



## **POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

### **Efecto del tratamiento térmico de ánodos en la generación de electricidad y remoción de naproxeno sódico en celdas de combustible microbianas.**

Tesis que presenta

**Rigoberto Santoyo Cisneros**

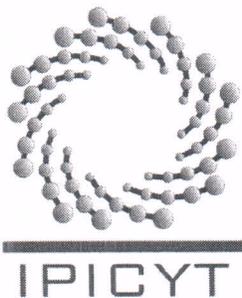
Para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias Ambientales**

Director de la tesis:

**Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz.**

San Luis Potosí, S.L.P., a 7 de noviembre de 2013



## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis "***Efecto del tratamiento térmico de ánodos en la generación de electricidad y remoción de naproxeno sódico en celdas de combustible microbianas***" presentada para obtener el Grado de Maestro en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Rigoberto Santoyo Cisneros** y aprobada el **siete de noviembre del dos mil trece** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

**Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz**  
Director de la tesis

**Dr. Elías Razo Flores**  
Miembro del Comité Tutorial

**Dra. Bibiana Cercado Quezada**  
Miembro del Comité Tutorial

**Dra. Mónica Galicia García**  
Miembro del Comité Tutorial

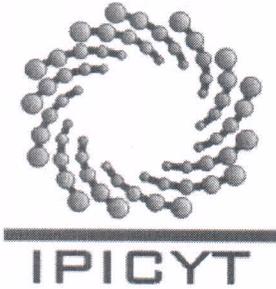


## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en los laboratorios de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. 423679) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

El trabajo fue financiado por los proyectos SEP-CONACYT: “Materiales de tipo composito para la modificación de electrodos, para su empleo en la detección de iones metálicos en medios acuosos y/o sedimentos” No. 169634 asignado al Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz, y “Sistemas bioelectroquímicos para la producción de hidrógeno y remoción de materia orgánica remanente en el efluente de fermentaciones oscuras” No. 177441 asignado a la Dra. Bibiana Cercado Quezada.



# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 009 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 7 días del mes de noviembre del año 2013, se reunió a las 10:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

**Dr. Elías Razo Flores**

**Presidente**

**IPICYT**

**Dra. Bibiana Cercado Quezada**

**Secretario**

**CIDETEQ**

**Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz**

**Sinodal**

**IPICYT**

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó el C.

**Rigoberto Santoyo Cisneros**

sobre la Tesis intitulada:

*Efecto del tratamiento térmico de ánodos en la generación de electricidad y remoción de nitrógeno sódico en celdas de combustible microbianas*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz**

El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLO**

Dándose por terminado el acto a las 13:10 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición del interesado y para los fines que al mismo convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 7 días del mes de noviembre de 2013.

**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado

**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico



### **Productos de la tesis.**

El trabajo realizado en esta tesis se presentó en los siguientes foros en modalidad de cartel:

Estudio de un sistema bioelectroquímico microbiano y su aplicación en la remoción de un microcontaminante orgánico (naproxeno sódico). R. Santoyo-Cisneros, L.F. Cházaro-Ruiz, B. Cercado-Quezada, E. Razo-Flores. **IWA-México 2013 Young Water Professionals, 24-26 Abril 2013, San Luis Potosí, México.**

Efecto del potencial anódico sobre la remoción de naproxeno sódico en un sistema bioelectroquímico microbiano (SBE). R. Santoyo-Cisneros, Bibiana Cercado, Elías Razo-Flores, Luis F. Cházaro-Ruiz. **Simposio en honor a Ángeles Paz Sandoval en acontecimiento de sus 30 años de trayectoria académica, 26 Abril 2013, México, D.F.**

Estudio de remoción de naproxeno sódico mediante un sistema bioelectroquímico microbiano. R. Santoyo-Cisneros, Bibiana Cercado, Elías Razo-Flores, Luis F. Cházaro-Ruiz. **4º Simposio de Avances de Tesis del Posgrado en Ciencias Ambientales, 2 y 3 Mayo 2013, San Luis Potosí, S.L.P.**

Effect of anodic poised potential on the removal of naproxen sodium using bioelectrochemical systems (BESs). Rigoberto Santoyo-Cisneros, Bibiana Cercado, Elías Razo-Flores, Luis F. Cházaro-Ruiz. **64<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 8-13 Septiembre 2013, Santiago de Querétaro, México.**

*A mi familia, amigos y toda persona que se involucró directa e indirectamente en el desarrollo de esta tesis.*

## **Agradecimientos.**

Agradezco enormemente el apoyo incondicional del Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz a lo largo del desarrollo de este trabajo, por su amistad, paciencia y disponibilidad para lograr la terminación de este escrito.

A la Dra. Bibiana Cercado Quezada, por su asesoría y porque gracias a su llegada al IPICYT, tuve la oportunidad de conocer a las “bacterias que generan electricidad”.

Al resto de mi comité tutorial, Dra. Mónica Galicia y Dr. Elías Razo, por esos momentos tan enriquecedores y de gran aprendizaje durante nuestras reuniones.

A todo el personal que labora en el IPICYT, especialmente al personal técnico de la División de Ciencias Ambientales: M. en C. Dulce Isela Fátima Partida, M. en C. Juan Pablo Rodas Ortiz y a la I.Q. María del Carmen Rocha Medina, por sus disposición y apoyo brindado en la parte práctica de mi trabajo.

Al Dr. Sergio Rosales Mendoza coordinador del laboratorio de biofarmacéuticos recombinantes, por facilitar equipo, reactivos y personal técnico para realizar la identificación de los microorganismos. Así mismo agradezco enormemente a los técnicos que realizaron dicho trabajo: M.C. Elizabeth Monreal Escalante, QFB. Elizabeth Esquivel Ramos y I.B.P. Ignacio Lara Hernández

A mis compañeros de generación Lau, Jacobo, Raúl, Meli, Charly, Doddy y Rodo, por todos esos gratos momentos que compartimos durante estos dos años.

A la pequeña Lois de gran corazón, por siempre estar al pendiente de mí, por tus abrazos reparadores y tu sensatez. A Lupis, por ser mi compañera de dichas e infortunios, por tu honestidad y por darme la oportunidad de conocerte. A Jorge Carlos, mi hermanito y rommie por dos años, por aguantarme, por motivarme y hasta por despertarme para llegar temprá al ipi. A mi hermano Lalo (cátodo) por las aventuras, risas y tu gran amistad.

Agradezco a Aurora (Pat) y Héctor por su amistad y por compartir momentos de discusión e intercambio de ideas sobre mi trabajo para enriquecer mi trabajo.

A mis amigos hidrocálidos Pepe, Cristina, Rosa, Jorge, Chabela., por siempre estar conmigo, por sus palabras de aliento y por todo su apoyo a lo largo de estos dos años.

A mis nuevos amigos potosinos, Miguel Y. y Aurora O., por hacerme sentir como en casa y brindarme una amistad sincera.

## Índice de tablas.

---

Tabla 1.1: Semi-reacciones y potenciales  $E^\circ$  de reducción de acetato, propionato y butirato. (p. 26)

Tabla 1.2: Características de los sistemas y mejoras en los desempeños obtenidos en CCM con la modificación térmica de ánodos. (p. 35)

Tabla 2.1: Especificaciones de los compuestos químicos utilizados en la metodología experimental. (p. 50)

Tabla 2.2: Especificaciones técnicas de la tela y fieltro de grafito, utilizados para la fabricación de los ánodos y cátodos, respectivamente. (p. 51)

Tabla 2.3: Especificaciones técnicas de la membrana de intercambio catiónico, modelo CMI-7000. (p.56)

Tabla 2.4: Composición de las soluciones de vitaminas y elementos traza, utilizadas en el buffer de fosfatos o anolito. (p. 57)

Tabla 3.1: Resultados del análisis de fisisorción de nitrógeno ( $N_2$ ) de las telas de grafito. (p. 63)

Tabla 3.2: Concentración de grupos funcionales oxigenados superficiales de las telas de grafito ST y TT $^\circ$  (ND: No detectables). (p. 64)

Tabla 3.3: Parámetros voltamperométricos evaluados para los electrodos de tela de grafito empleando el par redox  $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ . (p. 69)

Tabla 3.4: Resultados del análisis de espectros de impedancia de E-ST y E-TT, mediante el ajuste de los datos experimentales con circuitos eléctricos. (p. 73)

## Índice de figuras

---

Figura 1.1: Representación gráfica de sistemas electroquímicos: a) batería (celda de Daniell), b) supercapacitor, c) celda de combustible y d) celda de combustible microbiana (tipo H). (p. 23)

Figura 1.2: Esquema de operación de celda de combustible microbiana de dos cámaras. (p. 28)

Figura 1.3: Principales componentes del proceso de transferencia de electrones de *Geobacter sp.* al ánodo en una CCM. En el proceso se involucran acarreadores de electrones como NADH, quinonas y proteínas del tipo citocromos (Omc y PpC), modificado de Lovley et al., (2004). (p. 30)

Figura 1.4. Mecanismos de transferencia electrónica de bacterias electroquímicamente activas: A) Directos -mediante proteínas de membrana y pilis bacterianos- y B) Indirectos -mediadores redox endógenos o exógenos- (Logan, 2006; Lovley, 2008; Rittmann, 2008). (p. 30)

Figura 1.5. Fotografías de diferentes materiales de carbón utilizados como ánodos en CCM. A) papel de carbón, B) placa de grafito, C) grafito granular, D) carbón activado granular, E) tela de carbón, F) malla de carbón, G) fieltro de carbón, H) carbón vítreo reticulado y I) fibras de carbón en forma de cepillo. Tomada de Wei et al., (2011). (p. 33)

Figura 1.6: Respuesta voltamperométrica del  $K_4[Fe(CN)_6]$  y su proceso electroquímicamente reversible, donde se muestran los parámetros voltamperométricos más importantes: potenciales de pico ( $E_p$ ), corrientes de pico ( $i_p$ ) y la diferencia de potencial de pico ( $\Delta E_p$ ). (p. 37)

Figura 1.7: Respuesta voltamperométrica de biopelículas electroquímicamente activas. A) y B) cultivo puro de *Geobacter sulfurreducens*, el voltamperograma fue obtenido en el medio cultivo sin sustrato, a una velocidad de barrido de A) 50 mV s<sup>-1</sup> y B) 1 mV s<sup>-1</sup>, tomada de

Fricke et al., (2008). La respuesta C), se obtuvo con un bioanódo originado por un cultivo microbiano mixto sin adición de mediadores redox, las líneas punteadas indican la relación entre los picos correspondientes a compuestos con actividad redox endógenos (Rabaey et al., 2004). (p. 38)

Figura 1.8: Respuesta típica de impedancia. a) Gráfico de Nyquist: eje de la componente real de la impedancia ( $ReZ$ ) vs el negativo de eje de la componente imaginaria de la impedancia ( $-ImZ$ ), b) gráfico de Bode: ángulo de fase ( $\Theta$ ) y módulo de la impedancia ( $|Z|$ ) vs la frecuencia ( $\omega$ ) como una variable independiente (Domínguez-Benetton et al., 2012). (p. 39)

Figura 1.9. A) Curva de polarización: los valores del voltaje de la celda se obtienen al cambiar la resistencia externa en el circuito y B) curva de potencia o de densidad de potencia, correspondiente a los valores de voltaje medidos, tomada de Logan, et al., (2008). (p. 41)

Figura 2.1: Esquema de electrodo de trabajo (ET) de tela de carbón plastificado (izquierda) y celda cónica (derecha) con arreglo de tres electrodos (ET: electrodo de trabajo, EA: electrodo auxiliar y ER: electrodo de referencia). (p. 52)

Figura 2.2: Fotografías de los electrodos utilizados en las celdas de combustible microbianas: A) Ánodo de tela de grafito y B) cátodo de fieltro de grafito. (p. 55)

Figura 2.3. Fotografías de los dispositivos de PVC empleados como CCM: a) vista lateral y b) vista superior de los reactores. (p. 58)

Figura 2.4: Fotografías de la CCM-0.1 V: a) celda de vidrio tipo H y b) cámara anódica con arreglo de ER de  $Ag/AgCl/KCl$  (sat). (p. 59)

Figura 2.5: Esquema del monitoreo de las celdas de combustible microbianas con el potencióstato. (p. 60)

Figura 3.1: Esquema del modelo propuesto para describir el efecto del tratamiento térmico en superficies de carbón, A) superficie típica de bordes en carbón cristalino y B) estructura generada por el tratamiento térmico. Tomado de Menéndez et al., (1996). (p. 62)

Figura 3.2: Principales grupos funcionales encontrados en la superficie de carbón (las estructuras hexagonales representan anillos aromáticos) (Shen et al., 2008). (p. 64)

Figura 3.3: Respuestas voltamperométricas sobre los electrodos E-ST y E-TT° en medio electrolítico de KNO<sub>3</sub> 1 M a una  $\nu = 5 \text{ m Vs}^{-1}$ ; en soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Potencial pico anódico (A) 0.33V (vs Ag/AgCl),  $j = 0.1 \text{ mA cm}^{-2}$  y un potencial pico catódico (B) -0.35 V (vs Ag/AgCl),  $j = 0.69 \text{ mA cm}^{-2}$ . (p. 66)

Figura 3.4: Voltamperometría cíclica de fibras de carbón (CF) tratadas térmicamente (1100, 1400 y 2400 °C) en una solución acuosa de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05 mol dm<sup>-3</sup>: a, CF1100, a', CF1100ox; b, CF1400; b', CF1400ox; c, CF2400 y c', CF2400ox. OX indica el material que posterior al tratamiento térmico fue sometido a una oxidación con HNO<sub>3</sub> conc. (Biniak et al., 1994). (p. 67)

Figura 3.5: Respuestas voltamperométrica de K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] mM + KNO<sub>3</sub> 1 M a una velocidad de barrido de 5 mV s<sup>-1</sup> en dirección anódica a partir del OCV. Arreglo de celda de tres electrodos EA: barra de grafito, RE: Ag/AgCl/KCl(sat). Soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. (p. 68)

Figura 3.6: Respuesta voltamperométrica sobre los electrodos E-ST y E-TT° en el anolito (ver sección 2.2.4) en celda de tres electrodos a una velocidad de barrido,  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ , en soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Se observaron dos picos anchos poco definidos C y D a potenciales de 0.052 y -0.037 V respectivamente. (p. 70)

Figura 3.7: Respuesta voltamperométrica sobre los electrodos E-ST y E-TT° en el medio anolito (ver sección 2.2.4) en celda de dos cámaras antes de su inoculación a  $v = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . En soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Esta respuesta presentó los siguientes potenciales de pico: anódico (E) 0.088 y catódico (G) -0.243 V. (p. 71)

Figura 3.8: Gráfica de Bode donde se muestran los resultados experimentales y ajustados con circuitos eléctricos de los espectros de impedancia de E-ST y E-TT° en anolito. El estudio se realizó en celda de tres electrodos, ER: Ag/Ag/KCl (sat) y EA: barra de grafito. (p. 72)

Figura 3.9: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-1) y TT° (b-1), durante el primer ciclo de operación. La CCM-ST alcanzó una  $P_{\text{max}}$  de  $2.57 \text{ mW m}^{-2}$ , mientras que con CCM-TT° la  $P_{\text{max}}$  fue de  $10.66 \text{ mW m}^{-2}$ . (p. 74)

Figura 3.10: Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el primer ciclo de alimentación (día 10). (p. 75)

Figura 3.11: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-2) y CCM-TT° (b-2), durante el segundo ciclo de operación. (p. 76)

Figura 3.12: Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el segundo ciclo de alimentación (día 5). (p. 77)

Figura 3.13: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-1) y TT° (b-1), durante el tercer ciclo de operación. (p. 78)

Figura 3.14: Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el tercer ciclo de alimentación (día 5). (p. 79)

Figura 3.15: Curvas de densidad de potencia máxima y curvas de polarización, de CCM-ST (a-4) y TT°(b-4), durante el cuarto ciclo de operación. (p. 80)

Figura 3.16: Respuesta voltamperométrica del ánodo en CCM-ST, al final del tercer ciclo de operación, a una velocidad de barrido de  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . (p. 81)

Figura 3.17: Respuesta voltamperométrica de bioánodos obtenida por el Liu et al., (2005), en CCM alimentadas con A) acetato y B) butirato. (p. 82)

Figura 3.18: Respuesta voltamperométrica del ánodo en CCM-TT°, al final del tercer ciclo de operación,  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . (p. 83)

Figura 3.19: Formación cronoamperométrica de la biopelícula electroquímicamente activa con potencial constante de 0.1V (vs Ag/AgCl/KCl) y exposición a Naproxeno sódico (10 ppm) a partir del 5° ciclo de operación (día 33). (p. 84)

Figura 3.20: a) Desempeño global y b) gráfico de % EC de la celda CCM-0.1 V. (p. 85)

Figura 3.21: % de remoción de NPX en los ciclos de exposición en CCM-0.1V. (p. 86)

Figura 3.22: Respuesta cronoamperométrica del ciclo 8 después de adicionar NPX (10 ppm) como única fuente de carbono. Al día 2 se añadió la mezcla de AGV's (250 mgDQO L<sup>-1</sup>). (p. 87)

Figura 3.23: Respuesta voltamperométrica del bioánodo de CCM-0.1 V durante el arranque del sistema (ciclo 1) y al final del cuarto ciclo de operación, a una velocidad de barrido de  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . (p. 88)

Figura 3.24: Respuesta voltamperométrica del bioánodo en CCM-0.1 V, al inicio y al final del cuarto ciclo de operación,  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . (p. 89)

Figura 3.25: Respuesta voltamperométrica de bioanodos en CCM (MFC, por sus siglas en inglés) alimentadas con diferentes ácidos grasos volátiles: A-MFC (acetato), P-MFC (propionato) y B-MFC (butirato). Tomada de Kaur et al., (2013). (p. 90)

Figura 3.26: Cromatograma de estándar de 6 ppm de NPX, el cual aparece con un tiempo de retención de 2.739 min. (p. 91)

Figura 3.27: Cromatograma de una muestra de CCM-0.1 V tomada al final de ciclo 7 de operación, donde el NPX aparece con un tiempo de retención de 2.759 min. (p. 92)

Figura 3.28: Formación de intermediario en la biotransformación anaerobia del naproxeno propuesto por Lahti and Oikari, (2010). (p. 92)

## Abreviaturas.

---

<b>SBM</b>	<b>Sistemas bioelectroquímicos microbianos</b>
<b>CCM</b>	<b>Celda de combustible microbiana</b>
<b>CEM</b>	<b>Celda de electrolisis microbiana</b>
<b>BEA</b>	<b>Biopelícula electroquímicamente activa</b>
<b>NPX</b>	<b>Naproxeno sódico</b>
<b>VC</b>	<b>Voltamperometría cíclica</b>
<b>EIS</b>	<b>Espectroscopia de impedancia electroquímica</b>
<b>E-ST</b>	<b>Electrodo sin tratamiento</b>
<b>E-TT°</b>	<b>Electrodo tratado térmicamente</b>
<b>E</b>	<b>Potencial (mV)</b>
<b>i</b>	<b>Corriente (A)</b>
<b>j</b>	<b>Densidad de corriente (A m<sup>-2</sup>)</b>
<b>F</b>	<b>Constante de Faraday</b>
<b>P</b>	<b>Potencia (W)</b>
<b>c</b>	<b>Coulomb</b>
<b>A</b>	<b>Ampere</b>

## Resumen

### **“Efecto del tratamiento térmico de ánodos en la generación de electricidad y remoción de naproxeno sódico en celdas de combustible microbianas”.**

Los sistemas bioelectroquímicos microbianos (SBM), son tecnologías emergentes que se basan en utilizar microorganismos en forma de biopelícula adherida sobre electrodos como catalizadores en reacciones de oxidación y/o reducción. La capacidad de algunas bacterias de utilizar la superficie de electrodos como aceptores terminales de electrones, permite inducir el crecimiento de biopelículas electroquímicamente activas al aplicar un potencial o corriente determinados al ánodo y/o realizando modificaciones en la superficie del mismo. En la celda de combustible microbiana (CCM) una modalidad de SBM, las bacterias transforman la energía química contenida en compuestos orgánicos a energía eléctrica mediante la oxidación de sustratos orgánicos. La generación de energía eléctrica a partir de la oxidación de residuos o contaminantes orgánicos es un tema prioritario en la actualidad, ya que el proceso ocurre de forma simultánea a la remoción de contaminantes o materia orgánica. Las CCM han demostrado una gran versatilidad en el tratamiento de diversos contaminantes orgánicos y de forma reciente se han utilizado en la remoción de contaminantes emergentes de origen farmacéutico. En el presente trabajo se evaluó la remoción del fármaco naproxeno sódico utilizando CCM de dos cámaras (tipo H), inoculada con lodos provenientes de un digestor aerobio y como sustratos primarios una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGV). Mediante los resultados obtenidos se demostró que el tratamiento térmico incrementó la actividad electroquímica de los ánodos, ya que aumentó su hidrofiliidad y dio lugar a la manifestación de grupos del tipo carbonilo (quinoides) con actividad redox. Además se disminuyó el tiempo de maduración de las biopelículas electroquímicamente activas hasta en un 50 %. La remoción de naproxeno sódico sólo fue observada en los sistemas con ánodos tratados térmicamente y en presencia de los AGV's, alcanzando un máximo de 65.4 %. El análisis de la comunidad microbiana reveló la presencia de  $\alpha$  y  $\beta$  proteobacterias en la superficie del ánodo.

