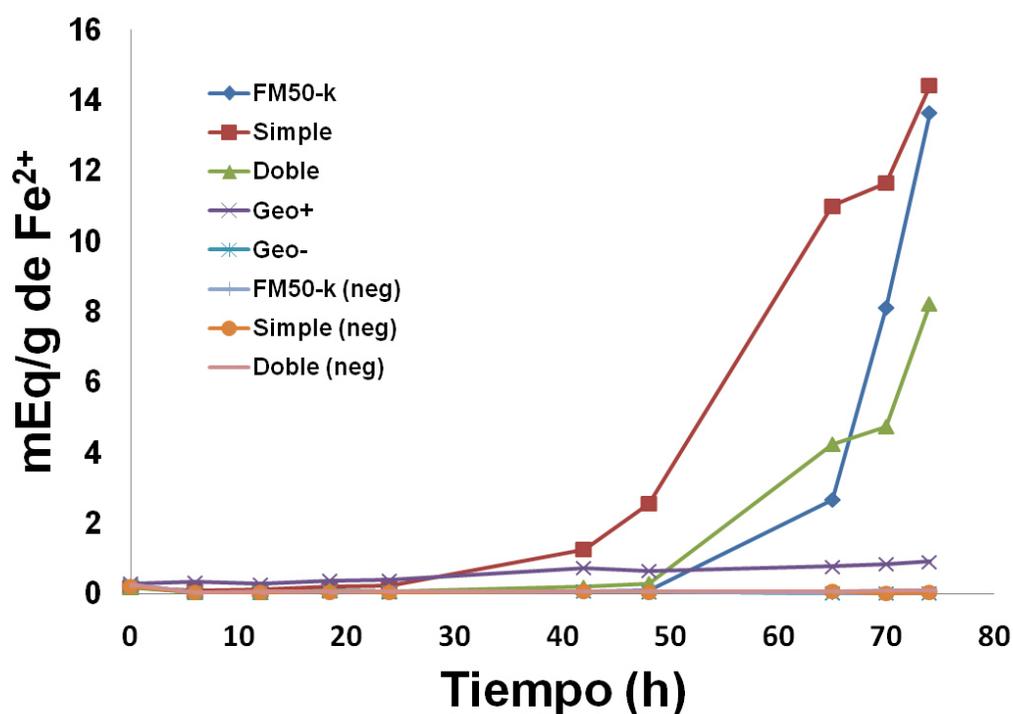


Figura 18. Cinética de CTE para los materiales Carbonáceos (Simple, FM50-k y Doble).

Posterior a la modificación de las fibras (inmovilización y oxidación), también se llevo a cabo una cinética de CTE para evaluarlas y observar su comportamiento.

Con la inmovilización de las quinonas (AQS y AQDS) podemos observa un cambio en las capacidades de las telas en comparación con los materiales crudos. Las telas inmovilizadas con AQS (Figura 19) muestran la influencia que tuvieron los mediadores al estar presentes, reduciendo el tiempo de inicio e incrementando la velocidad del proceso de transferencia, potencio el efecto de la tela Doble de manera marcada siendo la primera en comenzar con el proceso, seguida por la FM50-k quien obtuvo un máximo más alto de mEq/g de Fe^{2+} , sin embargo tardo más en llegar a él, por ultimo quedo la Simple la cual la

quinona tuvo un efecto negativo, alentando el proceso de transferencia y bajando el máximo alcanzado por la fibra cruda.

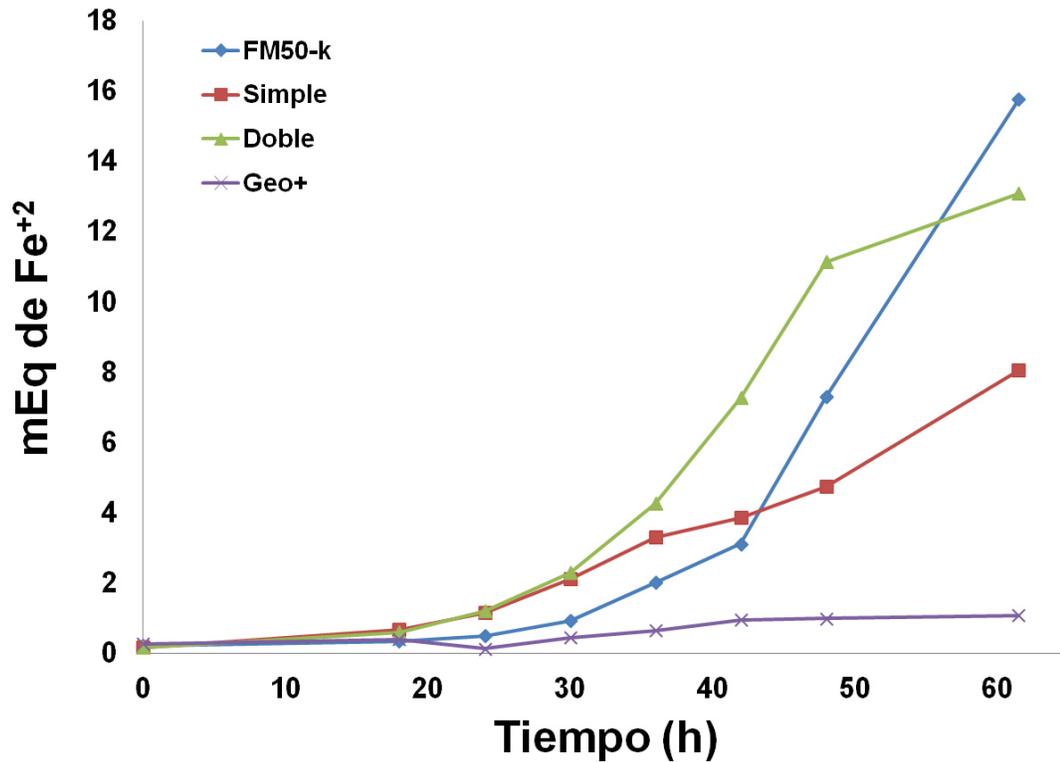


Figura 19. Cinética de CTE para los materiales Carbonáceos modificados con AQS.

Los materiales con AQDS inmovilizada (Figura 20) mostraron un comportamiento similar que en el caso de AQS, sin embargo la Doble y la FM50-k tuvieron menos diferencias en la velocidad de transferencia y la tela Simple continua teniendo un mal desempeño muy similar al que con AQS.