**Palabras clave:** Biotransformación, electroactividad, fármacos, energía eléctrica.

## **Abstract**

### **"Effect of thermal treatment of anodes in electricity generation and removal of naproxen sodium in microbial fuel cells."**

Pharmaceuticals are used in large quantities for humans and livestock in industrialized countries, these residues are frequently found in municipal waste water treatment plant (WWTP) and surface water. They enter to the aquatic environment and eventually reach drinking water if they are not biodegraded or eliminated during sewage treatment. Microbial bioelectrochemical systems (BESs) allow the integration of a biological and electrochemical redox processes, consequently they are proposed as sustainable alternatives for wastewater treatment. Thus, BESs can be used as an alternative final method for efficient recalcitrant wastes treatment or as a pretreatment stage. A few pharmaceutical wastes have been investigated in BESs, some of these include antibiotics such as sulfonamides and penicillin. In the present study the removal of naproxen sodium (acidic analgesic-pharmaceutical) was evaluated using MFC, a type of BESs, with either a mixture of volatile fatty acids (VFAs) as primary substrates. The set-up used in this work consisted of two chambers MFC separated by a proton exchange membrane, (Ultrex). Carbon cloth untreated and carbon cloth with thermal treatment; these were used as anode and the graphite felt as cathode. Thermal treatment of graphite cloth increased carbonyl groups in the surface of material and exhibits the best performance for bio-electrochemical applications. The range of remotion of Naproxen was 40-60% of the initial concentration and was observed in all the cycles of the cell operation exposed to the contaminant. This contaminant is only degraded when VFAs are present and is not involved in the generation of current in the SBE. Therefore, naproxen degradation is attributable to an indirect oxidation mechanism.

**KEY WORDS: biotransformation, pharmaceuticals enviroment, bioelectrochemical systems.**

## Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	I
Créditos institucionales	II
Acta de examen	III
Productos de la tesis	IV
Dedicatoria	V
Agradecimientos	VI
Lista de Tablas	VIII
Lista de Figuras	IX
Abreviaturas	XV
Resumen	XVI
Abstract	XVII

### Capítulo I. Marco teórico.

1. Introducción.....	21
1.2.1 Sistemas electroquímicos para la conversión y almacenamiento de energía.....	23
1.2.2 Termodinámica de la generación de electricidad en celdas de combustible microbianas (CCM). .....	24
1.2.3 Celda de combustible microbiana (CCM). .....	28
1.2.4 Microorganismos electroquímicamente activos. ....	29
1.2.5 Biopelículas electroquímicamente activas.....	31
1.2.6 Materiales de carbón utilizados como electrodos en CCM. ....	33
1.2.7 Modificaciones superficiales de ánodos. ....	35
1.2.8 Parámetros para evaluar el desempeño de CCM. ....	39
1.2.9 Aplicaciones de las CCM. ....	43
1.3 Remoción de contaminantes emergentes en CCM y naproxeno sódico como contaminante emergente. ....	44
1.4 Justificación. ....	47
1.5 Hipótesis. ....	48
1.6 Objetivos.....	48

1.6.1	Objetivo general.....	48
1.6.2	Objetivos específicos.....	48
<b>Capítulo II. Materiales y métodos.</b>		
2.	Materiales y Métodos.....	50
2.1	Estudios abióticos.....	50
2.1.1	Reactivos.....	50
2.1.2	Material de electrodos y tratamiento.....	51
2.1.3	Caracterización Fisicoquímica.....	51
2.1.4	Estudios electroquímicos.....	52
2.2	Estudios bióticos en SBM.....	55
2.2.1	Inóculo.....	55
2.2.2	Electrodos.....	55
2.2.3	Diseño de celdas de combustible microbianas (CCM).....	56
2.2.4	Anolito y catolito.....	56
2.2.5	Operación de las celdas de combustible microbianas (CCM):.....	57
2.2.6	Cuantificación de naproxeno sódico.....	61
<b>Capítulo III. Discusión de Resultados.</b>		
3.	Resultados y Discusión.....	62
3.1	Efecto del tratamiento térmico en la superficie de los ánodos.....	62
3.2	Área superficial de ánodos.....	63
3.3	Determinación de grupos funcionales en ánodos.....	64
3.4	Caracterización electroquímica de las telas de carbón sin y con tratamiento térmico. .....	66
3.5	Efecto del tratamiento térmico de los ánodos en la generación de electricidad y en la remoción de naproxeno sódico en CCM.....	74

3.6 Formación de biopelícula electroactiva aplicando un potencial constante de 0.1V y evaluación de la remoción de naproxeno sódico. ....	83
3.7 Mecanismo de remoción de naproxeno. ....	91
<b>Capítulo IV. Conclusiones y Perspectivas.</b>	
4.1 Conclusiones. ....	94
4.2 Perspectivas. ....	96
<b>Capítulo V. Bibliografía y Anexos.</b>	
5.1 Referencias bibliográficas. ....	97
5.2 Anexos. ....	102
5.2.1 Análisis Molecular y Bioinformático: ....	102
5.2.2 CCM 0.1 V / Sustrato: acetato de sodio. ....	104
5.2.3 CEM 0.6V/Sustrato: AGVs. ....	107
5.2.4 Fisisorción de nitrógeno. ....	109
5.2.5 Determinación de sitios activos. ....	110
5.2.6 Estudios voltamperométricos de la oxidación del naproxeno sódico sobre electrodos de carbón. ....	112

# Capítulo I. Marco Teórico.

---

## 1. Introducción.

El desarrollo de biopelículas de microorganismos electroquímicamente activos sobre la superficie de ánodos, ha permitido estudiar la oxidación de una gran variedad de sustratos orgánicos en los sistemas bioelectroquímicos microbianos (SBM). La principal ventaja de estos sistemas, es la posibilidad de obtener productos de valor agregado por ejemplo: electricidad, hidrogeno y compuestos químicos de interés industrial, mediante procesos con bajos costos operacionales y sostenibles desde el punto de vista ambiental (Huang et al., 2011).

La generación de energía eléctrica en SBM a partir de la oxidación de residuos considerados como “sin valor”, es un tema prioritario en la actualidad, ya que el proceso ocurre de forma simultánea a la remoción de contaminantes o materia orgánica. Los sustratos utilizados en estos sistemas, incluyen compuestos como acetato de sodio, glucosa, ácidos grasos volátiles, celulosa y almidón, etc. Aunado a estos, también se han aplicado en procesos de tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, así como en la remoción de contaminantes recalcitrantes y emergentes. Dentro de los contaminantes evaluados en estos sistemas, se incluyen: colorantes, hidrocarburos, compuestos nitroaromáticos, fenólicos y más recientemente microcontaminantes de origen farmacéutico (Kiran Kumar et al., 2012).

En los últimos 20 años, se ha incrementado el interés de estudiar la remoción de residuos farmacéuticos debido a su potencial bioactividad y ecotoxicidad. Estas sustancias se introducen al ambiente, por la disposición inadecuada de residuos en centros de producción, hospitales y hogares; esto aunado a su excreción en orina y heces fecales de humanos y animales. Por otro lado, los sistemas de tratamiento de aguas residuales actuales, no son selectivos y en ocasiones solo logran degradarlos parcialmente, por lo que estos pueden llegar a cuerpos de agua y suelo, reincorporándose a las cadenas tróficas (Martín et al., 2012).

Por consiguiente, se han desarrollado nuevas tecnologías para la eliminación de estos microcontaminantes, que a menudo requieren un consumo considerable de energía y/o productos químicos, por ejemplo, la cloración, la irradiación UV, nanofiltración, ozonización, filtración con carbón activado, biofiltración y la descomposición electroquímica usando electrodos de diamante dopado con boro (Klavarioti et al., 2009; Méndez-Arriaga et al., 2008; Reungoat et al., 2011). De forma simultánea, se han propuesto los SBM, propiamente en su modalidad de celdas de combustible microbianas (CCM), como alternativas sustentables para el tratamiento de estos residuos. La remoción de contaminantes emergentes del tipo farmacéutico es una aplicación poco explorada en CCM. Los compuestos hasta ahora estudiados incluyen: antibióticos (sulfonamidas, penicilina y ceftriaxona de sodio) y hormonas (estrógenos) (Harnisch et al., 2013; Kiran Kumar et al., 2012; Wen et al., 2011a, 2011b).

En este proyecto se desarrollaron biopelículas electroquímicamente activas, sobre electrodos de tela de grafito modificados térmicamente, para evaluar la remoción de naproxeno sódico (NPX) en sistemas tipo CCM. En la etapa inicial del proyecto se evaluaron las características fisicoquímicas y electroquímicas de los ánodos y el efecto del tratamiento térmico sobre la generación de electricidad, con la finalidad de obtener biopelículas con la mayor electroactividad que posteriormente serían utilizadas en los estudios de remoción de NPX. Las biopelículas se desarrollaron utilizando un inóculo proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas y una mezcla de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) como sustratos primarios. El estudio de los diferentes sistemas fue abordado mediante técnicas electroquímicas, utilizando principalmente: voltamperometría cíclica, cronoamperometría y espectroscopia de impedancia electroquímica.

## 1.1 Antecedentes.

### 1.2.1 Sistemas electroquímicos para la conversión y almacenamiento de energía.

La producción de energía a partir de procesos electroquímicos ha adquirido mucha importancia en años recientes, ya que son considerados como alternativas sustentables y amigables con el ambiente. Los principales sistemas que involucran procesos electroquímicos para el almacenamiento y/o conversión de energía son: capacitores electroquímicos, baterías, celdas de combustible y más recientemente las celdas de combustible microbianas. En estos sistemas, los procesos que proporcionan la energía, tienen lugar en la interface electrodo-electrolito. En la **Figura 1.1** se esquematizan los dispositivos electroquímicos que se implementan como un sistema tipo: a) batería, b) supercapacitor, c) celda de combustible y d) celda de combustible microbiana (Logan et al., 2006; Winter and Brodd, 2004).

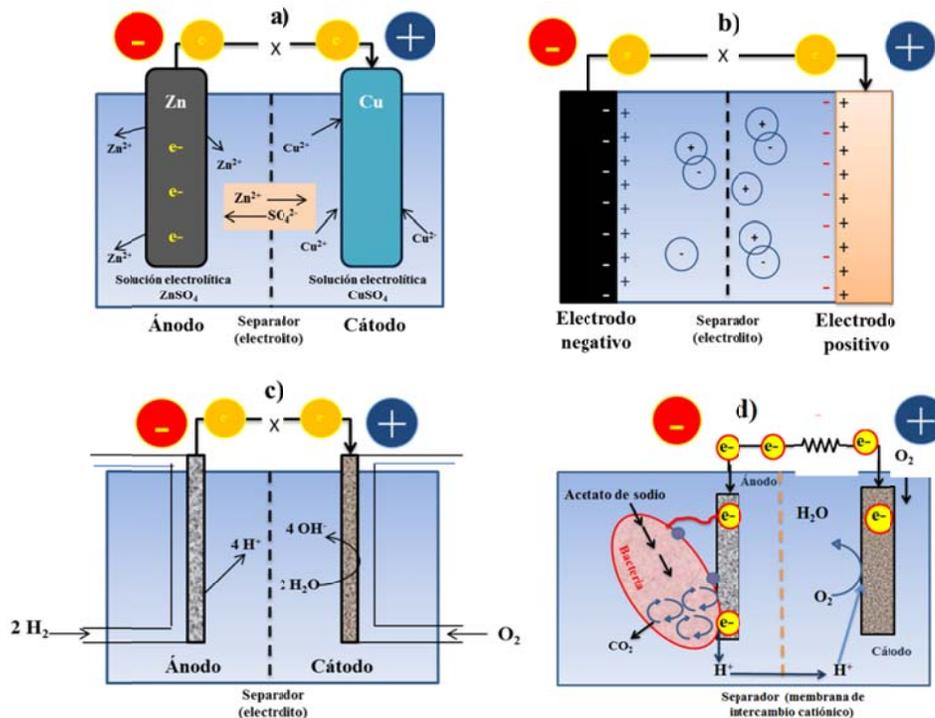


Figura 1.1: Representación gráfica de sistemas electroquímicos: a) batería (celda de Daniell), b) supercapacitor, c) celda de combustible y d) celda de combustible microbiana (tipo H).

En las baterías y celdas de combustible, la energía eléctrica es generada por la conversión de energía química vía reacciones redox entre el ánodo, cátodo y alguna especie electroactiva. Las reacciones en el ánodo usualmente ocurren a potenciales de electrodo bajos en comparación con el cátodo. El electrodo más negativo se denomina ánodo, mientras que el más positivo se denomina cátodo. Las diferencias entre baterías y celdas de combustible están relacionadas con la localización del almacenamiento y conversión de energía, así como el tipo de alimentación del sistema. Las baterías son sistemas cerrados, debido a que la generación de energía se debe al consumo de una especie electroactiva acumulada; es decir, no hay alimentación continua. En cambio las celdas de combustible son sistemas abiertos, en donde el ánodo y cátodo son sólo medios de transferencia de carga y las reacciones redox están limitadas por el transporte de masa. El combustible de la celda es alimentado por el compartimento anódico, donde es oxidado catalíticamente transfiriendo electrones al ánodo. Los electrones se mueven hacia el cátodo, a través de un circuito externo, debido a una diferencia de potencial entre ánodo y cátodo. Finalmente en la superficie del cátodo son transferidos al aceptor terminal de electrones, reduciéndolo catalíticamente (Winter and Brodd, 2004).

En la celda de combustible microbiana (CCM), el proceso ocurre de forma similar; sin embargo en este sistema, se utilizan bacterias como catalizadores de los procesos electroquímicos. Las bacterias se adhieren a la superficie del ánodo formando biopelículas electroquímicamente activas, que oxidan la materia orgánica presente, para luego transferir los electrones al ánodo, hasta llegar al cátodo donde el aceptor terminal de electrones (comúnmente oxígeno) es reducido (Logan et al., 2006). Para entender como ocurre este proceso, en las siguientes secciones se describen sus características fundamentales y los fenómenos que ocurren para la generación de energía eléctrica en estos sistemas.

### **1.2.2 Termodinámica de la generación de electricidad en celdas de combustible microbianas (CCM).**

La conversión de energía mediante procesos electroquímicos deriva directamente de la adaptación de las formulaciones termodinámicas básicas, utilizadas para describir

procesos químicos. En términos eléctricos, la energía neta disponible o energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) de una celda electroquímica está dada por las ecuaciones 1 y 2:

$$\Delta G = -nFE \quad (1)$$

$$\Delta G^\circ = -nFE^\circ \quad (2)$$

donde,  $\Delta G^\circ$ , es la energía libre de Gibbs bajo condiciones estándar (298.15 K, 1 bar de presión y 1 M de concentración para todos los reactantes),  $E^\circ$  es el potencial bajo condiciones estándar,  $n$  es el número de electrones transferidos por mol de reactante,  $F$  es la constante de Faraday ( $9.64853 \times 10^4$  C/mol) y  $E$  es el voltaje de la celda; en otras palabras  $E$ , es la fuerza electromotriz de la reacción de la celda (*fem*). La cantidad de electricidad producida,  $nF$ , está determinada por la cantidad total de materiales disponibles para la reacción; por lo que el voltaje de la celda puede considerarse como un factor de intensidad (Winter and Brodd, 2004).

En una celda de combustible microbiana (CCM), se generará electricidad sólo si la reacción global es termodinámicamente favorable. La reacción en una CCM puede ser evaluada en términos de  $\Delta G$ , expresada en Joules, calculándose de acuerdo a la ecuación 3.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln (\Pi) \quad (3)$$

Donde T, es la temperatura absoluta (K), R es la constante universal de los gases ( $8.31447$  J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) y  $\Pi$ , es el cociente de reacción, calculado como las actividades de los productos entre las de los reactantes.

Para fines prácticos, es conveniente evaluar las reacciones de una CCM, en términos de la *fem* global, definida como la diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo,  $E_{fem}$  (V), el cual, está relacionado con el trabajo,  $W$  (J), producido por la celda, es decir:

$$W = E_{fem} Q = -\Delta G \quad (4) \quad \text{donde, } Q = nF \quad (5)$$

La ecuación 5 define a la carga transferida en la reacción (Q), expresada en Coulombs (C), la cual está determinada por el número de electrones intercambiados en la reacción. Sustituyendo (5) en (4), se obtiene:

$$E_{fem} = - \frac{\Delta G}{nF} \quad (6)$$

En términos de la ecuación (1), la  $E_{fem}$ , se puede expresar como:

$$E_{fem} = E^{\circ}_{fem} - \frac{RT}{nF} \ln(\Pi) \quad (7)$$

Mediante la ecuación 7, es posible predecir si el proceso estará favorecido termodinámicamente; es decir, un valor positivo de la  $fem$  indicará que el proceso será espontáneo (Logan et al., 2006). Para calcular los  $E_{fem}$ , se requiere conocer las semi-reacciones de los donadores (sustratos) y aceptores terminales de electrones utilizados en la CCM. En la **Tabla 1.1** se muestran las semi-reacciones de reducción y sus correspondientes potenciales  $E^{\circ}$  (V vs Ag/AgCl) para los sustratos utilizados en este estudio: acetato, propionato y butirato.

**Tabla 1.1: Semi-reacciones y potenciales  $E^{\circ}$  de reducción de acetato, propionato y butirato.**

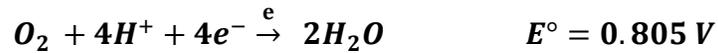
Sustrato	Semi-reacción	$E^{\circ}$ (V vs Ag/AgCl)
Acetato	$\frac{1}{8} CO_2 + \frac{1}{8} HCO_3^- + H^+ + e^- \rightarrow \frac{1}{8} CH_3COO^- + \frac{3}{8} H_2O$	-0.481
Propionato	$\frac{1}{7} CO_2 + \frac{1}{14} HCO_3^- + H^+ + e^- \rightarrow \frac{1}{14} CH_3CH_2COO^- + \frac{5}{14} H_2O$	-0.483
Butirato	$\frac{1}{20} HCO_3^- + \frac{3}{20} CO_2 + H^+ + e^- \rightarrow \frac{1}{20} CH_3CH_2CH_2COO^- + \frac{7}{20} H_2O$	-0.484

Los potenciales estándar ( $E^{\circ}$ ) de reducción son a condiciones de pH= 7 y T=25°C. Se asume que el  $E(V \text{ vs Ag/AgCl}) = 0.197 \text{ vs NHE}$ . Modificada de Torres et al., (2007).

Para obtener el valor teórico del potencial del ánodo,  $E_{An}$ , de cada sustrato se utiliza la ec. (7), modificada:

$$E_{An} = E_{An}^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln (\Pi) \quad (8)$$

En caso de utilizar al oxígeno como aceptor terminal de electrones, la semi-reacción correspondiente es la siguiente:



Mientras que la ecuación para obtener el potencial del cátodo,  $E_{Cat}$ , es la siguiente:

$$E_{Cat} = E_{Cat}^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln (\Pi) \quad (9)$$

Finalmente el  $E_{fem}$ , de la celda se calcula como:

$$E_{fem} = E_{cat} - E_{An} \quad (10)$$

Considerando las ecuaciones antes descritas, se puede decir ahora que un SBM se denomina, celda de combustible microbiana (CCM) si se genera electricidad y el cambio en la energía libre de Gibbs de la reacción correspondiente es negativo (reacción espontánea). Por otro lado, si el cambio en la energía libre de Gibbs de la reacción global es positivo, será necesario suministrar potencia o corriente al sistema para favorecer la reacción no espontánea, denominando al sistema celda de electrólisis microbiana (CEM) (Hamelers et al., 2009).

En el presente trabajo se utilizaron sistemas tipo CCM, por lo que se profundizará más en el diseño y funcionamiento de estos sistemas.

### 1.2.3 Celda de combustible microbiana (CCM).

Actualmente existe una gran diversidad de configuraciones y diseños de celda, la elección dependerá de los costos y características del proceso que se requiere estudiar. En el presente trabajo se utilizaron reactores de dos cámaras o tipo H, ya que aún siguen siendo dispositivos rentables para estudios a escala laboratorio.

Las CCMs de dos cámaras están compuestas por: ánodo, cátodo, soluciones electrolíticas (anolito y catolito), membrana de intercambio catiónico (opcional) y un circuito eléctrico o resistencia utilizada para unir los electrodos (ver **Figura 1.2**, en donde se esquematiza el funcionamiento de estos dispositivos). El uso de la membrana catiónica, permite mantener en compartimentos separados a los electrodos (ánodo y cátodo); el compartimento anódico se mantiene en condiciones anaerobias, mientras que el catódico es expuesto al aire.

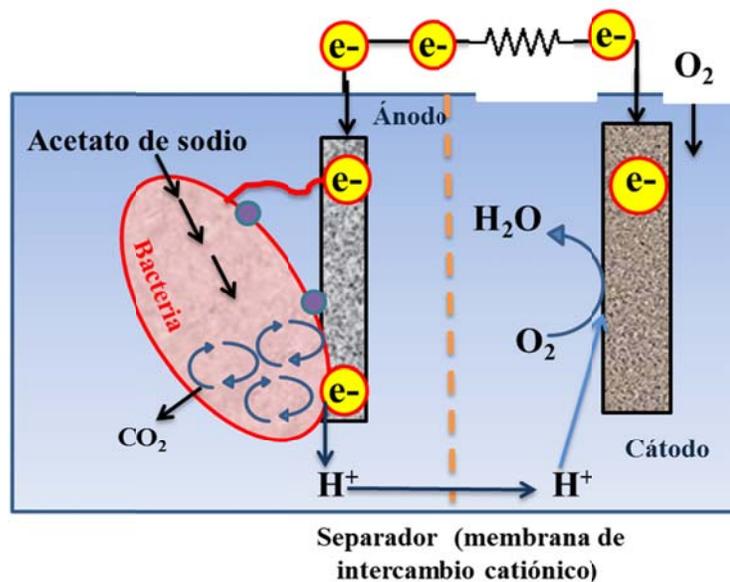


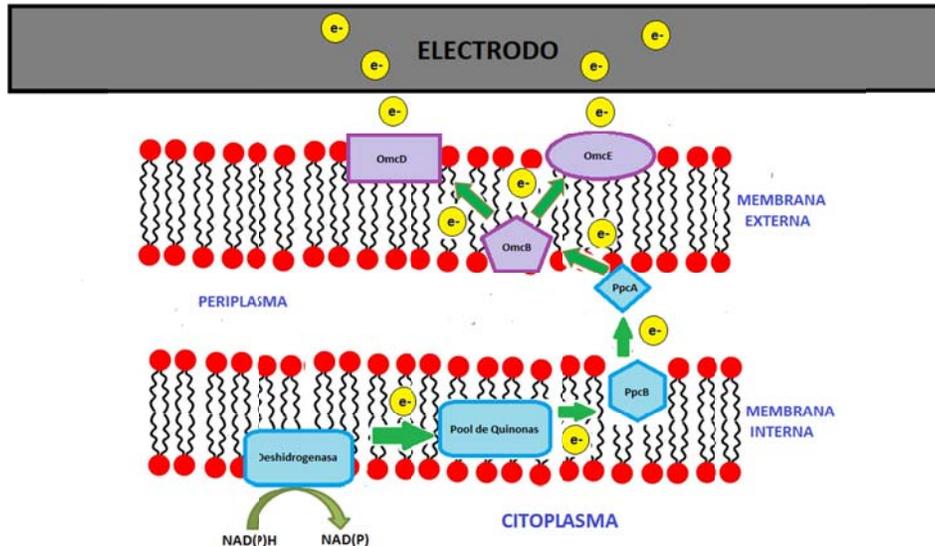
Figura 1.2: Esquema de operación de celda de combustible microbiana de dos cámaras.

La oxidación de la materia orgánica catalizada por las bacterias ocurre en el compartimento anódico, el proceso metabólico y la transferencia de electrones en el interior de la célula, permite por un lado generar ATP y otra fracción de electrones que son transferidos al ánodo; además de un exceso de protones que difunden a la solución. Una vez que los electrones son transferidos al ánodo pasan a través del circuito eléctrico (resistencia) hacia el cátodo. En la cámara catódica, los electrones se combinan con el

oxígeno y con los protones que difunden del ánodo (a través de la membrana de intercambio catiónico), dando como resultado la formación de agua (Logan et al., 2006; Zhao et al., 2009).

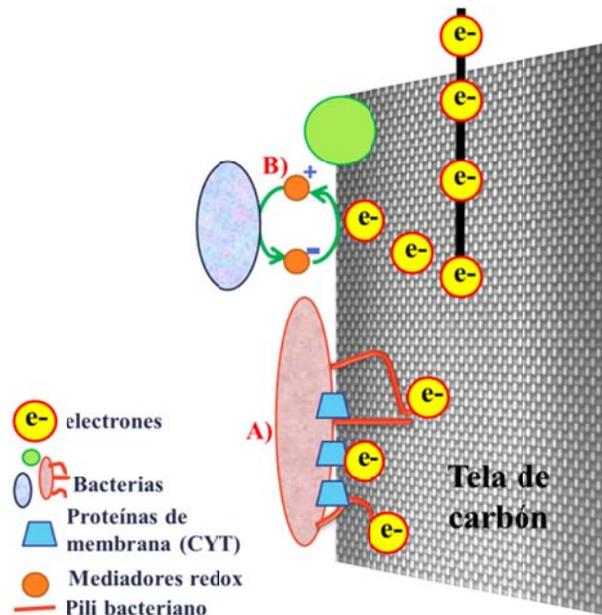
#### **1.2.4 Microorganismos electroquímicamente activos.**

Diversos estudios indican que la actividad metabólica más similar a la transferencia de electrones en SBM es la reducción desasimilatoria de metales (Bond et al., 2002; Chaudhuri et al., 2003; Bretschger et al., 2007). En ausencia de oxígeno, las bacterias reductoras desasimilatorias de metal (DMRB por sus siglas en inglés) transfieren sus electrones a un metal como el hierro o el manganeso, que actúa como aceptor terminal de electrones (Lovley, 1993). En una CCM, el hierro o el manganeso es sustituido por el ánodo, al cual las bacterias le transfieren los electrones generados debido a la oxidación de compuestos orgánicos; sin embargo, no todas las DMRBs son capaces de transferir electrones hacia el ánodo (Miller, 2008). Entre los tipos de reducción de metales posibles, la reducción de hierro es el proceso más cercano a lo que ocurre en una CCM. Dentro de las especies de microorganismos que se han reportado con actividad reductora del electrodo se encuentran *Clostridium*, *Geobacter*, *Aeromonas*, *Rhodospirillum rubrum*, *Desulfobulbus* y *Shewanella*, ya que todas estas son capaces de llevar a cabo la reducción desasimilatoria de metales -especialmente del hierro- (Bretschger et al., 2007). La transferencia de electrones inicia en el interior de las células bacterianas, a través de un complejo sistema de acarreadores de electrones y proteínas transmembranales del tipo citocromo, hasta llegar a la superficie del ánodo. En la **Figura 1.3**, se esquematizan los componentes involucrados en la transferencia de electrones para bacterias del genero *Geobacter sp.* (Du et al., 2007).



**Figura 1.3: Principales componentes del proceso de transferencia de electrones de *Geobacter sp.* al ánodo en una CCM. En el proceso se involucran acarreadores de electrones como NADH, quinonas y proteínas del tipo citocromos (Omc y PpC), modificado de Lovley et al., (2004).**

La transferencia de electrones al ánodo por bacterias electroquímicamente activas se ha explicado mediante dos mecanismos (ver **Figura 1.4**): A) transferencia directa por medio de estructuras bacterianas llamadas pilis y proteínas de membrana, y B) transferencia indirecta, utilizando mediadores redox solubles endógenos o exógenos (quinonas, flavonoides, etc) y/o mediante la conducción a través de la matriz de exopolisacáridos (EPS) de la biopelícula, (Logan, 2006; Lovley, 2008; Rittmann, 2008).



**Figura 1.4. Mecanismos de transferencia electrónica de bacterias electroquímicamente activas: A) Directos -mediante proteínas de membrana y pilis bacterianos- y B) Indirectos -mediadores redox endógenos o exógenos- (Logan, 2006; Lovley, 2008; Rittmann, 2008).**

Además de las especies mencionadas, en estudios recientes se ha encontrado un predominio de *Gama proteobacteria*, *Beta proteobacteria*, *Rhizobial*, y *Clostridia* en la superficie de ánodos (Lovley, 2008). La diversidad de microorganismos encontrados en estos sistemas depende de la fuente de inóculo, el sustrato utilizado y de las condiciones de operación de la celda.

Debido al alto costo operacional, el uso de cultivos puros no es práctico, por lo que se han estudiado diversas fuentes de inóculos mixtos. Los cultivos mixtos, provenientes de suelo, aguas residuales, lodos anaerobios y sedimentos, contienen cantidades significativas de bacterias electroactivas que se pueden utilizar como inóculos rentables para CCM. Sin embargo, en estos inóculos también están presentes bacterias no electroactivas (por ejemplo, bacterias metanogénicas, bacterias desnitrificantes etc.), las cuales consumen el sustrato orgánico sin la generación de electricidad. Por lo tanto, es importante determinar la diferencia entre cultivos puros y cultivos mixtos en términos de los efectos sobre la generación de energía y las características electrónicas de la CCM (es decir, resistencia interna, eficacia coulombica, la eficiencia de conversión de energía). Otro efecto importante relacionado al tipo de inóculo en CCM, es la formación de biopelículas electroactivas sobre los electrodos, ya que al utilizar el cultivo mixto, se tendrá una mayor diversidad de microorganismos. Si bien no todas las bacterias participan de forma activa en la generación de electricidad, se ha demostrado que estos inóculos remueven una mayor cantidad de materia orgánica, por lo que pueden ser utilizados para estudios de remoción de contaminantes en aguas residuales (Chae et al., 2009).

### **1.2.5 Biopelículas electroquímicamente activas.**

Uno de los procesos cruciales para la transferencia de electrones en la CCM, es la adhesión de las bacterias a la superficie del ánodo en forma de biopelículas electroquímicamente activas (BEAs). Este proceso ocurre espontáneamente, debido a interacciones electrostáticas, rugosidad del ánodo y sustancias poliméricas excretadas por las bacterias al entrar en contacto con la superficie del electrodo. Sin embargo, el proceso

es lento ya que puede tardar de 4 a 103 días dependiendo del inóculo, material del electrodo, cátodo, condiciones de operación, sustrato, etc. (Wang et al., 2009a).

Debido a que los tiempos de maduración de las BEAs pueden ser muy largos, se han propuesto metodologías para favorecer la adhesión de las bacterias a la superficie del electrodo. A estos métodos se les denomina en conjunto procesos de aclimatación al ánodo. Según, Babauta et al., (2012) existen 4 procesos para aclimatar cultivos al ánodo y formar BEAs maduras:

- 1) Circuito cerrado: consiste en conectar una resistencia externa entre el bioánodo en formación y el cátodo, para mantener el circuito cerrado.
- 2) Circuito abierto: los electrodos se mantiene desconectados.
- 3) Potencial de celda controlado: consiste en aplicar un potencial determinado, entre el bioánodo y el cátodo.
- 4) Potencial de electrodo controlado: en este caso se aplica un potencial constante de polarización entre el bioánodo y un electrodo de referencia.

Dentro de estas metodologías, el potencial de electrodo controlado, ha demostrado ser de los más eficientes, con un menor tiempo de aclimatación al ánodo. Convencionalmente, los potenciales aplicados a los ánodos, más utilizados son de 0.1 V y 0.2 V vs Ag/AgCl, con los que se ha logrado obtener buenos desempeños en CCM, además de que permite estabilizar en un menor tiempo la BEA (Harnisch et al., 2013; Wang et al., 2009a).

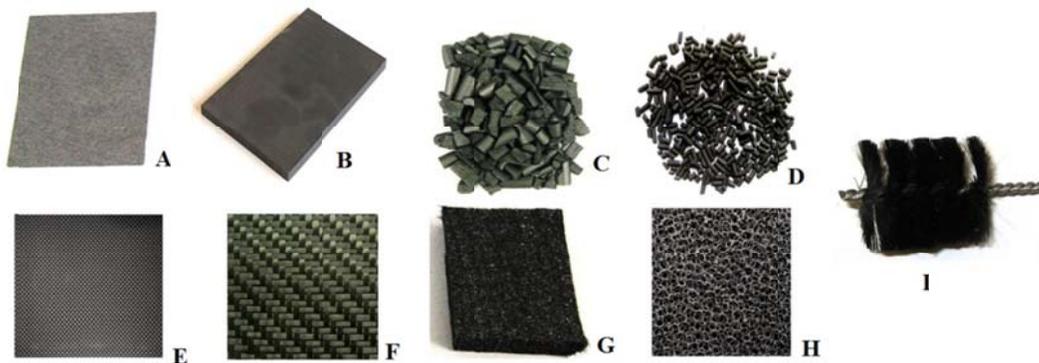
Como se ha visto hasta ahora, existen diversos factores que repercuten en el desarrollo y electroactividad de las BEAs. En la siguiente sección se explorarán los materiales que se han utilizado como electrodos para el desarrollo de BEAs y contraelectrodos o cátodos.

### 1.2.6 Materiales de carbón utilizados como electrodos en CCM.

Los materiales utilizados como electrodos en CCM deben poseer las siguientes propiedades: biocompatibilidad, buena conducción eléctrica, químicamente estables, elevada resistencia mecánica y de bajo costo. Los materiales a base de carbón cumplen todos estos requerimientos, convirtiéndose en la opción más viable en estudios bioelectroquímicos. A continuación se describen las principales características de materiales carbonáceos anódicos y catódicos:

#### a) Materiales carbonáceos anódicos.

Existe una gran variedad de configuraciones de materiales a base de carbón que pueden ser utilizados como ánodos (ver **Figura 1.5**), dentro de las cuales se encuentran materiales empacados, fibras de carbón en forma de cepillo y materiales de estructura plana. En este último grupo es donde se encuentra una mayor variedad de materiales, por ejemplo: fieltro de carbón, papel de carbón, malla de carbón, placas de grafito y tela de carbón (Kumar et al., 2013).



**Figura 1.5.** Fotografías de diferentes materiales de carbón utilizados como ánodos en CCM. A) papel de carbón, B) placa de grafito, C) grafito granular, D) carbón activado granular, E) tela de carbón, F) malla de carbón, G) fieltro de carbón, H) carbón vítreo reticulado y I) fibras de carbón en forma de cepillo. Tomada de Wei et al., (2011).

Debido a la gran diversidad de materiales que pueden ser utilizados en estudios bioelectroquímicos, resulta muy complejo comparar sus desempeños en SBM, para poder hacerlo es necesario considerar su origen, el diseño de la celda, así como el sustrato y la

fuelle del inóculo. Dentro de este marco, los materiales de estructura plana, ofrecen ciertas ventajas en comparación con las otras configuraciones. El uso de materiales planos permite la aplicación de técnicas electroquímicas, mediante las cuales es posible explicar los fenómenos de transferencia electrónica y de transferencia de masa que ocurren antes y después de la formación de la BEA, y que constituyen las etapas fundamentales de un mecanismo de reacción electroquímico.

#### **b) Materiales carbonáceos catódicos.**

El cátodo limita considerablemente el desempeño de la CCM, por lo que su elección representa un paso importante al realizar un estudio bioelectroquímico. La mayoría de los materiales antes mencionados como ánodos, pueden ser utilizados como cátodos, la elección del mismo dependerá de la configuración del sistema; es decir, si se utiliza una CCM de dos cámaras, o de una sola cámara. En una celda de dos cámaras el cátodo se encuentra sumergido en la solución electrolítica, mientras que en la celda de una cámara el cátodo permanece expuesto directamente al aire. Los cátodos sumergidos son construidos de materiales como papel carbón, tela de carbón o fieltro de carbón, entre otros y su desempeño está limitado por la solubilidad del oxígeno en el catolito. Los cátodos al aire, consisten en materiales a los que se les aplican capas de compuestos conductores que al estar expuesto directamente al aire incrementan considerablemente el desempeño de la CCM (Zhou et al., 2011).

En los sistemas utilizados para el desarrollo experimental de este trabajo, se utilizó un cátodo sumergido, por lo que no se esperan los mejores rendimientos en la generación de corriente y por lo tanto solo son comparables con sistemas de características similares. Además de que no se usa platino, un material ya conocido como buen electrocatalizador de la reacción de reducción de oxígeno.

### 1.2.7 Modificaciones superficiales de ánodos.

Recientemente, se han implementado diversas modificaciones a los materiales anódicos, con la finalidad de facilitar la adhesión bacteriana e incrementar la transferencia electrónica. Los métodos de tratamiento incluyen: a) tratamientos físicos y químicos superficiales, b) adición de capas de materiales altamente conductores y c) formación de compositos grafito-metal. La elección del método dependerá del objetivo principal del estudio y del balance de costos del proceso (Wei et al., 2011).