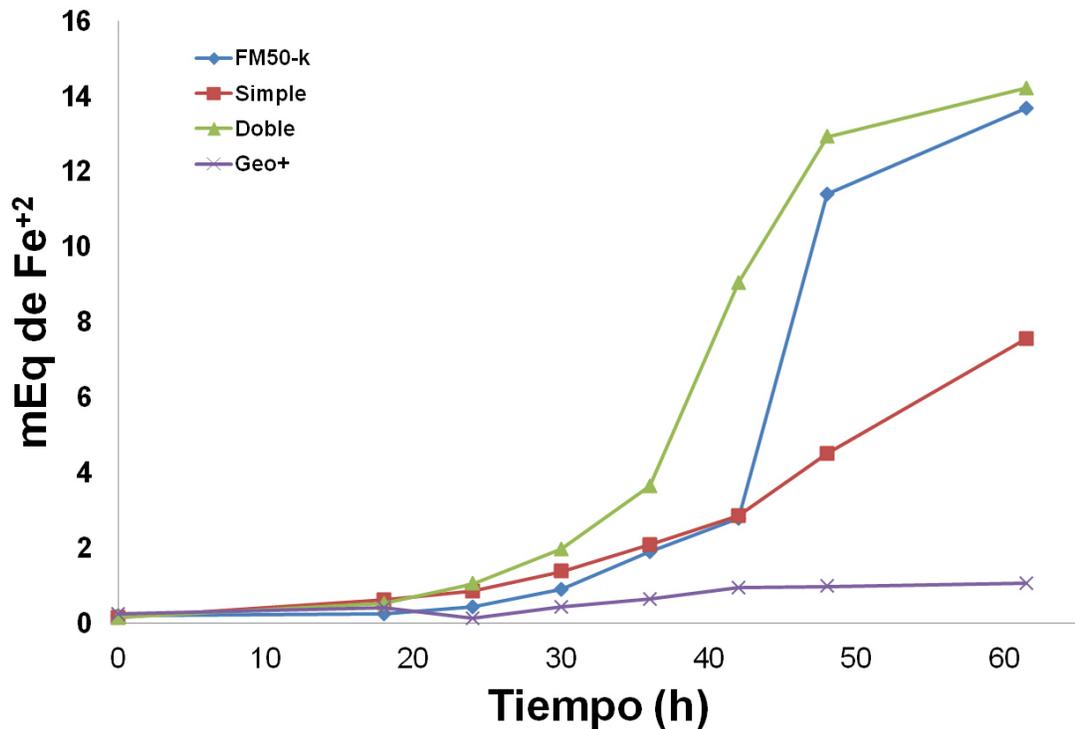


Figura 20. Cinética de CTE para los materiales Carbonáceos modificados con AQDS.

Las telas que fueron oxidadas con el HNO_3 tuvieron en general un mal desempeño (Figura 21), presentando un largo tiempo de iniciación del proceso de transferencia y solo destacando una tela (FM50-k) durante el periodo de la cinética. Mientras las telas Simple y Doble no mostraron una capacidad considerable durante el proceso, la fibra Simple tardó alrededor de 50 horas en empezar con el proceso y siendo bastante inferior a la FM50-k, mientras que la Doble no tuvo ningún efecto apreciable durante el transcurso de la cinética.

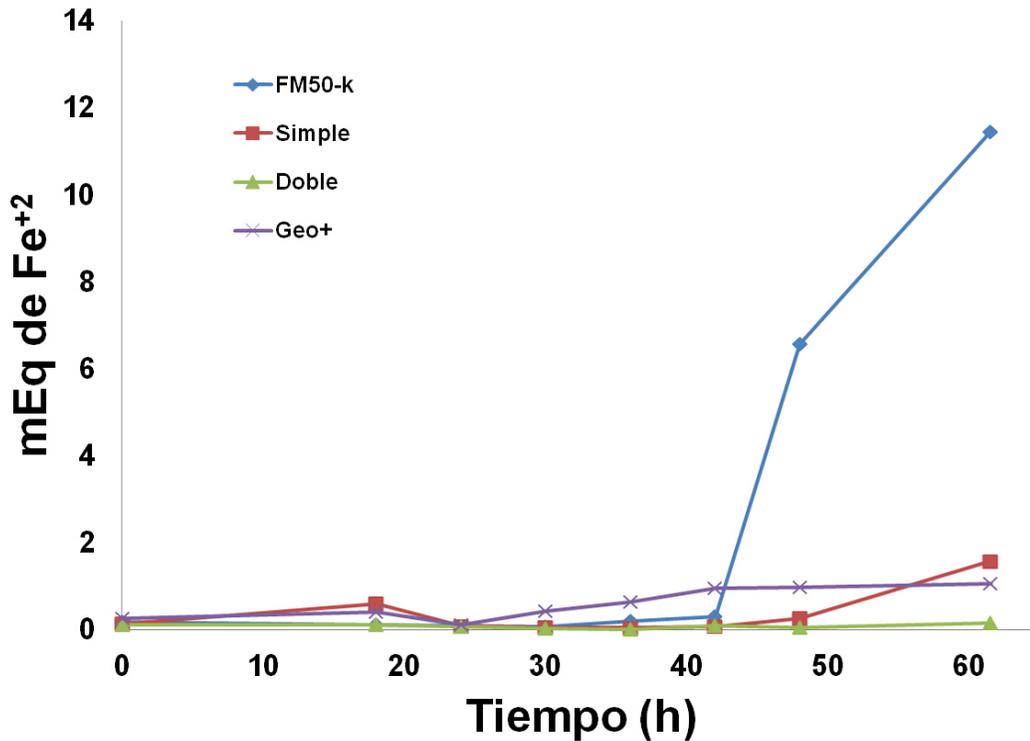


Figura 21. Cinética de CTE para los materiales Carbonáceos modificados con HNO_3 .

Cabe destacar que durante todas las pruebas la tela Doble mostró una muy baja resistencia mecánica, ya que al estar expuesta a las condiciones de los experimentos (especialmente la agitación) perdió su integridad.

6.4 Curvas de polarización y de potencia

El material carbonáceo utilizado en la prueba fue la tela FM50-K cruda y modificada con AQS. Después del periodo de incubación y formación de la biopelícula sobre los materiales carbonáceos, se procedió a hacer las mediciones del voltaje (Tabla 7) y sacar las correspondientes densidades de corriente y de potencia.

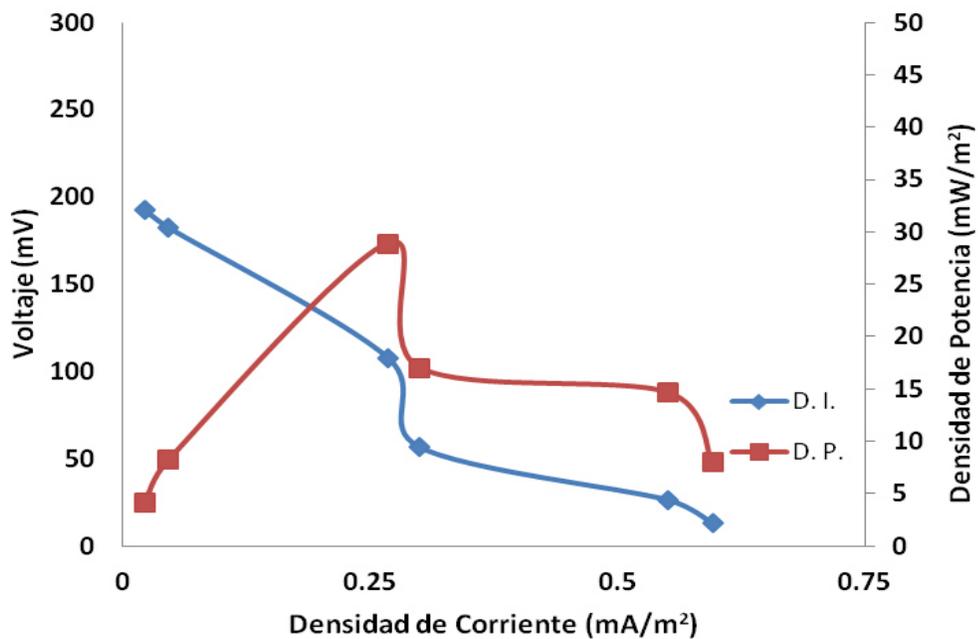
Tabla 7. Resistencias utilizadas y voltajes registrados para el material carbonáceo crudo (A) y modificado (B).

Resistencias (Ω)	Voltaje A (mV)	Voltaje B (mV)
2200000	192.75	282.25
1000000	182.75	209.5
100000	108.25	135.75
47000	57	50
12000	26.75	19.75
5600	13.5	4.75

Las lecturas registradas en las curvas de polarización y de potencia fueron bastante bajas, esto debido al tiempo de incubación, y por consiguiente una baja colonización del material por los microorganismos del lodo anaerobio. Aun con esto, los resultados obtenidos son suficientes para poder comparar entre el proceso llevado a cabo con la fibra cruda y la modificada.

En ambas celdas la resistencia óptima fue de 100000 Ω . La tela FM50k cruda dio una lectura de voltaje máximo de 108.25 mV, una densidad de corriente de 0.26 mA/m² y densidad de potencia de 28.93 mW/m². La tela FM50-k modificada con AQS mostró un voltaje máximo de 135.75 mV, una densidad de corriente de 0.34 mA/m² y densidad de potencia de 45.5 mW/m². Los resultados obtenidos muestran una mejora considerable en el material modificado con respecto al crudo, donde podemos ver un aumento del 30% en generación de densidad de corriente y alrededor de un 57% de densidad de potencia. (Figura 22)