Los tratamientos superficiales, especialmente los métodos físicos, han mostrado mejoras importantes en el desempeño de SBM a costos de producción bajos. Tal es el caso del tratamiento térmico, en el que los ánodos son sometidos a altas temperaturas, desde 450 hasta 650 °C durante cortos periodos de tiempo (30 min). En la **Tabla 1.2**, se muestran los estudios en los que se ha realizado este tratamiento, lográndose mejoras en los rendimientos de las CCM, los cuales van desde el 3% hasta el 200% en la densidad de potencia alcanzada.

**Tabla 1.2: Características de los sistemas y mejoras en los desempeños obtenidos en CCM con la modificación térmica de ánodos.**

Material base	Temperatura (°C) / tiempo de tratamiento (min).	Fuente de inóculo	Configuración de CCM	Efecto en el desempeño	Referencia
Malla de carbón	450/30	Bacterias pre-aclimatadas de una CCM activa.	Celda de una sola cámara (cátodo al aire)	Incremento del 3% en la densidad de potencia. 22% EC.	(Wang et al., 2009b)
Fibras de carbón en forma de cepillo	450/30	Aguas residuales domésticas.	Celda de una sola cámara (cátodo al aire)	Incremento del 25% en la densidad de potencia. 20% EC.	(Feng et al., 2010)
Tela de carbón	450/30	Lodos anaerobios de reactor UASB	Celda de dos cámaras.	Incremento del 200% en la densidad de potencia.	(Cai et al., 2012)
Tela de carbón	636 /30	Aguas residuales domésticas	-	Incremento del 78% en la corriente máxima. 2.41 % EC	(Cercado et al., 2013a)

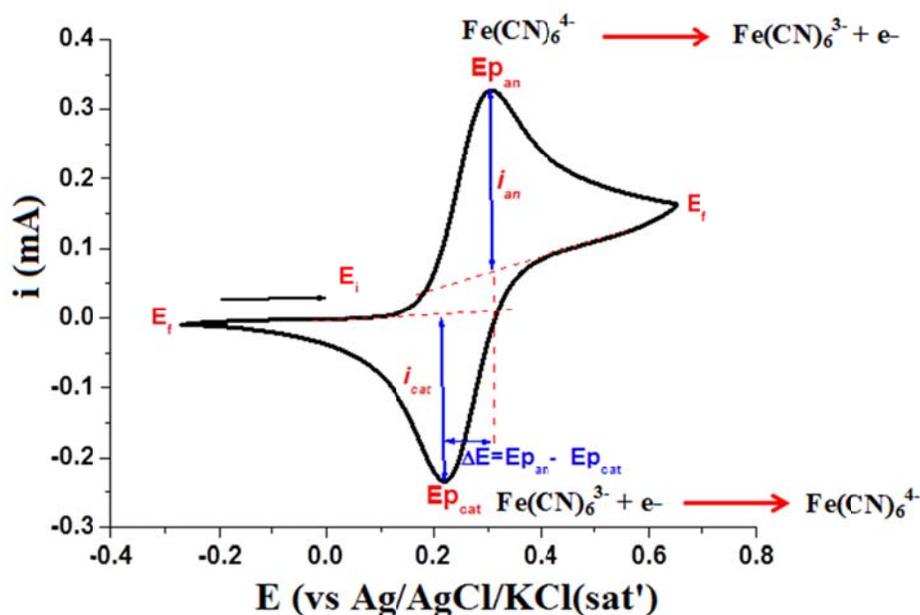
Los resultados de los trabajos mostrados en la **Tabla 1.2**, indican que el incremento en el desempeño de las CCM puede ser atribuido a modificaciones en la superficie de los electrodos, generando una mejor adhesión bacteriana debido a un incremento en la relación de N/C en la superficie del ánodo (Cai et al., 2012). Por otro lado, Wang et al., (2009b) relacionaron el cambio en la densidad de potencia, a modificaciones en la actividad electroquímica de los electrodos, originadas por un aumento del 190% en el área electroquímicamente activa y del 44% en los coeficientes de transferencia de carga, como resultado del tratamiento térmico a los electrodos de tela de carbón. Para calcular el área electroquímicamente activa y los coeficientes de carga, utilizaron la voltamperometría cíclica en una solución de ferrocianuro de potasio. Adicionalmente se han realizado estudios de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés), que permiten determinar la capacitancia del material, la resistencia a la transferencia de electrón, la resistencia asociada con procesos de transporte de masa por difusión.

A continuación se describirá, brevemente el fundamento de la voltamperometría cíclica y de un estudio de espectroscopía de impedancia electroquímica, tanto para el estudio de electrodos desnudos, como de biopelículas electroquímicamente activas.

#### **a) Voltamperometría cíclica:**

La voltamperometría cíclica (VC) es una técnica básica en estudios electroquímicos, en la que se realiza un barrido de potencial (E) en dirección anódica o catódica, obteniéndose una respuesta en corriente (i). Es utilizada para investigar los mecanismos de transferencia electrónica así como para evaluar el desempeño de los materiales anódicos en SBM (Fricke et al., 2008). Los experimentos de VC, requieren generalmente de un arreglo de tres electrodos, en la que el material de estudio (ánodo) es usado como electrodo de trabajo (ET); otro electrodo se utiliza como contraelectrodo (CE) y además se utiliza un electrodo testigo o de referencia (ER). Los resultados de un estudio voltamperométrico, se muestran mediante graficas de corriente (i) vs potencial (E), llamadas voltamperogramas,

como la que se muestra en la **Figura 1.6**; donde se presenta la respuesta voltamperométrica reversible del ferrocianuro de potasio ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ).



**Figura 1.6:** Respuesta voltamperométrica del  $K_4[Fe(CN)_6]$  y su proceso electroquímicamente reversible, donde se muestran los parámetros voltamperométricos más importantes: potenciales de pico ( $E_p$ ), corrientes de pico ( $i_p$ ) y la diferencia de potencial de pico ( $\Delta E_p$ ).

Por otro lado, es posible obtener una serie de parámetros voltamperométricos que podrían correlacionarse con las modificaciones originadas por el tratamiento realizado a los electrodos, como la presencia de grupos oxigenados con actividad redox como las quinonas (Zoski, 2007).

Otra de las aplicaciones de la VC, es en el estudio de BEA, en donde los picos de oxidación/reducción de la respuesta voltamperométrica se asocian con la presencia de mediadores redox y/o a la actividad de las proteínas del tipo citocromo. En la **Figura 1.7 (A y B)** se muestra la respuesta voltamperométrica obtenida por Fricke et al., (2008), en el estudio de biopelículas de *Geobacter sulfurreducens*, mientras que en la **Figura 1.7 C** se presenta la respuesta obtenida en un bioanódo con una comunidad microbiana mixta obtenida por Rabaey et al., (2004), donde se evidencia la presencia de compuestos con actividad redox endógenos.

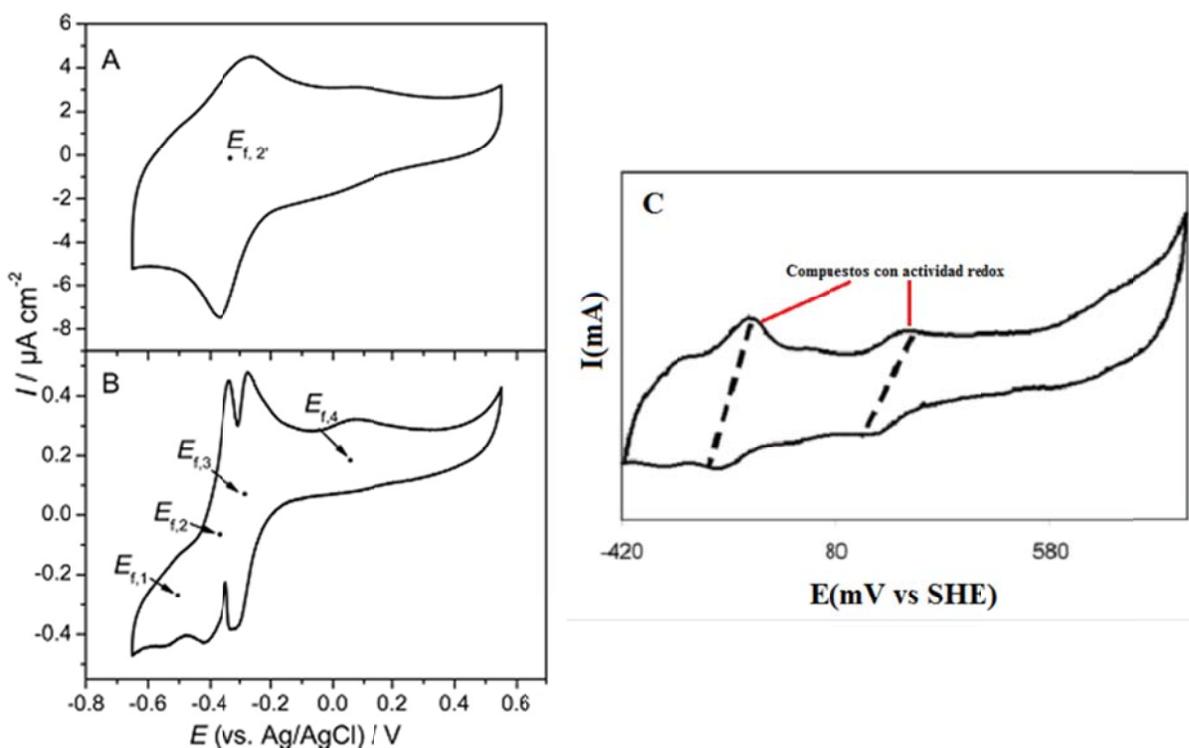


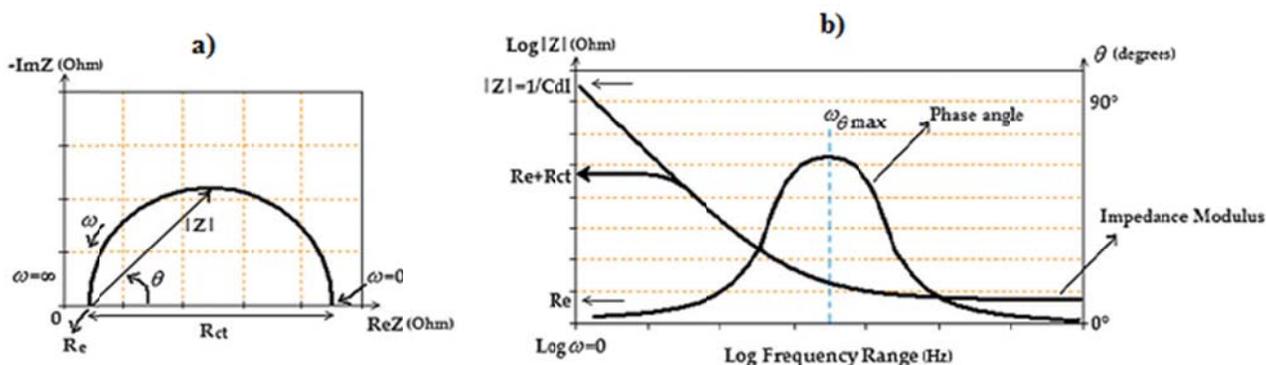
Figura 1.7: Respuesta voltamperométrica de biopelículas electroquímicamente activas. A) y B) cultivo puro de *Geobacter sulfurreducens*, el voltamperograma fue obtenido en el medio cultivo sin sustrato, a una velocidad de barrido de A)  $50 \text{ mV s}^{-1}$  y B)  $1 \text{ mV s}^{-1}$ , tomada de Fricke et al., (2008). La respuesta C), se obtuvo con un bioanódo originado por un cultivo microbiano mixto sin adición de mediadores redox, las líneas punteadas indican la relación entre los picos correspondientes a compuestos con actividad redox endógenos (Rabaey et al., 2004).

### B) Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).

Los estudios de impedancia electroquímica consisten en aplicar pequeñas perturbaciones eléctricas al electrodo midiendo su respuesta a diferentes frecuencias. Las perturbaciones tienen que ser lo suficientemente pequeñas como para obtener una relación corriente-potencial lineal. Los experimentos de EIS comprenden los siguientes pasos: 1) la celda electroquímica se somete a perturbaciones eléctricas de baja amplitud de forma periódica (usualmente sinusoidal), 2) se obtiene una respuesta eléctrica a lo largo de un intervalo de frecuencias de la perturbación, 3) se elabora un circuito eléctrico equivalente y 4) por último se relacionan los componentes del circuito eléctrico equivalente con las características físicas y químicas del sistema electroquímico. En los circuitos eléctricos convencionales, la impedancia de una celda electroquímica ( $Z$ ) se define con la siguiente ecuación (Zoski, 2007):

$$Z_{cel} = \frac{E_{cel}}{i_{cel}} \quad (11)$$

Donde  $E_{cel}$  es el voltaje a través de la celda e  $i_{cel}$ , es la corriente que circula por la celda. Las mediciones de EIS permiten estudiar los mecanismos de transferencia electrónica, fenómenos de transferencia de masa y la distribución de propiedades heterogéneas, tanto en electrodos desnudos como en los que se ha formado una BEA. Una de las principales aplicaciones es en la determinación de la resistencia interna en CCM, utilizándola como un parámetro para mejorar el diseño de las celdas (Domínguez-Benetton et al., 2012). En la **Figura 1.8** se muestran los gráficos de Nyquist y Bode con las respuestas de impedancia.



**Figura 1.8:** Respuesta típica de impedancia. a) Gráfico de Nyquist: eje de la componente real de la impedancia ( $ReZ$ ) vs el negativo de eje de la componente imaginaria de la impedancia ( $-ImZ$ ), b) gráfico de Bode: ángulo de fase ( $\Theta$ ) y módulo de la impedancia ( $|Z|$ ) vs la frecuencia ( $\omega$ ) como una variable independiente (Domínguez-Benetton et al., 2012).

### 1.2.8 Parámetros para evaluar el desempeño de CCM.

El potencial de los electrodos (ánodo o cátodo) se determina midiendo el voltaje contra un electrodo con potencial conocido, que se denomina electrodo de referencia. El electrodo de referencia más utilizado en experimentos bioelectroquímicos es el electrodo de referencia de  $Ag/AgCl$ , debido a su estabilidad y no toxicidad. En una solución saturada de  $KCl$  a  $25\text{ }^{\circ}C$  el ER de  $Ag/AgCl$  tiene un potencial de  $+0.197\text{ V}$  vs el electrodo normal de Hidrógeno (NHE) (Bard and Faulkner, 2001).

El rendimiento global de una CCM puede ser evaluado de diferentes maneras, principalmente por la potencia de salida y la eficiencia coulombica. La potencia de salida, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$P = IE_{CCM} \quad (12)$$

Normalmente el voltaje de la celda ( $E_{CCM}$ ) es medido a través de una resistencia externa fija ( $R_{ext}$ ), mientras que la corriente es calculada a partir de la ley de Ohm:

$$I = \frac{E_{CCM}}{R_{ext}} \quad (13)$$

Entonces la potencia es calculada como:

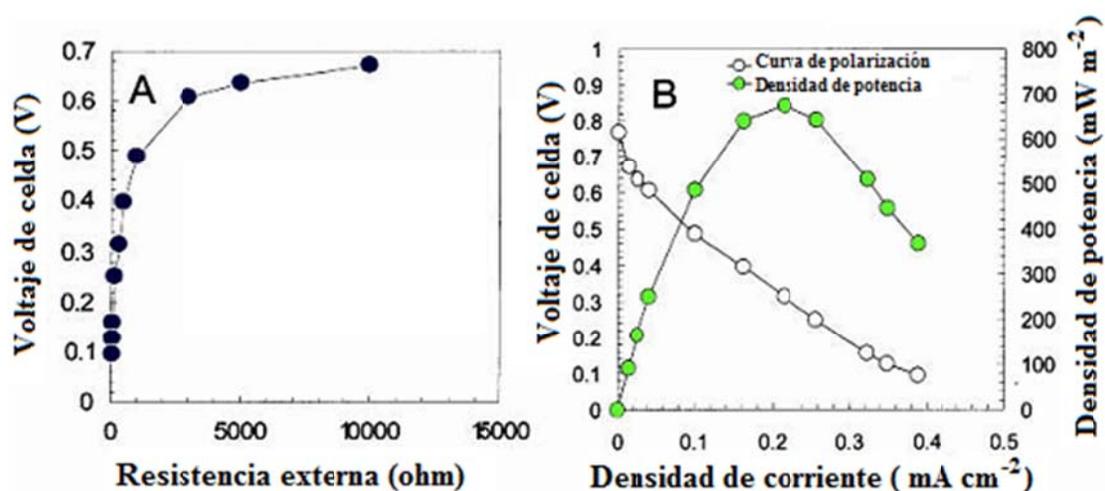
$$P = \frac{E_{CCM}^2}{R_{ext}} \quad (14)$$

Generalmente el valor de la potencia de la CCM se normaliza con alguna característica del reactor, con la finalidad de realizar comparaciones con otros sistemas. En la literatura es común que esta se encuentre en referencia al área proyectada del ánodo, debido a que en este electrodo es donde ocurren todas las reacciones biológicas. Sin embargo otros autores sugieren al cátodo, ya que regularmente el proceso es limitado por el proceso de reducción. Para relacionar la potencia con el área de los electrodos se utilizan las siguientes ecuaciones:

$$P_{An} = \frac{E_{CCM}^2}{R_{ext} \cdot A_{An}} \quad (15) \quad P_{Cat} = \frac{E_{CCM}^2}{R_{ext} \cdot A_{Cat}} \quad (16)$$

Donde  $P_{An}$  y  $P_{Cat}$ , son las densidades de potencia ( $W m^{-2}$ ) del ánodo y cátodo respectivamente, mientras que  $A_{An}$  y  $A_{Cat}$ , representan las áreas del ánodo y cátodo. También es posible normalizar la potencia con el volumen del reactor (V), al sustituir el área por el volumen en las ecuaciones anteriores (Logan et al., 2006).

La potencia máxima alcanzada por una celda se determina mediante curvas de potencia y de polarización. Las curvas de polarización y potencia son las principales herramientas para analizar y caracterizar celdas de combustible. Una curva de polarización es utilizada para caracterizar la corriente como una función del voltaje. Al cambiar la resistencia externa del circuito se obtendrá un nuevo valor de voltaje y el correspondiente en corriente, mediante el cálculo con la ecuación 13. Por lo consiguiente, para obtener la curva de polarización se utiliza una serie de resistencias externas, midiendo el voltaje en cada resistencia, como se muestra en la **Figura 1.9 A** (Logan, 2008).



**Figura 1.9.** A) curva de polarización valores del voltaje de la celda se obtienen al cambiar la resistencia externa en el circuito y B) curva de potencia o de densidad de potencia, correspondiente a los valores de voltaje medidos, tomada de Logan, et al., (2008).

La curva de potencia o de densidad de potencia, se calcula a partir del voltaje medido, mediante la ecuación 14 o con las ecuaciones 15 y 16. Mediante esta curva es posible determinar la potencia máxima alcanzada por la celda en un tiempo determinado (ver **Figura 1.9 B**).

Las curvas de polarización se dividen en tres zonas (ver **Figura 1.10**): a) zona de pérdidas por activación, al inicio desde el potencial de circuito abierto (OCV) a corriente cero, b) zona de pérdidas óhmicas, en esta zona el voltaje cae lentamente y la caída tiene un comportamiento lineal con la corriente y c) zona de pérdidas por concentración, en la que el

voltaje cae rápidamente a valores de corriente altos; esta zona está dominada por procesos de transferencia de masa (Logan, 2008).