A



B

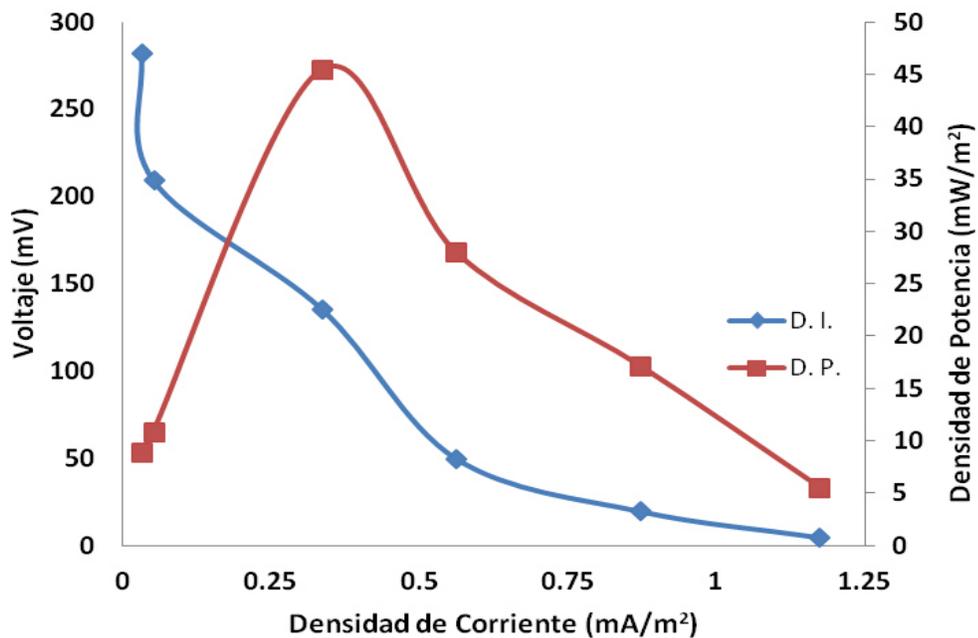


Figura 22. Curvas de polarización y potencia de la tela FM50-K cruda (A) y modificada (B).

Tsai y colaboradores en el 2014, utilizaron celdas de combustible para la generación de electricidad, utilizando tela de carbón acoplada con nanotubos de carbón y con grafeno como ánodos, utilizando como biocatalizador *E. coli* y glucosa como sustrato. La densidad de potencia obtenida en la celda con la tela de carbón fue de $3 \mu\text{W}/\text{m}^2$, con la tela acoplada con nanotubos de carbón obtuvieron $6 \mu\text{W}/\text{m}^2$ y con la tela acoplada con grafeno se obtuvo $9 \mu\text{W}/\text{m}^2$ con una resistencia óptima de 150000Ω .

Comparando con los resultados obtenidos en este estudio, el sistema que probado es más eficiente, esto puede ser debido a que el microorganismo utilizado no es especializado para el proceso de transferencia como los electrogénicos presentes en el lodo activado granular.

Cervantes en el 2011, utilizó una celda de combustible microbiano para producir electricidad a partir de aguas residuales, en donde utilizo papel de carbón activado dispuesto en forma de cepillo, con un tiempo de operación de 100 días. En este experimento se obtuvieron densidades de corriente de $222 \text{mA}/\text{m}^2$ y $60 \text{mW}/\text{m}^2$ de densidad de potencia, con una resistencia óptima externa de 460Ω . Comparando con el presente estudio, se obtienen resultados considerablemente más bajos que el presentado por Cervantes, esto debido a tiempo dedicado a la formación de la biopelícula y también puede ser al ánodo utilizado puesto que la estructura en cepillo ofrece más área de contacto que la estructura (plana) de la tela de carbón.

7. Perspectivas

7.1 Aplicaciones en sistemas bioelectroquímicos

Los electrodos representan uno de los principales componentes en los sistemas bioelectroquímicos, siendo uno elementos importantes para definir la eficiencia de dicho sistema. El empleo de los materiales carbonáceos en estos sistemas son un área de oportunidad para usarlos como electrodos por las características que presentan.

Con la modificación de los materiales carbonáceos, podemos mejorar su desempeño en los sistemas electroquímicos, como lo puede presentar Amezquita y colaboradores en el 2013, donde prueba dos métodos de modificación que es oxidando el material carbonaceo con acido y con un tratamiento térmico, para favorecer la capacidad de reducción química de contaminantes nitroaromáticos.

En base a esto, la selección y modificación de los materiales para ser utilizados como electrodos en sistemas bioelectroquímicos es de vital importancia para favorecer de manera positiva el desempeño de estos.

8. Conclusiones

La caracterización de los materiales carbonaceos crudos definieron, en primera instancia, que el mejor material carbonáceo era la tela Doble, en cuanto a la presencia de grupos quinona y capacidad de transferencia de electrones.

En las cinéticas de los mediadores solubles, la riboflavina fue el mediador con mayor potencial en el proceso, siendo 48.9 veces más veloz que el control sin mediador y el mediador con menor rendimiento fue la lawsona siendo apenas 1.5 veces más rápido que el control.