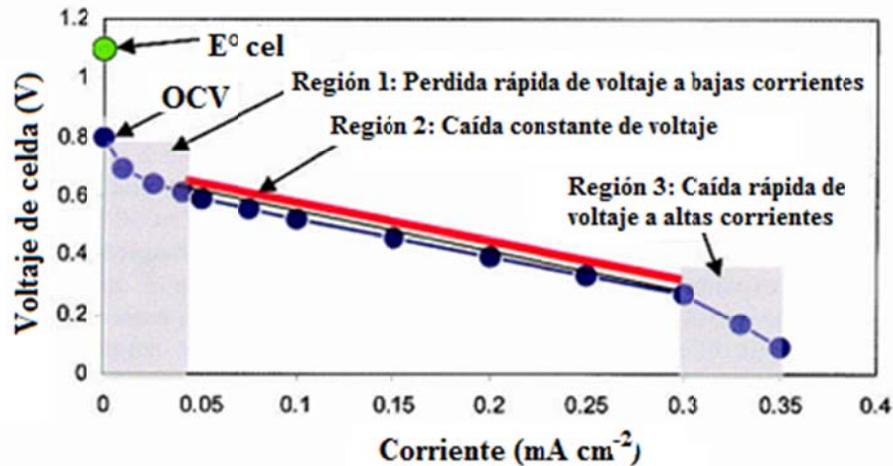


Figura 1.10: Curva de polarización, en donde se muestran 3 regiones con los procesos que contribuyen a una pérdida o reducción de la corriente útil. Tomada de Logan, et al., (2008).

La medición del voltaje de circuito abierto (OCV) es el máximo voltaje que puede obtenerse con el sistema, con las limitantes impuestas por los cultivos bacterianos y el potencial de circuito abierto (OCP) obtenido por el cátodo, este puede medirse directamente con ayuda del potenciostato o un multímetro.

Otro parámetro utilizado para presentar el desempeño de la CCM es la eficiencia coulombica ( $C_E$ ), que se define como la fracción o porcentaje de electrones recuperados y asociados con la carga (coulombs) contra los coulombs máximos obtenidos si todo el sustrato es removido. Matemáticamente la  $C_E$  se define como:

$$\%C_E = \frac{C_P (\text{Coulombs recuperados})}{C_T (\text{Coulombs en el sustrato})} \quad (17)$$

Donde  $C_p$  representa el total de coulombs obtenidos ( $1 \text{ c} = 1 \text{ Ampere.seg}$ ), calculados mediante la integral de la corriente a lo largo del tiempo y  $C_T$ , la cantidad de coulombs teóricos que pueden obtenerse si todo el sustrato removido genera corriente.  $C_T$  se calcula, mediante la siguiente ecuación:

$$C_{Ti} = \frac{F \cdot b_i \cdot S_i v}{M_i} \quad (18)$$

donde la especie  $i = (a)$  acetato,  $(p)$  propionato o  $(b)$  butirato,  $F$  es la constante de Faraday (96485C/mol.e),  $b_i$  es el número de moles de electrones producidos por mol de sustrato, en el caso de los sustratos que se probaron en este estudio:  $b_a = 8$ ,  $b_p = 12$  y  $b_b = 20$  (ver reacciones en **Tabla 1.1**).  $S_i$ , representa la concentración del sustrato y  $M_i$  el peso molecular del sustrato ( $M_a = 60.05$ ,  $M_p = 74.08$  y  $M_b = 88.11$ ) (Jeong et al., 2008).

### 1.2.9 Aplicaciones de las CCM.

Las CCM se encuentran en un proceso continuo de investigación y desarrollo. La intensa investigación que se ha venido realizando por diversos grupos de investigación a nivel mundial, ha logrado grandes avances en el desarrollo de las CCM y se han encontrado usos alternativos para esta tecnología.

Recientemente, el tratamiento bioelectroquímico de aguas residuales ha emergido como una tecnología potencialmente interesante para la producción de energía a partir de aguas residuales. Los microorganismos electroquímicamente activos son capaces de transferir electrones extracelularmente y pueden usar este mecanismo para transferir electrones a un electrodo mientras oxidan la materia orgánica presente en las aguas residuales.

Las aguas residuales provenientes de la industria, la agricultura y de uso doméstico contienen materia orgánica disuelta que requiere ser removida antes de ser descargada al ambiente. Actualmente, existen procesos para remover los contaminantes orgánicos presentes en aguas de desecho, la mayoría de estos procesos son tratamientos aeróbicos, los cuales consumen grandes cantidades de energía en el proceso de aeración. Sin embargo, el tratamiento de aguas residuales ha empezado a ser reconocido como una fuente renovable

para la producción de electricidad lo cual podría emplearse para el mismo proceso de tratamiento de efluentes (Aelterman et al., 2006, Logan & Reagan, 2006).

Además de la generación de energía eléctrica en las CCM y la producción de hidrogeno en las CEM, los SBM pueden ser utilizados para la remoción de contaminantes recalcitrantes y emergentes. Convirtiéndose en alternativas sustentables para el tratamiento de efluentes contaminados, con la posibilidad de generar energía en el mismo proceso.

### **1.3 Remoción de contaminantes emergentes en CCM y Naproxeno sódico como contaminante emergente.**

Los SBM pueden ser utilizados como una alternativa final en el tratamiento de contaminantes recalcitrantes o como parte de una etapa de pretratamiento. Un gran número de contaminantes han sido investigados como sustratos en SBM, dentro de los cuales se encuentran: nitrobenzeno, piridina, colorantes (rojo congo, naranja ácido-7), indol, 4-clorofenol, tricloroetano, 1,2-dicloroetano. Sin embargo, existen muy pocos reportes sobre la aplicación de SBE en la remoción de contaminantes emergentes (Huang et al., 2011).

Los contaminantes emergentes orgánicos o también llamados microcontaminantes, son compuestos orgánicos traza de origen antropogénico, que presentan alta recalcitrancia. La mayoría de estos compuestos son biológicamente activos, aún a concentraciones de ng/L o µg/L. Dentro de este grupo de contaminantes se encuentran: plaguicidas, herbicidas, disruptores endocrinos y los productos de higiene personal, fármacos, fragancias, etc.

Las descargas a cuerpos de agua de fármacos, provenientes de plantas farmacéuticas así como de su aplicación en la medicina humana y veterinaria, colocan a los fármacos como contaminantes emergentes con altos riesgos ecotoxicológicos. Muchas de estas sustancias solo son removidas parcialmente en las plantas de tratamiento, por lo que llegan intactas al ambiente. Además, algunos subproductos de su degradación, son más tóxicos y persistentes que los precursores, como los fotoproductos de la prednisona (DellaGreca et

al., 2003). Bajo este contexto, los SBM se han utilizado como una alternativa en el tratamiento de contaminantes emergentes del tipo farmacéutico.

Existen pocos antecedentes de la aplicación de CCM en el tratamiento de contaminantes emergentes. Por ejemplo, la degradación de penicilina fue estudiada en una CCM de una sola cámara usando como co-sustrato glucosa a una concentración de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , obteniendo una densidad de potencia máxima de  $101.2 \text{ W m}^{-3}$  con una mezcla de  $1 \text{ g L}^{-1}$  de glucosa +  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de penicilina y una degradación del 98% en 24 h (Wen et al., 2011b). Por otro lado la degradación del antibiótico ceftriaxona de sodio, también fue estudiada en una CCM de una sola cámara, utilizando como co-sustrato glucosa a una concentración de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , con una generación máxima de densidad de potencia de  $113 \text{ W m}^{-3}$  y una remoción del 91% en 24 h (Wen et al., 2011a).

Hasta ahora los fármacos pertenecientes al grupo de los antibióticos han sido los más estudiados en procesos de remoción bioelectroquímica. Sin embargo los fármacos pertenecientes al grupo de los anti-inflamatorios no esteroideos (AINES), se encuentran a menudo dentro de los contaminantes más persistentes y tóxicos en el ambiente. Aunado a esto, los AINES son uno de los grupos de fármacos más ampliamente distribuidos y utilizados a lo largo del mundo. Algunos de los miembros más importantes de este grupo son: ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, ketoprofeno, etc (Méndez-Arriaga et al., 2008).

Dentro de este grupo el naproxeno sódico ha sido detectado en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas en concentraciones de  $\mu\text{g L}^{-1}$ , y en ríos y cuerpos de agua superficiales también ha sido detectado. En México su consumo es de aproximadamente  $1 \text{ g}$  per cápita al año, lo que se traduce en grandes cantidades desechadas al ambiente. Siemens et al., (2008), encontraron que las concentraciones de naproxeno en el efluente del Valle del Mezquital, Estado de México, podrían ser mayores  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , colocando al naproxeno junto a otras sustancias como un potencial riesgo de contaminación de aguas subterráneas.

Alguno de los métodos hasta ahora utilizados para el tratamiento de efluentes contaminados con naproxeno y otros residuos farmacéuticos son tecnologías que a menudo requieren un consumo considerable de energía y/o productos químicos, por ejemplo, la cloración, la irradiación UV, nanofiltración, ozonización, filtración con carbón activado, biofiltración y la descomposición electroquímica usando electrodos de diamante dopado con boro (Klavarioti et al., 2009; Méndez-Arriaga et al., 2008; Reungoat et al., 2011).

De forma simultánea, se han propuesto los SBM, propiamente en su modalidad de celdas de combustible microbianas (CCM), como alternativas sustentables para el tratamiento de estos residuos. En diversos estudios se ha logrado de forma exitosa acoplar el proceso de generación de energía eléctrica y remoción de microcontaminantes, hasta ahora los compuestos estudiados incluyen: antibióticos (sulfonamidas, penicilina y ceftriaxona de sodio) y hormonas (estrógenos) (Harnisch et al., 2013; Kiran Kumar et al., 2012; Wen et al., 2011a, 2011b).

#### **1.4 Justificación.**

Mediante la integración de un proceso biológico y la oxidación/reducción electroquímica, los SBM, han surgido como una promisorio tecnología con creciente interés científico. Además, son tecnologías de bajo costo, ambientalmente sostenibles, con bajos requerimientos operacionales y con la posibilidad de generar productos de valor agregado como energía eléctrica, combustibles y productos químicos.

Su aplicación en procesos de biodegradación de contaminantes emergentes, aún es incipiente, considerando el daño al ambiente generado por los microcontaminantes, específicamente los de origen farmacéutico. Por otro lado, las plantas de tratamiento actuales no están diseñadas para el tratamiento de este tipo de residuos, por lo que es necesario investigar la viabilidad de otros sistemas, como lo son las CCM.

Los analgésicos son ampliamente consumidos tanto en la medicina humana como en la veterinaria y los residuos de estas sustancias aún no tienen una regulación, siendo desechados de forma indiscriminada en el ambiente tanto por la industria como en los hogares. Por lo anterior, el presente trabajo plantea el uso de una CCM en la remoción de un microcontaminante del tipo farmacéutico, naproxeno sódico, para lo cual se desarrollarán biopelículas electroquímicamente activas en CCM, sobre electrodos de tela de grafito modificados térmicamente. Mediante el tratamiento térmico se espera obtener biopelículas con una mayor actividad electroquímica en un menor tiempo, las cuales puedan ser evaluadas para la remoción del naproxeno sódico.

## **1.5 Hipótesis.**

El tratamiento térmico de los ánodos incrementará su desempeño electroquímico y favorecerá la biotransformación de naproxeno sódico en celdas de combustible microbianas.

## **1.6 Objetivos**

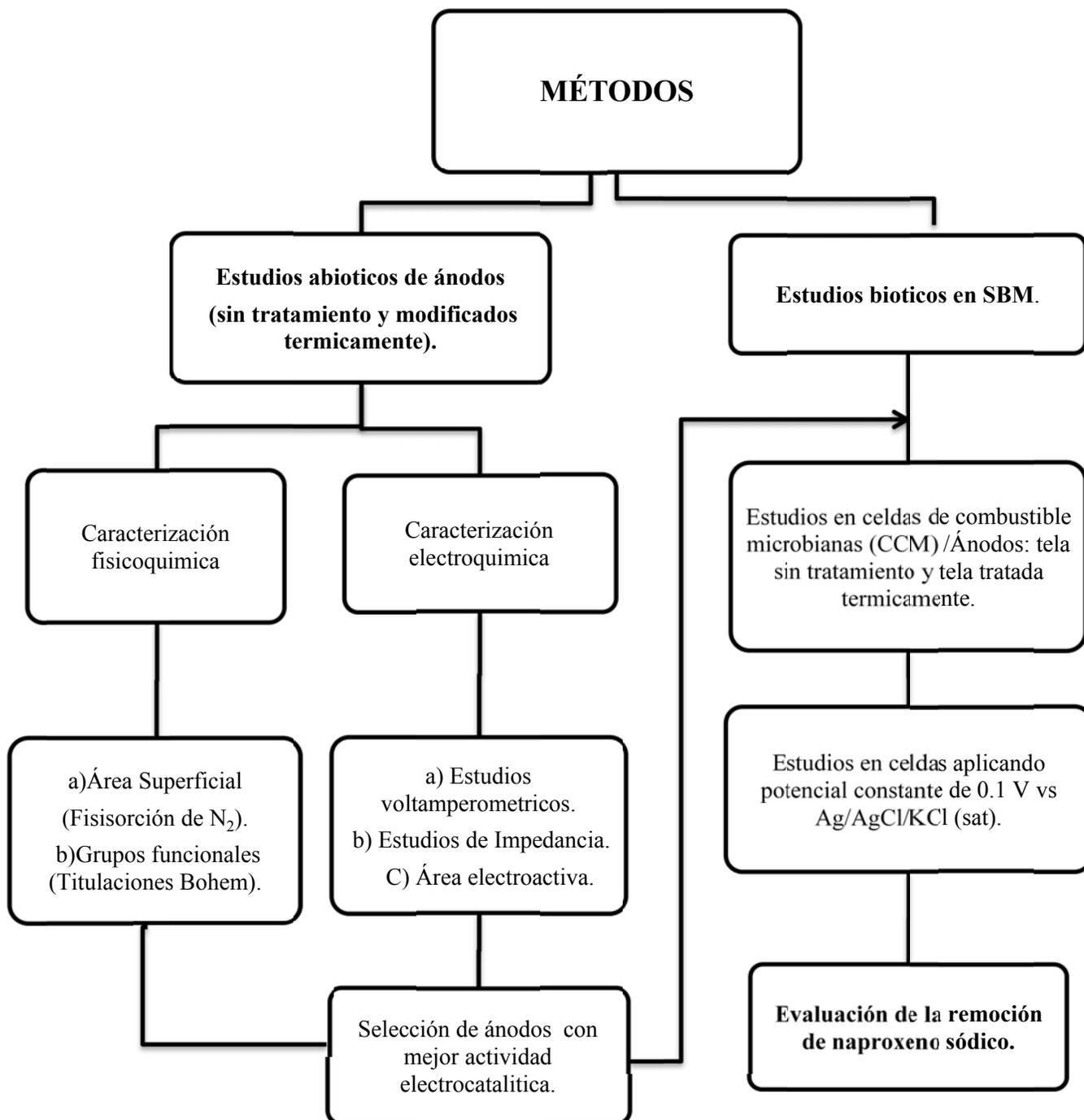
### **1.6.1 Objetivo general.**

Evaluar la remoción de naproxeno sódico acoplada al proceso de generación de energía eléctrica en celdas de combustible microbianas, utilizando ánodos tratados térmicamente.

### **1.6.2 Objetivos específicos.**

- Determinar las propiedades fisicoquímicas y electroquímicas de los materiales de grafito utilizados como ánodos en los SBM.
- Determinar el efecto del tratamiento térmico en el desempeño de la CCM, utilizando una mezcla de ácidos grasos volátiles como sustratos primarios.
- Estudiar la formación de biopelículas electroquímicamente activas mediante la aplicación de potenciales anódicos constantes de 0.1 V.
- Determinar el efecto del sustrato y el potencial anódico en la remoción del naproxeno sódico.
- Caracterizar los SBM mediante técnicas electroquímicas: espectroscopia de impedancia electroquímica y voltamperometría cíclica.
- Evaluar la remoción de naproxeno sódico en los sistemas con biopelículas generadas de manera espontánea en CCM y de manera asistida aplicando potencial constante de 0.1 V.

## Capítulo II. Materiales y Métodos.



## 2. Materiales y métodos.

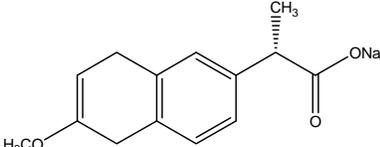
La metodología que se siguió para llevar a cabo el presente trabajo, se dividió en dos secciones principales: a) estudios abióticos y b) estudios bióticos. En las secciones 6.1 y 6.2 se describen los materiales y métodos, utilizados en los estudios abióticos y bióticos (respectivamente).

### 2.1 Estudios abióticos.

#### 2.1.1 Reactivos.

Los diferentes compuestos químicos utilizados en el desarrollo experimental de este trabajo se enlistan en la **Tabla 2.1**:

**Tabla 2.1: Especificaciones de los compuestos químicos utilizados en la metodología experimental.**

Nombre compuesto	Formula	Especificaciones
Ferrocianuro de potasio o hexaciano ferrato de potasio (II) trihidratado.	$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$	Sal del anión complejo ferrocianuro y el catión potasio; marca Aldrich con una pureza del 98.5%.
Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanoico o naproxeno sódico.	$C_{14}H_{14}O_3Na$ 	Fármaco que pertenece al grupo de los AINES (Antinflamatorios no esteroideos). El naproxeno utilizado fue de la marca Aldrich, con una pureza del 98%, peso molecular de 252.24 g mol <sup>-1</sup> y un pKa de 4.2.
Nitrato de potasio	$KNO_3$	Sal utilizada como electrolito soporte en todos los experimentos electroquímicos.

**Nota:** El resto de las sustancias utilizadas se describen en las secciones correspondientes.

### 2.1.2 Material de electrodos y tratamiento.

El material que se utilizó para fabricar los ánodos fue tela de grafito y para los cátodos fieltro de grafito, ambos adquiridos a través de la empresa ROOE, S.A de C.V. las especificaciones técnicas de los materiales se muestran en la **Tabla 2.2**.

**Tabla 2.2: Especificaciones técnicas de la tela y fieltro de grafito, utilizados para la fabricación de los ánodos y cátodos, respectivamente.**

Propiedad	Tela de grafito	Fieltro de grafito
Densidad ( $\text{g cm}^{-3}$ )	1.38-1.56	0.08-0.09
Área superficial ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	1	0.65
Ceniza (%)	0.5 máx.	0.025
Esfuerzo a la tensión ( $\text{kg cm}^{-1}$ )	11.5	2.3
Resistividad ( $\Omega \text{cm}^{-2}$ )	0.054-0.093	-
Espesor (mm)	0.6	6.4
Tejido	Liso	-

. El tratamiento de la tela de grafito consistió en un calentamiento en mufla a  $630^\circ\text{C}$  durante 30 min. El fieltro de grafito fue utilizado sin realizar ninguna modificación o tratamiento Todas las pruebas descritas a continuación se realizaron en tela de grafito sin tratamiento (ST) y tratada térmicamente (TT°).

### 2.1.3 Caracterización Fisicoquímica.

La caracterización fisicoquímica de los ánodos, consistió en las determinaciones de área superficial y grupos funcionales (sitios activos):

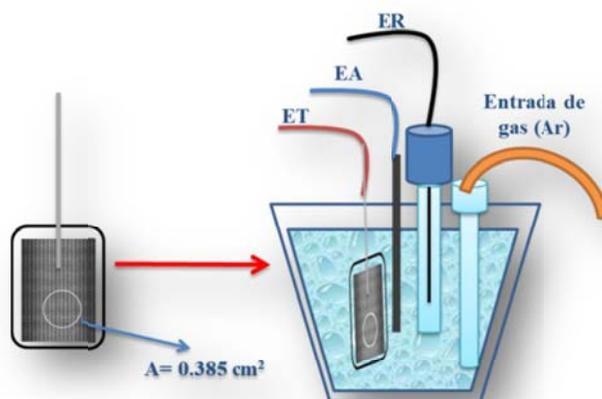
- a) El área superficial, el diámetro y el volumen de poro se determinaron mediante isotermas de adsorción y desorción de nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) a 77 K con el equipo de fisorción ASAP 2020 (Micromeritics). El tamaño de los poros se evaluó en base a la clasificación de la IUPAC: a) microporos con un diámetro interno menor de 2nm, b) mesoporos, entre 2 y 50 nm y c) macroporos mayor de 50nm.
- b) Determinación de grupos funcionales mediante titulaciones Boehm: se basa en titulaciones ácido-base, utilizando la cantidad de 0.1 g del material en 25 mL de

solución neutralizante, los cuales se colocaron en tubos de propileno de 50 mL, se sellaron y se dejaron en agitación constante a 150 rpm durante 5 días. Pasado el tiempo, la solución se filtró y se tituló con una solución de HCl 0.1 N o con solución de NaOH 0.1N. Mediante la titulación con HCl 0.1N se detectan grupos básicos; mientras que con NAOH 0.N se determinan grupos con características ácidas.

Las metodologías en extenso así como las ecuaciones utilizadas para cada una de las determinaciones se encuentran en el anexo 5.2.4 y 5.2.5.

#### 2.1.4 Estudios electroquímicos.

Los electrodos de trabajo (ET) se elaboraron utilizando telas de grafito (con y sin tratamiento térmico) y alambre de titanio con un grosor de 0.81mm con el que se realizaron las conexiones. La nomenclatura que se utilizará para denominar a cada electrodo es la siguiente: E-TT° (electrodo tratamiento térmico) y E-ST (electrodo sin tratamiento). Para facilitar la manipulación de la tela y aislar las conexiones, los electrodos fueron plastificados, obteniendo electrodos rígidos con un área expuesta de  $0.385 \text{ cm}^2$  (**Figura 2.1**)



**Figura 2.1:** Esquema de electrodo de trabajo (ET) de tela de carbón plastificado (izquierda) y celda cónica (derecha) con arreglo de tres electrodos (ET: electrodo de trabajo, EA: electrodo auxiliar y ER: electrodo de referencia).

Los experimentos electroquímicos fueron realizados con un potenciostato VSP Modular de 5 canales (potenciostato/Galvanostato/EIS), de la marca Bio-Logic Science

Instruments. El arreglo experimental consistió en un sistema de 3 electrodos, colocado en una celda cónica de vidrio de 50 mL. El sistema de referencia (ER) utilizado, fue un electrodo de Ag/AgCl/KCl(sat) de la marca Radiometer Analytical, que se colocó en un puente salino con la misma solución electrolítica de trabajo correspondiente. Como electrodo auxiliar (EA) se utilizó una barra de grafito conectada mediante un alambre de cobre. Las soluciones en la celda cónica fueron desoxigenadas utilizando un flujo de Argón durante 10 min antes de iniciar los experimentos y entre cada determinación (ver **Figura 2.1**).

Para comparar los resultados obtenidos con los ánodos de tela de carbón, se utilizó un electrodo de carbón vítreo como ET. El electrodo de carbón vítreo (E-Cvi) es un electrodo con geometría plana y área aproximada de  $0.071 \text{ cm}^2$ , por lo que fue utilizado como referencia para tratar de determinar las áreas electroactivas de las telas de grafito, empleando un estándar electroquímico ferrocianuro de potasio.

A continuación se describe la metodología que se siguió para: a) determinación de área electroactiva, b) determinación de actividad electrocatalítica y c) evaluación de potencial de oxidación de naproxeno sódico (NPX) en medio acuoso.

**a) Determinación de área electroactiva de electrodos de tela de grafito mediante cronoamperometría.**

El área electroactiva se determinó mediante la técnica electroquímica de cronoamperometría/cronocoulometría. Para lo cual se utilizó una solución 10 mM de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  en 1 M de  $\text{KNO}_3$ . En este proceso se aplicó un potencial de 400 mV vs Ag/AgCl/KCl(sat) al ET a diferentes tiempos ( $t = 0.2, 0.4, 0.6, 0.8$  y  $1.0$  s). Este valor de potencial se seleccionó de la respuesta voltamperométrica que se muestra en la **Figura 1.6** en la región donde el proceso de oxidación del  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  está controlado por la difusión. La respuesta obtenida al paso del potencial (400 mV), dio una corriente ( $i$ ) frente al tiempo ( $t$ ), la cual está caracterizada en la etapa inicial por la ecuación de Cottrell:

$$i = \frac{nFAD^{1/2}C^*}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad (18)$$

Donde, n es igual al número de electrones transferidos, F es la constante de Faraday, A es el área del electrodo,  $C^*$  es la concentración de  $K_4Fe(CN)_6$  y D, el coeficiente de difusión. El coeficiente de difusión se calculó utilizando el electrodo de carbón vítreo como ET, obteniéndose un valor de  $3.37 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Dada la ecuación se esperaría que una gráfica de  $i$  vs  $t^{-1/2}$  presente una relación lineal cuya pendiente es igual  $nFACD^{1/2}\pi^{-1/2}$ , de la cual se obtiene un valor para el área en  $\text{cm}^2$  del electrodo de trabajo.

**b) Determinación de actividad electrocatalítica del electrodo de tela de grafito mediante voltamperometría cíclica.**

La finalidad de este estudio fue la obtención de parámetros voltamperométricos ( $I_{pa}/I_{pc}$  y  $\Delta E$ ) relacionados con la oxidación electroquímica del estándar  $K_4Fe(CN)_6$ , sobre las telas de grafito con y sin tratamiento térmico.

Para realizar el estudio voltamperométrico se utilizaron soluciones con  $K_4Fe(CN)_6$  10 mM +  $KNO_3$  1 M como electrolito soporte. Todos los experimentos se realizaron en soluciones saturadas de argón y a temperatura ambiente ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Las velocidades de barrido a las que se realizaron los experimentos fueron: 1, 5, 25, 50 y  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Adicionalmente se efectuaron estudios voltamperométricos utilizando como solución electrolítica, la solución que se utilizaría en la cámara anódica es decir el anolito (ver composición en sección ) y en  $KNO_3$  1 M, para estudiar el efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades electroquímicas de los materiales de carbón. Las velocidades de barrido a las que se llevaron a cabo los experimentos fueron: 1, 5, 25, 50 y  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

**c) Oxidación electroquímica de naproxeno sódico.**

Para determinar el potencial de oxidación del naproxeno sódico (NPX) en medio acuoso, se realizaron una serie de VC, utilizando una solución 10 mM de NPX en 1 M de  $\text{KNO}_3$  como electrolito soporte. La velocidad de barrido en estos experimentos fue de  $5 \text{ mV s}^{-1}$ , tanto en dirección anódica como catódica.

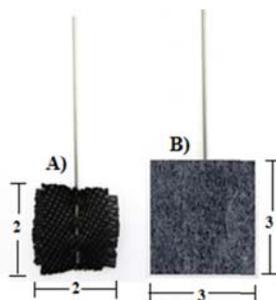
## 2.2 Estudios bióticos en SBM.

### 2.2.1 Inóculo.

Como inóculo para todos los experimentos se utilizó, lodo proveniente del digester aerobio de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas, ubicada en el parque Tangamanga I, de la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P. La concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el lodo fue de  $5.93 \text{ g L}^{-1}$ .

### 2.2.2 Electrodo.

Los electrodos que se utilizaron en los experimentos biológicos fueron elaborados con la tela de grafito sin tratamiento y con tratamiento térmico, para el ánodo y fieltro de carbón como cátodo. Ambos fueron adquiridos con la empresa ROOE, S.A de C.V. En todas las conexiones de los electrodos se utilizó alambre de Titanio, con un grosor de 0.81 mm para el ánodo y 2.0 mm para el cátodo (**Figura 2.2**).



**Figura 2.2:** Fotografías de los electrodos utilizados en las celdas de combustible microbianas: A) Ánodo de tela de grafito y B) cátodo de fieltro de grafito.

Las especificaciones técnicas de la tela de grafito y el fieltro de grafito utilizadas, se encuentran en la **Tabla 2.2** (sección 2.1.2).

### 2.2.3 Diseño de celdas de combustible microbianas (CCM).

Los SBM utilizados, consistieron en celdas de dos cámaras, en donde se colocaron los electrodos, ánodo (cámara anódica) y cátodo (cámara catódica), los cuales permanecieron separados por una membrana de intercambio catiónico. La membrana catiónica, fue del tipo Ultrex de la marca Membranes International Inc., modelo CMI-7000, en la **Tabla 2.3** se muestran las especificaciones técnicas del modelo utilizado.

**Tabla 2.3: Especificaciones técnicas de la membrana de intercambio catiónico, modelo CMI-7000.**

Especificaciones técnicas	CMI-7000
Funcionabilidad	Membrana de intercambio catiónico de ácido fuerte.
Estructura polimérica	Gel de poliestireno reticulado con divinilbenceno
Grupo funcional	Ácido sulfónico
Grosor (mm)	0.45±0.025
Resistencia eléctrica (Ohm.cm <sup>2</sup> ) / 0.5 ml/L NaCl	<30
Permselectividad(%) 0.1mol KCl/kg / 0.5ml KCl/kg	94
Capacidad de intercambio total (meq/g)	1.6±0.1
Permeabilidad de agua (ml/hr/ft <sup>2</sup> )	<3
Rango de estabilidad de pH	1-10

La activación de las membranas se realizó, colocándolas en vasos de precipitados de 100 mL con 50 mL de solución de NaCl al 1% a 40 °C en baño maría durante 12 h. Esto se realizó para todo el material utilizado en los diferentes SBM.

### 2.2.4 Anolito y catolito.

El medio mineral utilizado en la cámara anódica denominado anolito, poseía la siguiente composición (g L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>Cl (0.31), KCl (0.13), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2.69), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (4.33), 12.5 mL de solución de vitaminas y 12.5 mL de solución de elementos traza (ver **Tabla 2.4**), el pH se ajustó a pH=7 con una solución estándar de NaOH 0.1N o HCL 0.1N.

**Tabla 2.4: Composición de las soluciones de vitaminas y elementos traza, utilizadas en el buffer de fosfatos o anolito.**

Solución de Vitaminas		Solución de elementos traza	
Compuesto	g L <sup>-1</sup>	Compuesto	g L <sup>-1</sup>
Biotina	0.002	NTA	2.14
piridoxina HCl	0.01	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.1
ác. pantotenico	0.005	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
ác. p-aminobenzoico	0.005	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.3
ác. fólico	0.002	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.03
riboflavina	0.005	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.17
ác. nicotínico	0.005	NiSO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.005
B-12	0.0002	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0.005
Ác. tióctico	0.005	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.1057
		Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.0995
		AlK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .12H <sub>2</sub> O	0.02

El buffer utilizado en la cámara catódica denominado catolito, tenía la siguiente composición (g L<sup>-1</sup>): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (4.33), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2.69) y KCl (3.58), el pH final del medio fue de 7.0 y se ajustó con una solución estándar de NaOH 0.1 N o HCL 0.1 N.

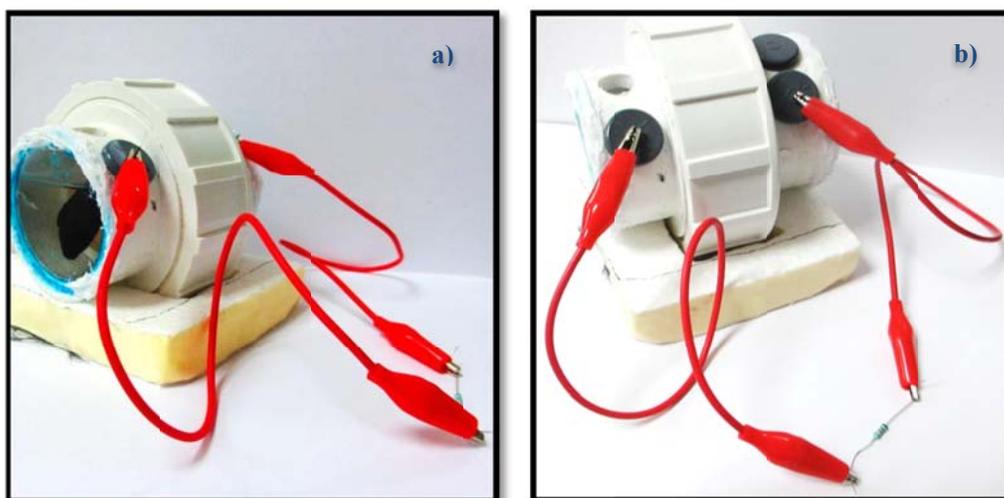
El proceso de formación de la biopelícula electroactiva en las CCM se realizó mediante la adición de 10% V/V de lodos como inóculo, en la cámara anódica. La fuente de carbono fue una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGVs): ácidos acético, propiónico y butírico, a una concentración final de 500 mg<sub>DQO</sub> L<sup>-1</sup>, cada ácido en proporción 1:1:1.

### 2.2.5 Operación de las celdas de combustible microbianas (CCM):

#### a) CCM-ST y CCM-TT°:

Se utilizaron 2 reactores con un volumen de 60mL, elaborados con conexiones de tubería de policloruro de vinilo (PVC). En la **Figura 2.3** se observan fotografías de dichos reactores. Las dimensiones de los electrodos fueron: ánodo (2.0x2.0 cm) y cátodo (3.0x3.0 cm), con una separación de 5.5 cm aprox. Los electrodos fueron conectados entre sí, mediante una resistencia externa de 1000 Ω. Las CCM fueron alimentadas en lote, permitiendo la evolución de ciclos de generación de potencia de celda. Al finalizar cada ciclo se realizó el cambio de medio electrolítico en ambas cámaras. El término de cada

ciclo se determinó al observar una caída en la potencia de celda, la cual fue calculada mediante curvas de polarización, utilizando una serie de resistencias externas con valores desde 50 K $\Omega$  hasta 1  $\Omega$ . Para realizar las mediciones las CCM se conectaron al potencióstato, en modo de potencial de circuito abierto (OCV). El cambio del medio en la cámara anódica, se realizó en una cámara anaerobia. La celda con electrodo sin tratamiento se denominó CCM-ST mientras que la celda con electrodo tratado térmicamente se denominó como CCM-TT°.



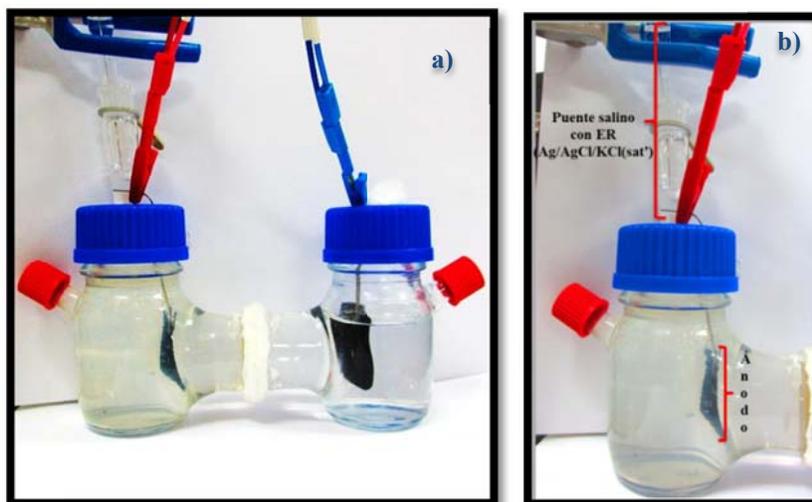
**Figura 2.3: Fotografías de los dispositivos de PVC empleados como CCM: a) vista lateral y b) vista superior de los reactores.**

En estos sistemas se probaron los ánodos sin tratamiento y con tratamiento térmico (con duplicados de cada sistema), para seleccionar el ánodo con mejor desempeño, el cual sería utilizado en la CCM a la que se le aplicaría un potencial constante de 0.1 V.

#### **b) CCM con potencial constante de 0.1 V (CCM-0.1 V):**

Para este modo de operación se utilizó un reactor de vidrio con un volumen de trabajo de 150 mL. En la **Figura 2.4** se observa una fotografía de la CEM utilizada. Las dimensiones de los electrodos fueron: ánodo (2.5 x 2.5 cm) y cátodo (3.5 x 3.5 cm). En la cámara anódica se colocó un puente salino para colocar dentro el ER Ag/AgCl/KCl(sat)

que contuvo la misma solución anolito pero sin AGVs. La biopelícula electroactiva se desarrolló aplicando un potencial constante de 0.1 V vs Ag/AgCl/KCl(sat).



**Figura 2.4: Fotografías de la CCM-0.1 V: a) celda de vidrio tipo H y b) cámara anódica con arreglo de ER de Ag/AgCl/KCl(sat).**

El sistema se operó en lote, la duración de cada ciclo se determinó al observar una caída en la corriente o hasta que esta alcanzaba el nivel de corriente inicial. Según lo reportado por Harnisch et al., (2013), se requieren de 3 a 4 ciclos de operación para considerar que se tiene una biopelícula madura, la cual puede ser expuesta al contaminante de estudio. Este sistema fue monitoreado de forma permanente con el potencióstato/galvanostato Bio-logic, utilizando la siguiente secuencia de experimentos:

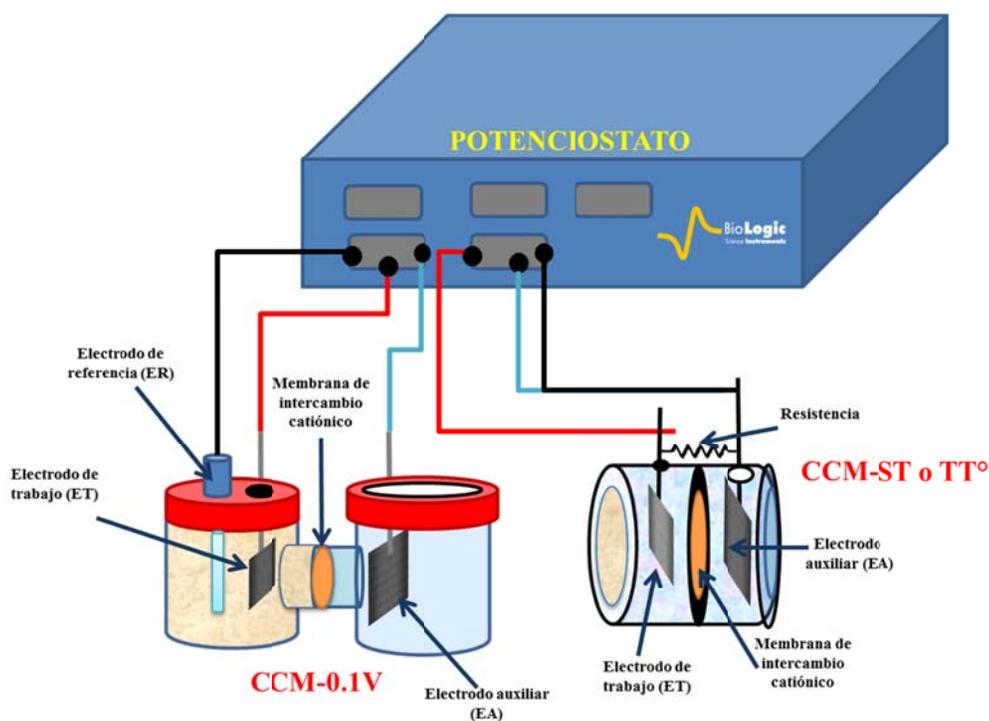
- 1.- Potencial de circuito abierto (OCV), durante 2 h.
- 2.- Espectroscopia de impedancia electroquímica (PEIS), con las siguientes condiciones:  
Frecuencia inicial: 100 kHz . Frecuencia final: 10mHz hasta 1 mHz.
- 3.- OCV durante 15 min.
- 4.- PEIS.
- 5.- OCV durante 15 min.
- 6.- PEIS.
- 7.- OCV durante 15 min.