En la inmovilización de mediadores redox, por problemas de solubilidad solo se inmovilizaron AQS y AQDS, dejando fuera del estudio a la riboflavina y lawsona. De los dos inmovilizados el AQS es el mediador que se conservo en mayor cantidad en comparación al AQDS. El material carbonáceo con menor cantidad de mediador adsorbido fue la tela Doble, en cuanto a la Simple y FM50-k tuvieron capacidades de adsorción similares, después de los lavados la fibra Simple fue la que conservo mayor cantidad de mediador apenas por encima de la fibra FM50-k.

En las cinéticas de los materiales modificados, los materiales carbonaceos con el tratamiento con HNO_3 tuvieron poca actividad en general; las telas con los mediadores inmovilizados mostraron una respuesta inicial más rápida que los materiales crudos, donde destacó especialmente la tela Doble con ambas quinonas (AQS y AQDS), pero pese a su resistencia mecánica la tela FM50-k

con AQS es la que muestra un mejor comportamiento al tener una notable actividad de transferencia de electrones en comparación con los materiales crudos y una mayor resistencia en el proceso.

En la celda de combustible microbiano se evaluó la capacidad de la tela FM50-k como ánodo en el sistema bioelectroquímico, probando el material crudo y modificado con AQS y observando un aumento considerable en la densidad de corriente y en la densidad de potencia, 30% y 57% respectivamente del material modificado sobre el crudo.

9. Referencias

Adelaja, O., Keshavarz, T., Kyazze, G., (2015). **The effect of salinity, redox mediators and temperature on anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in microbial fuel cells.** Journal of Hazardous Materials 283, 211–217.

Alvarez, L. H., Cervantes, F. J., Gortares, P., (2013). **Avances en la Aplicación de Mediadores Redox Durante la (Bio)Transformación de Contaminantes Recalcitrantes.** BioTecnología, Vol. 17 No. 3, 43-65.

Amezquita, H. J., Razo-Flores, E., Cervantes, F. J., Rangel-Mendez, J. R., (2013). **Activated carbon fibers as redox mediators for the increased reduction of nitroaromatics.** CARBON 55, 276–284.

Caccavo, F., Lonergan, D. J., Lovley, D. R., Davis, M., Stolz, J. F., McInerney, M. J., (1994). **Geobacter sulfurreducens sp. nov., a Hydrogen- and Acetate-Oxidizing Dissimilatory Metal-Reducing Microorganism.** APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Vol. 60, No. 10, 3752-3759.

Cervantes, F. J., Ceballos-Valenzuela, K. M., Alatorre-Ochoa, H. A., Sanchez-Díaz, F., Razo-Flores, E., (2011) **Inmovilización de un mediador redox en carbón activado y su aplicación en la reducción biológica de colorantes azo.** Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, Vol. 3, No.5, 62-70.

Cervantes-Astorga, C., 2011. **Biodegradación de aguas residuales y producción de electricidad en una celda de combustible microbiana.** Instituto de Ingeniería, UNAM.

Cheng, S., Logan, B. E., (2007). **Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells.** Electrochemistry Communications 9, 492–496.

Del Angel-Acosta, Y. A., (2015). **Biotransformación reductiva de colorantes azo utilizando un consorcio anaerobio enriquecido y mediadores redox inmovilizados en carbón activado.** Facultad de Ciencias Químicas, UANL.

Eaktasang, N., Kim, D., Lee, J. W., Park, K. Y., Kim, H. S., (2012). **Enhancement of Electron Transfer by Electrochemical Treatment of Electrode in the Microbial Fuel Cell.** International Conference on Chemical, Environmental Science and Engineering (ICEEBS'2012) July 28-29, 2012 Pattaya (Thailand).

Feng, Y., Yang, Q., Wang, X., Logan, B. E., (2010). **Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells.** Journal of Power Sources 195, 1841–1844

Gorby, Y. A., Beveridge, T. J., (2005). **Composition, Reactivity and Regulation of Extracellular Metal-Reducing Structures (Bacterial Nanowires) Produced by Dissimilatory Metal - Reducing Bacteria.** Presented at DOE/NABIR Meeting, April 20, Warrenton, VA.