8.- Voltamperometría cíclica: se realizó un barrido a  $1 \text{ mV s}^{-1}$  iniciando en el OCV anterior, en un intervalo de 1 hasta -1 V iniciando el barrido en dirección anódica y terminando en dirección catódica el ciclo.

9.- OCV durante 30 min.

10.- Cronoamperometría: en esta técnica se aplicó el potencial anódico constante de 0.1 V Ag/AgCl/KCl(sat).

Como se mencionó anteriormente todos los sistemas fueron monitoreados con el potencióstato, tal y como se muestra en la **Figura 2.5**. En el caso de las CCM el electrodo auxiliar (EA) se utilizó como referencia para monitorear el voltaje producido y realizar las técnicas electroquímicas como la voltamperometría cíclica e impedancia se colocó el ER de Ag/AgCl/KCl(sat) en la cámara anódica.



**Figura 2.5:** Esquema del monitoreo de las celdas de combustible microbianas con el potencióstato.

### 2.2.6 Cuantificación de naproxeno sódico.

Posterior a la formación de las biopelículas electroactivas en los SBM (CCM y CEM) se procedió a realizar los estudios de remoción del contaminante. Las concentraciones que se utilizaron para evaluar la remoción del contaminante fueron: 5 y 10 ppm. Para evaluar la remoción del NPX se utilizó espectroscopia UV-Vis, estableciendo una curva de calibración de 1 a 10 ppm. Mediante un barrido de exploración se encontró que el NPX, tenía un pico máximo de absorción a  $\lambda=230$  nm. Se tomaron muestras durante los ciclos en cada sistema, evaluando la remoción.

Adicionalmente se utilizó cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a un detector con arreglo de diodos (HPLC-DAD/FD), con las siguientes condiciones de operación:

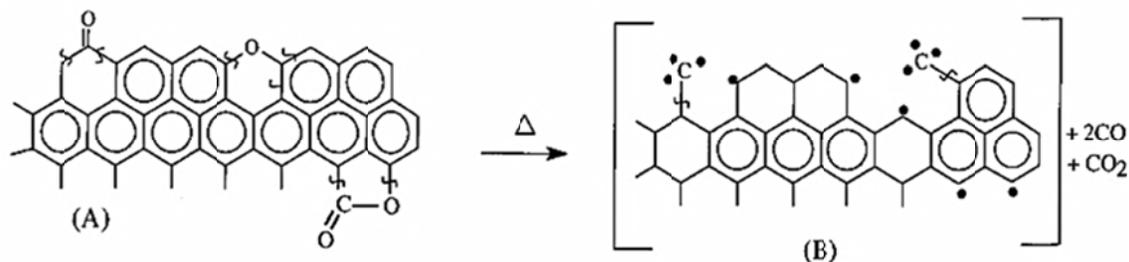
- Columna: Synergi Hidro-RP
- Temperatura de columna: 30 °C
- Fase móvil: Acetonitrilo (ACN). 0 min 30%ACN, 3 min 60%ACN, 5 min 70%ACN y 6 min 90%ACN
- Flujo: 1 mLmin<sup>-1</sup>

# Capítulo III. Discusión de Resultados.

## 3. Resultados y Discusión.

### 3.1 Efecto del tratamiento térmico en la superficie de los ánodos.

Para explicar las modificaciones originadas por el tratamiento térmico de las telas de grafito, se utilizó el modelo propuesto por Menéndez et al., (1996), para la estabilización de superficies de carbón posterior a un tratamiento térmico ( $\Delta T$ ). En la **Figura 3.1**, se muestra dicho modelo, en el que la estructura A, representa las principales características en los bordes de un carbón cristalino con grupos pírenos y lactónicos (en la que no se incluyen los grupos carboxílicos y fenólicos, debido a que estos sufren el mismo proceso durante el tratamiento). Mediante el tratamiento térmico se elimina el oxígeno en forma de  $\text{CO}_2$  (a bajas temperaturas principalmente) y  $\text{CO}$  (a altas temperaturas), dando origen a la estructura B), una estructura inestable con átomos de carbono insaturados en los bordes, los cuales son susceptibles de reaccionar con el oxígeno del aire (durante el enfriamiento de los materiales en una atmósfera no controlada), formando nuevos grupos oxigenados (Menéndez et al., 1996).



**Figura 3.1:** Esquema del modelo propuesto para describir el efecto del tratamiento térmico en superficies de carbón, A) superficie típica de bordes en carbón cristalino y B) estructura generada por el tratamiento térmico. Tomado de Menéndez et al., (1996).

El tratamiento térmico realizado, en este trabajo consistió en un calentamiento hasta  $630\text{ }^\circ\text{C}$ , mediante el cual se espera que los grupos oxigenados más inestables sean removidos de la superficie del material, ya que estos se descomponen a temperaturas entre  $200$  y  $450\text{ }^\circ\text{C}$  formando  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . La estructura intermedia inestable del carbón al entrar

en contacto con el oxígeno del aire se esperaría que diera origen a nuevos grupos oxigenados del tipo carbonilo y fenólico, los cuales repercutirían en las propiedades eléctricas y fisicoquímicas de la tela de grafito; aunado a las modificaciones físicas (rugosidad) ocasionadas durante el tratamiento (Polovina et al., 1997).

En las siguientes secciones se discutirán los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica y electroquímica de la tela de grafito, sin tratamiento (ST) y tratada térmicamente (TT°), para luego dar paso a la sección de resultados de su aplicación en los SBM.

### 3.2 Área superficial de ánodos.

Mediante la ecuación Brunauer-Emmett-Teller, se obtuvieron las áreas específicas de los materiales de grafito, así como la distribución del tamaño de poro. En la **Tabla 3.1** se muestran los resultados obtenidos, en dicho análisis.

**Tabla 3.1: Resultados del análisis de fisorción de nitrógeno (N<sub>2</sub>) de las telas de grafito.**

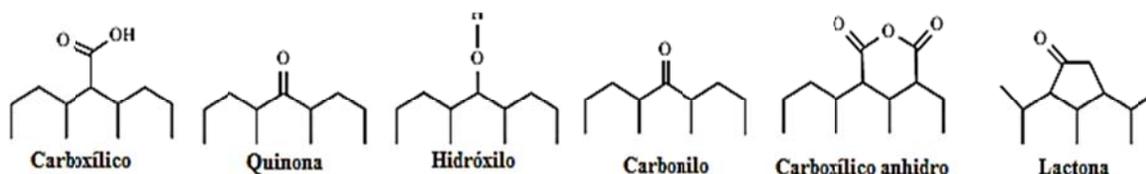
Parámetros	Tela de grafito (ST)	Tela de grafito (TT°)
Área específica $S_{BET}$ (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	0.52	14.39
Volumen total microporo (cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	0.0001	0.002
Volumen total mesoporo (cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	0.001	0.010
Volumen total de poro (cm <sup>3</sup> g <sup>-1</sup> )	0.002	0.012

Como se observa en la **Tabla 3.1**, la tela ST tiene un área específica de 0.52 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> y posterior al tratamiento se alcanzó un área de 14.39 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Esto indica que el tratamiento térmico a 630 °C modificó la microestructura de la tela de grafito, lo que se traduce en un incremento en el área superficial y la distribución del tamaño de poro (Biniak et al., 1994). Si bien el área del material tratado es baja, comparada con la de un carbón activado (300-2,000 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) esta puede repercutir en fenómenos de adsorción de proteínas u otras moléculas de menor tamaño, lo cual podría influir en la formación de biopelículas electroquímicamente activas (BEA) y por lo tanto en las etapas primarias de colonización de los ánodos en las celdas de combustible (Liu et al., 2010). Adicionalmente, se ha

demostrado mediante estudios de microscopía electrónica, que posterior al tratamiento térmico se generan defectos en la superficie del material, como un incremento en la rugosidad, que posiblemente contribuya a la adhesión de las bacterias (Cercado et al., 2013).

### 3.3 Determinación de grupos funcionales en ánodos.

En la literatura se ha reportado que la naturaleza y concentración de grupos funcionales en la superficie de materiales de carbón puede ser modificada por diversos tratamientos físicos y químicos (Shen et al., 2008). El estudio de grupos funcionales en materiales carbonáceos, utilizados como ánodos en SBM no tiene ningún antecedente; sin embargo, en diversos estudios electroquímicos, se han relacionado con una mayor actividad electrocatalítica (Biniak et al., 1994). En la **Figura 3.2** se esquematizan los principales grupos funcionales encontrados en la superficie de materiales de carbón.



**Figura 3.2:** Principales grupos funcionales encontrados en la superficie de carbón (las estructuras hexagonales representan anillos aromáticos) (Shen et al., 2008).

Los grupos funcionales determinados en la tela de grafito ST y TT°, se muestran en la **Tabla 3.2**.

**Tabla 3.2:** Concentración de grupos funcionales oxigenados superficiales de las telas de grafito ST y TT° (ND: No detectables).

Materiales	Grupos funcionales (meq g <sup>-1</sup> )					
	Carboxílicos	Lactónicos	Fenólicos	Carbonilos	Ac. Totales	Básicos
ST	0.057	0.170	0.335	ND	0.562	0.531
TT°	0.085	0.199	ND	0.170	0.454	0.406

Como se observa en la **Tabla 3.2**, mediante el tratamiento térmico, se incrementó la concentración de los grupos carboxílicos, lactónicos y carbonilos. Dentro del grupo de los

carbonilos C=O también se pueden encontrar los benzopirenos, pirenos y quinónicos (Montes-Morán et al., 2004). Se espera que la presencia de grupos carbonilos (no detectables en la tela ST), mejore el desempeño de los electrodos, ya que a dicho grupo pertenecen las quinonas, las cuales están relacionadas con reacciones de óxido-reducción reversibles que podrían actuar de forma sinérgica con los mecanismos de transferencia electrónica bacteriana y por lo tanto mejorar el desempeño global de los SBM (Bleda-Martínez et al., 2005).

### 3.4 Caracterización electroquímica de las telas de carbón sin y con tratamiento térmico.

#### a) Estudios voltamperométricos.

En este estudio se empleó la voltamperometría cíclica del  $K_4[Fe(CN)_6]$   $10 \times 10^{-3}$  M como estándar electroquímico en soluciones acuosas de  $KNO_3$  1 M, para evaluar el desempeño de las telas de grafito empleadas como electrodos. La nomenclatura utilizada para referirse a los materiales de grafito ST y TT° como electrodos fue: electrodo sin tratamiento (E-ST) y electrodo tratado térmicamente (E-TT°), respectivamente. Para comparar los resultados entre los diferentes electrodos, la corriente obtenida se dividió entre su área geométrica ( $0.385 \text{ cm}^2$ ), reportándose como densidad de corriente,  $j$  ( $\text{mA cm}^{-2}$ ).

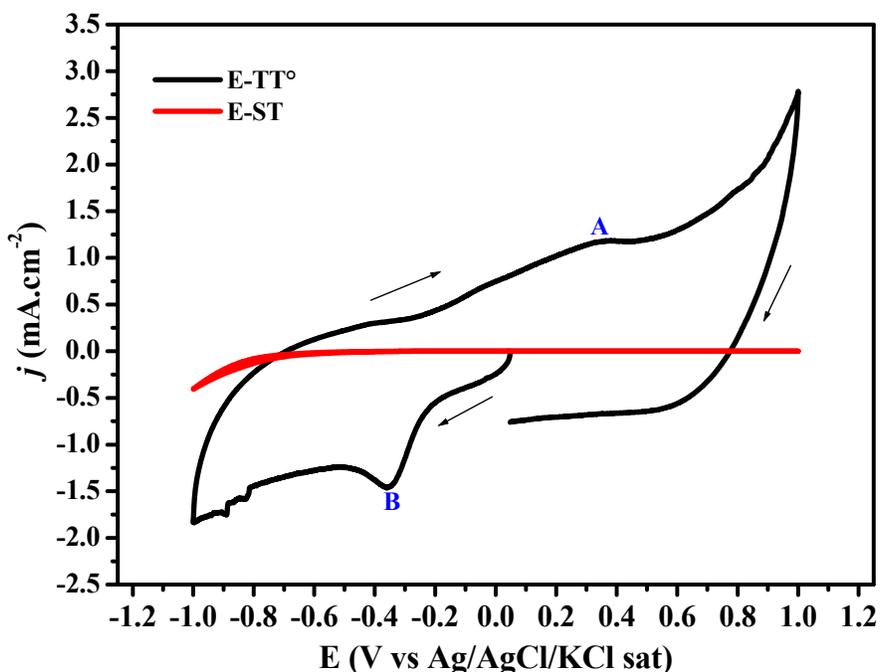
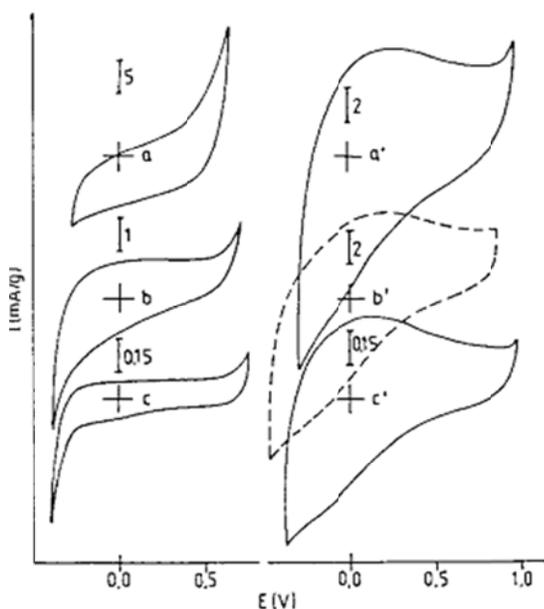


Figura 3.3: Respuestas voltamperométricas sobre los electrodos E-ST y E-TT° en medio electrolítico de  $KNO_3$  1 M a una  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ; en soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Potencial pico anódico (A)  $0.33 \text{ V}$  (vs Ag/AgCl),  $j = 0.1 \text{ mA cm}^{-2}$  y un potencial pico catódico (B)  $-0.35 \text{ V}$  (vs Ag/AgCl),  $j = 0.69 \text{ mA cm}^{-2}$ .

En la Figura 3.3 se muestra la respuesta voltamperométrica de los electrodos en solución electrolítica de  $KNO_3$  a una velocidad de barrido de  $5 \text{ mV s}^{-1}$ . Es evidente que el E-ST, tiene una menor actividad electroquímica en comparación con el E-TT°, por la

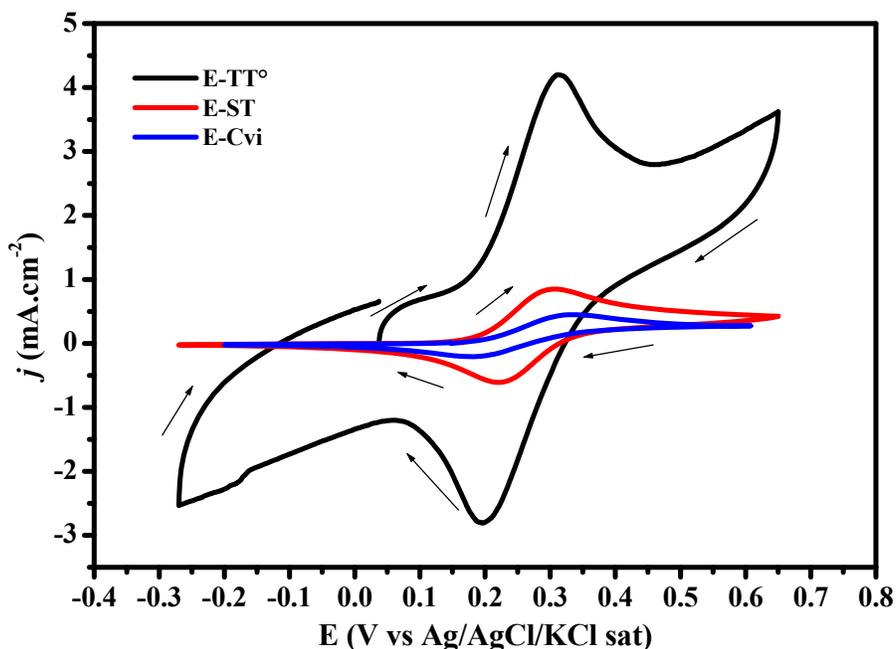
diferencia en las densidades de corriente observadas. El E-TT<sup>o</sup> mostró una respuesta *quasi* reversible con un potencial de pico anódico (A) a 0.33V (*vs* Ag/AgCl) y una  $j=0.1 \text{ mA cm}^{-2}$  y un potencial pico catódico (B) a -0.35 V (*vs* Ag/AgCl) con una  $j = 0.69 \text{ mA cm}^{-2}$  y una separación de picos de  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 680 \text{ mV}$ . Estos potenciales pico, pueden ser atribuidos a las reacciones redox que experimentan los grupos funcionales superficiales con la capacidad de funcionar como mediadores redox, los cuales, como se mencionó en la sección 3.3 pueden ser de tipo quinona, pireno o benzopireno. La respuesta voltamperométrica podría estar asociada con la capacidad de estos grupos de funcionar como mediadores redox. Aunado a esto se puede apreciar que la respuesta voltamperométrica de E-TT<sup>o</sup> presenta un comportamiento pseudo-capacitivo, lo cual también puede atribuirse a un aumento en la hidrofiliidad del material (Bayram and Ayranci, 2011; Bleda-Martínez et al., 2005). Este comportamiento ha sido reportado en materiales de carbón en medios acuosos neutros, en donde se espera que las modificaciones oxidativas originadas por el tratamiento térmico generen la aparición de un amplio pico anódico con un potencial entre 0.1 V y 0.3 V, mismos que son asociados al par quinona/hidroquinona - ver **Figura 3.4-** (Biniak et al., 1994).



**Figura 3.4:** Voltamperometría cíclica de fibras de carbón (CF) tratadas térmicamente (1100, 1400 y 2400 °C) en una solución acuosa de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $0.05 \text{ mol dm}^{-3}$ : a, CF1100, a', CF1100ox; b, CF1400; b', CF1400ox; c, CF2400 y c', CF2400ox. (Biniak et al., 1994). OX indica el material que posterior al tratamiento térmico fue sometido a una oxidación con  $\text{HNO}_3$  conc.