Gregory, K. B., Bond, D. R., Lovley, D. R., (2004). **Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. Environmental Microbiology 6 (6), 596–604.**

Hernández-Montoya, V., Alvarez, L. H., Montes-Morán, M. A., Cervantes, F. J., (2012). **Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by Geobacter sulfurreducens.** Geoderma 183–184, 25–31.

Kim, N., Choi, Y., Jung, S., Kim, S., (2000). **Development of Microbial Fuel Cells Using Proteus vulgaris.** Bull. Korean Chem. Soc. 2000, Vol. 21, No. 1.

Li, X., Liu, T., Liu, L., Li, F., (2014). **Dependence of the electron transfer capacity on the kinetics of quinone-mediated Fe(III) reduction by two iron/humic reducing bacteria.** The Royal Society of Chemistry 4, 2284-2290.

Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K., (2006). **Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology.** ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY, Vol. 40, No.17.

Lovley, D. R., (2006). **Bug juice: harvesting electricity with microorganisms.** Nature Vol.4, 497-508.

Martinez, C. M., Alvarez, L. H., Celis, L. B., Cervantes, F. J., (2013) **Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes.** Appl Microbiol Biotechnol 97, 10293–10308.

Martínez, P. E., Martínez, B. N., Barbarín, C. R., Blanco, L. M., (2006). **Modificación de superficie activa de electrodos con complejo de base de Schiff.** Ingenierías, Vol.9, No. 32, 44-51.

McCreery, R. L., (2008). **Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry.** Chem. Rev.108, 2646–2687

Melton, E. D., Swanner, E. D., Behrens, S., Schmidt, C., Kappler, A., (2014). **The interplay of microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle.** Nature Reviews Microbiology. AOP, published online 20 October 2014; doi:10.1038/nrmicro3347.

Newman, D. K., Kolter, R., (2000). **A role for excreted quinones in extracellular electron transfer.** NATURE, Vol. 405, 94-97.

Okamoto, A., Saito, Koichiro., Inoue, K., Nealson, K. H., Hashimoto, K., Nakamura, R., (2014). **Uptake of self-secreted flavins as bound cofactors for extracellular electron transfer in Geobacter species.** Energy & Environmental Science 7, 1357-1361.

Olivo, D. S., (2015). **Immobilization of redox mediator for anaerobic biotransformation of congo red dye.** Facultad de Ciencias Químicas, UANL.

Park, D. H., Zeikus. J. G., (2003). **Improved Fuel Cell and Electrode Designs for Producing Electricity from Microbial Degradation.** BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Vol. 81, No. 3.

Rabaey, K., Boon, N., Höfte, M., Verstraete, W., (2005). **Microbial Phenazine Production Enhances Electron Transfer in Biofuel Cells.** ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY, Vol. 39, No. 9.

Rabaey, K., Clauwaert, P., Aen̄terman, P., Verstraete, Willy., (2005). **Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation.** ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY. Vol. 39, No. 20

Rabaey, K., Rozendal, R., 2010. **Microbial electrosynthesis- revisiting the electrical route for microbial production.** Nature, Volumen 8, 10.1038/nrmicro2422.

Rabaey, K., Verstraete W., (2005). **Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation.** TRENDS in Biotechnology Vol.23 No.6, 291-298.

Raghuvulu, S. V., Goud, R. K, Sarma, P. N., Mohan, S. V., (2011). **Saccharomyces cerevisiae as anodic biocatalyst for power generation in biofuel cell: Influence of redox condition and substrate load.** Bioresource Technology 102, 2751–2757.

Revelo, D. M., Hurtado, N. H., Ruiz, J. O., (2013). **Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica.** Información Tecnológica, Vol. 24 No. 6, 17-18.

Rios-Hurtado, J. C., 2013. **Estudio del grado de oxidación de materiales microporosos para el anclaje de hidro(óxidos) de hierro: remoción de arsénico.** Instituto Potosino de Investigación y Tecnológica.

Wei, J., Liang, P., Huang, X., (2011). **Recent progress in electrodes for microbial fuel cells.** Bioresource Technology 102, 9335–9344.

Tsai, H., Hsu, W., Huang, Y., (2014). **Characterization of Carbon Nanotube/Graphene on Carbon Cloth as an Electrode for Air-Cathode Microbial Fuel Cells.** Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials, Volume 2015, Article ID 686891.