A pesar de que el material utilizado no es carbón activado, el incremento del área superficial conseguido con el tratamiento térmico propició una mayor exposición de grupos oxigenados, que podrían localizarse en los bordes de las láminas gráficas y a un mayor número defectos en la estructura de las fibras favoreciendo con ello una mayor humectación, y por consiguiente una mayor interacción entre los iones del electrolito y la fibra de carbón (Salitra et al., 2000).

El estudio voltamperométrico del par  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , fue utilizado para evaluar el desempeño electroquímico de los electrodos de tela de grafito (Liu et al., 2012; Wang et al., 2009b). Considerando que las telas de grafito tienen una estructura compleja por tratarse de fibras entrelazadas y por lo tanto con procesos difusionales atípicos, sus respuestas voltamperométricas se compararon con las de un electrodo de disco de carbón vítreo (E-Cvi) con un área geométrica de  $0.071 \text{ cm}^2$ , para de esta manera obtener una estimación cualitativa del área electroactiva de los electrodos. En la **Figura 3.5**, se muestran las respuestas voltamperométricas, del E-ST, E-TT<sup>o</sup> y E-Cvi, con el estándar electroquímico  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , a una velocidad de barrido de  $5 \text{ mVs}^{-1}$ .



**Figura 3.5:** Respuestas voltamperométricas de  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] 10 \times 10^{-3} \text{ M} + \text{KNO}_3 1 \text{ M}$  a una velocidad de barrido de  $5 \text{ mV s}^{-1}$  en dirección anódica, a partir del OCV. Arreglo de celda de tres electrodos CE: barra de grafito, RE: Ag/AgCl/KCl(sat). Soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente.

En la **Figura 3.5** se aprecia que los tres electrodos presentaron una respuesta típica del proceso de transferencia monoelectrónica reversible característica del par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . Sin embargo en el E-TT° las densidades de corriente fueron 12.4 y 4.1 veces mayores que las generadas con E-Cvi y E-ST, respectivamente. Es decir, que sobre el electrodo E-TT° se oxidó y se redujo una mayor cantidad de  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , bajo las mismas condiciones experimentales, lo cual puede estar directamente relacionado con un incremento en el área electroquímicamente activa del material como resultado del tratamiento térmico (Liu et al., 2012; Wang et al., 2009b).

Para determinar la actividad electrocatalítica de los electrodos, se calcularon los parámetros voltamperométricos que establecen el criterio de reversibilidad de la reacción electroquímica en la que se ve involucrado el par  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , esto de manera aproximada considerando que los procesos de transporte de masa por difusión resultan más complejos que sobre el electrodo de carbón vítreo, en donde la difusión de la especie electroactiva ocurre de manera perpendicular a la superficie del electrodo. En la **Tabla 3.3** se muestran los parámetros voltamperométricos correspondientes a las respuestas para cada electrodo que funciona como ánodo.

**Tabla 3.3: Parámetros voltamperométricos evaluados para los electrodos de tela de grafito empleando el par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ .**

ET	Área (cm <sup>2</sup> )	$j_{\text{pan}}$ (mAmp cm <sup>-2</sup> )	$j_{\text{pcat}}$ (mAmp cm <sup>-2</sup> )	$j_{\text{pan}}/j_{\text{pcat}}$	$E_{\text{pan}}$ (V)	$E_{\text{pcat}}$ (V)	$\Delta E_p$ (mV)
Carbón vítreo (E-Cvi)	0.071	0.319	0.325	<b>0.982</b>	0.326	0.187	<b>139</b>
Tela de carbón sin tratamiento (E-ST)	0.385	0.831	0.514	<b>1.616</b>	0.307	0.221	<b>86</b>
Tela de carbón tratada térmicamente (E-TT°)	0.385	2.801	2.654	<b>1.055</b>	0.310	0.199	<b>111</b>

(Nota:  $\Delta E_p = E_{\text{pan}} - E_{\text{pcat}}$ )

En comparación con los electrodos E-ST y E-Cvi, el electrodo E-TT° mostró una mejor reversibilidad, es decir que aparentemente la velocidad de transferencia electrónica sobre este electrodo es mayor, ya que tanto la relación entre la densidades de corriente pico y la  $\Delta E_p$  se acercan más al valor teórico reportado para un proceso de transferencia de

electrón reversible ( $j_{\text{pan}}/j_{\text{pcat}}=1$  y  $\Delta E_p \approx 60$  mV/n ( $n$  = número de electrones). Esto indica que el proceso redox, es llevado de forma más eficiente sobre el electrodo E-TT<sup>o</sup> (Bard and Faulkner, 2001).

Por último se realizó un estudio voltamperométrico de los electrodos E-ST y E-TT<sup>o</sup>, utilizando como electrolito soporte el anolito utilizado en las CCM (ver sección 2.2.4), donde se especifica la composición del mismo) a una velocidad de barrido de  $1 \text{ mV s}^{-1}$  (Figura 3.6). Al igual que en el medio con  $\text{KNO}_3$ , el electrodo E-TT<sup>o</sup> exhibió mayores densidades de corriente en comparación con E-ST, ya que con el primero se observaron dos picos anchos poco definidos C y D a potenciales de 0.052 y -0.037 V respectivamente. En el segmento anódico de la VC del electrodo E-TT<sup>o</sup> se obtuvo una  $j_{\text{max}} = 0.32 \text{ mA cm}^{-2}$ , mientras que con el electrodo E-ST, sólo se alcanzaron  $j = 0.002 \text{ mA cm}^{-2}$ .

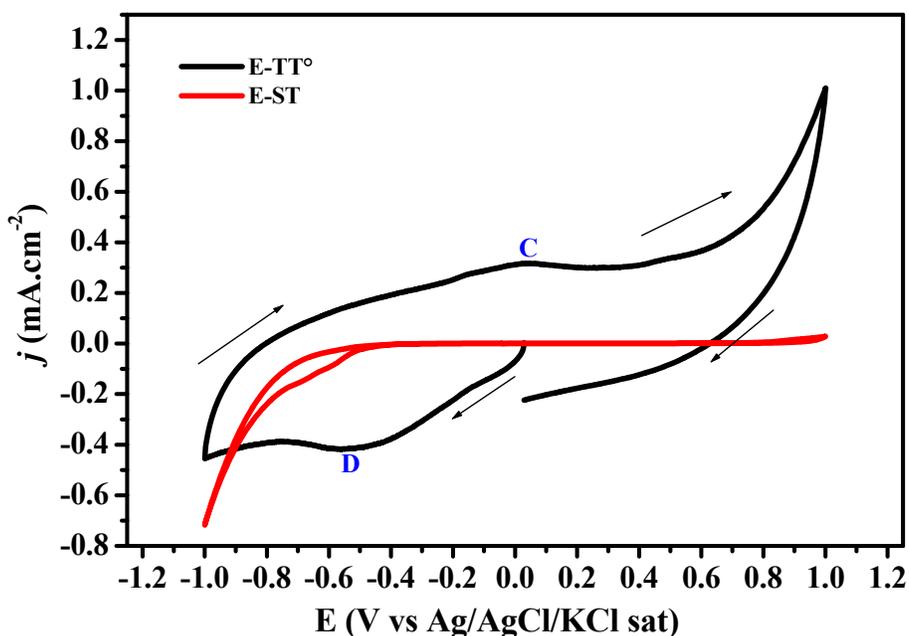
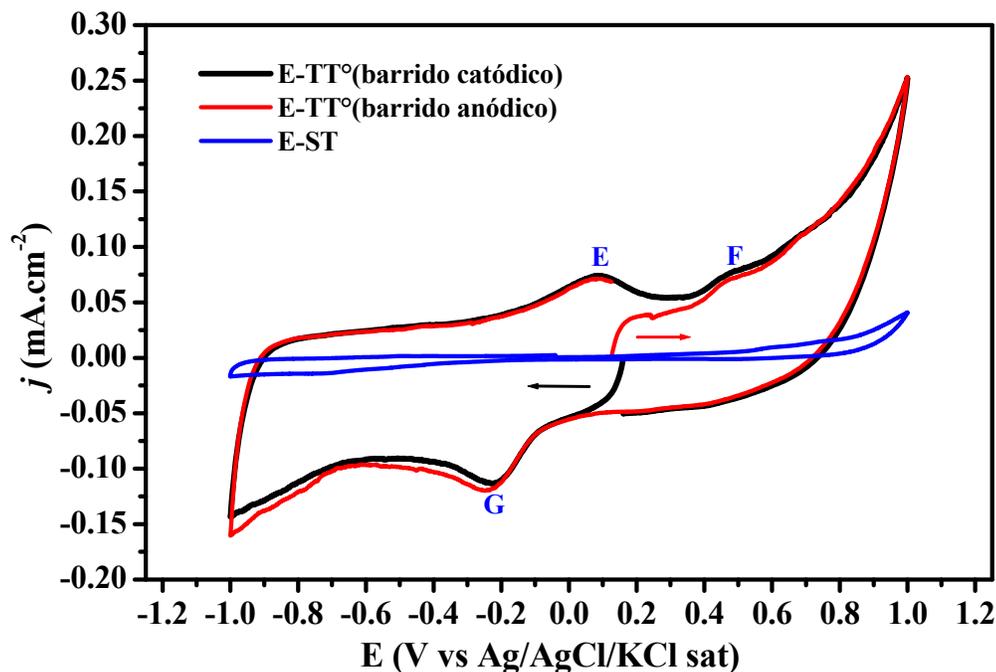


Figura 3.6: Respuesta voltamperométrica sobre los electrodos E-ST y E-TT<sup>o</sup> en el anolito (ver sección 2.2.4) en celda de tres electrodos a una velocidad de barrido,  $v = 1 \text{ mV s}^{-1}$ , en soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Se observaron dos picos anchos poco definidos C y D a potenciales de 0.052 y -0.037 V respectivamente.

Al realizar el mismo estudio, utilizando la celda de dos cámaras en medio abiótico, es decir, antes de su inoculación, se encontró el mismo comportamiento que en la celda de tres electrodos. En la Figura 3.7 se muestran las respuestas voltamperométricas obtenidas,

para los electrodos E-ST y E-TT°. Esta respuesta presentó los siguientes potenciales de pico: anódico (E) 0.088 y catódico (G) -0.243 V(vs Ag/AgCl), que pueden ser atribuidos a los procesos redox que experimentan los grupos del tipo quinona, los cuales pueden formar parte de los grupos de tipo carbonilo que fueron evidenciados en la sección 3.3 (Tabla 3.2).



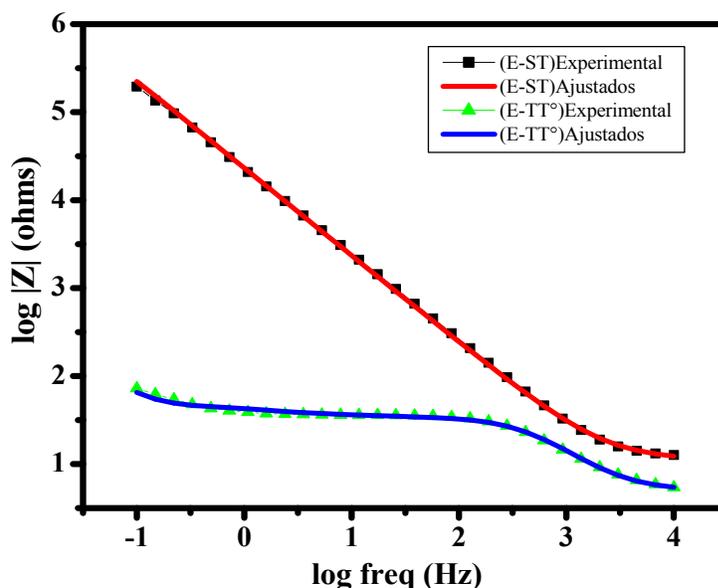
**Figura 3.7:** Respuesta voltamperométrica sobre los electrodos E-ST y E-TT° en el medio anolito (ver sección 2.2.4) en celda de dos cámaras antes de su inoculación a  $\nu = 1 \text{ mV s}^{-1}$ . En soluciones saturadas de argón a temperatura ambiente. Esta respuesta presentó los siguientes potenciales de pico: anódico (E) 0.088 y catódico (G) -0.243 V.

Los potenciales pico encontradas en las diferentes respuestas voltamperométricas mostradas nos ayudan a determinar el grado de modificación alcanzado con el tratamiento térmico y además evidencian de forma cualitativa la presencia de especies con actividad redox que forman parte de la superficie del material tratado térmicamente. Sin embargo, no es posible realizar una interpretación simple de los picos observados en los voltamperogramas debido a su gran anchura. Además de que las especies que no tienen que difundirse a la superficie del electrodo, tales como adsorbatos o grupos unidos químicamente a la superficie, tienden a mostrar picos agudos, por lo que se requiere complementar mediante otros estudios los resultados mostrados en esta sección (Biniak et al., 1994).

## b) Estudios de espectroscopia de impedancia de E-ST y E-TT°.

En la **Figura 3.8**, se muestra el espectro de impedancia obtenido tanto para E-ST como para E-TT°. El gráfico corresponde a uno del tipo Bode, donde se grafica el  $\log|Z|$  contra el log de la frecuencia (Hz). Los datos experimentales que se obtuvieron en cada electrodo se ajustaron utilizando los siguientes circuitos eléctricos:  $R_0 + C / R_{ct} + M$  para el E-ST y  $R_0 + CPE_{dl} / R_{ct} + M$  para E-TT°. Mediante dicho ajuste se obtuvieron los valores de  $R_0$ , que corresponde a la resistencia óhmica o la resistencia a la solución electrolítica,  $R_{CT}$  o resistencia a la transferencia de carga (electrones) y los valores de la capacitancia de cada material,  $C$  o  $CPE_{dl}$  (elementos de fase constante).

Como se puede ver en la **Tabla 3.4**, los valores de  $R_0$ , se encuentran en el mismo orden de magnitud debido a que se utilizó la misma solución electrolítica y el mismo arreglo de electrodos. Por otro lado en el E-ST la  $R_{CT}$  fue de 18,248  $\Omega$ , esta valor es muy alto comparado con 28.78  $\Omega$  del E-TT°. Esto indica que en el E-TT°, se facilita la transferencia de electrones y por lo tanto se espera que tenga un mejor desempeño en las CCM.



**Figura 3.8:** Gráfica de Bode donde se muestran los resultados experimentales y ajustados con circuitos eléctricos de los espectros de impedancia de E-ST y E-TT° en anolito. El estudio se realizó en celda de tres electrodos, ER: Ag/Ag/KCl (sat) y EA: barra de grafito.

Además de la  $R_{CT}$ , la capacitancia es otro de los parámetros de mayor importancia en el desempeño de los electrodos, ya que representa la capacidad del material para acumular carga, por lo que valores altos de capacitancia se relacionan con materiales ideales para ser utilizados en celdas de combustible. En este trabajo el valor de capacitancia obtenido se encuentra en el mismo orden de magnitud, siendo un poco más alto el que corresponde al electrodo E-TT°. Estos resultados son similares a los obtenidos por Cercado et al., (2013), en donde se compararon diferentes tratamientos de ánodos, incluyendo el de oxidación térmica. En dicho trabajo el electrodo con tratamiento térmico tuvo un mejor desempeño, de manera similar al electrodo E-TT° de este trabajo.

**Tabla 3.4: Resultados del análisis de espectros de impedancia de E-ST y E-TT, mediante el ajuste de los datos experimentales con circuitos eléctricos.**

<b>Parámetro</b>	<b>E-ST</b>	<b>E-TT°</b>
Circuito	$R_0 + C / R_{ct} + M$	$R_0 + CPE_{dl} / R_{ct} + M$
$R_0 (\Omega)$	12.57	5.022
$R_{CT} (\Omega)$	18, 482	28.78
$C (\mu F)$	20.38	22.84

### 3.5 Efecto del tratamiento térmico de los ánodos en la generación de electricidad y en la remoción de naproxeno sódico en CCM.

Para determinar el efecto del tratamiento térmico sobre el desempeño de las CCM, se utilizaron 2 reactores idénticos, bajo las mismas condiciones de operación, modificando solamente el tipo de ánodo empleado. La única fuente de sustrato fue la mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato) a una concentración de  $500 \text{ mg}_{\text{DQO}}\text{L}^{-1}$ . En las dos celdas se utilizó una resistencia externa de  $1000 \Omega$  entre los electrodos. La CCM con electrodo tratado térmicamente se denominó como CCM-TT<sup>o</sup> y la CCM con electrodo sin tratamiento como CCM-ST.

En la **Figura 3.9** se muestran las curvas de densidad de potencia obtenidas durante el primer ciclo de operación de las CCM, el cual duró 15 días. La densidad de potencia máxima ( $P_{\text{max}}$ ) alcanzada por la CCM-ST fue de  $2.57 \text{ mW m}^{-2}$  en el 7<sup>o</sup> día y una densidad de corriente máxima ( $j_{\text{max}}$ ) de  $25.75 \text{ mA m}^{-2}$ , mientras que en la CCM-TT<sup>o</sup> la  $P_{\text{max}}$  fue de  $10.66 \text{ mW m}^{-2}$ , y la  $j_{\text{max}} = 150 \text{ mA m}^{-2}$  al día 10 de operación. Esto indica que mediante el tratamiento térmico, se obtiene una densidad de potencia 4.15 veces mayor que con el ánodo sin tratamiento en los primeros 15 días de operación.

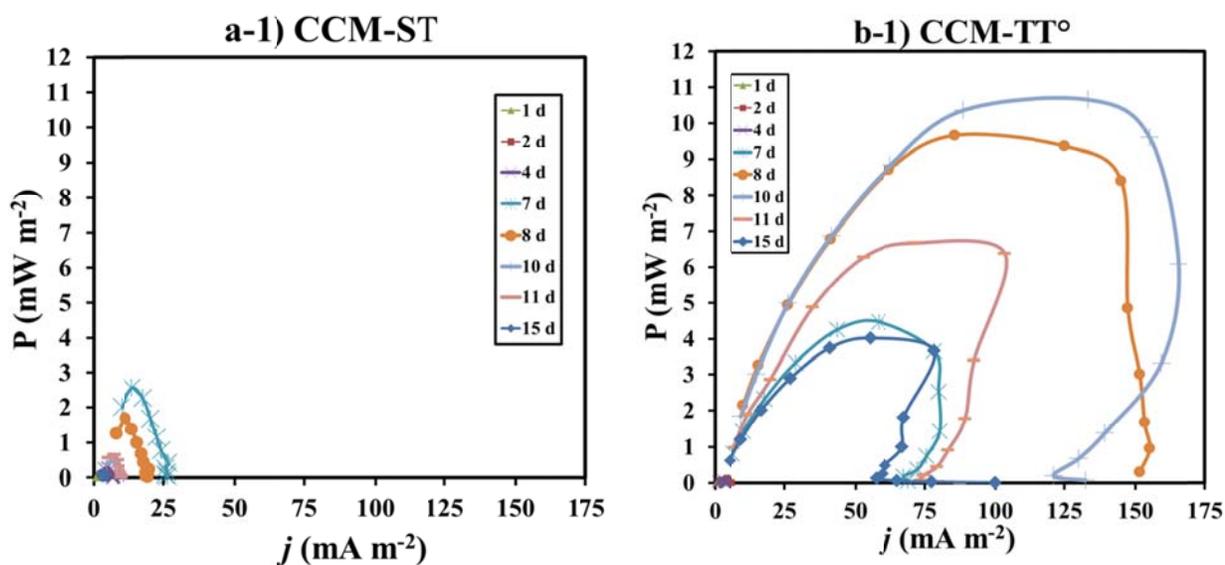
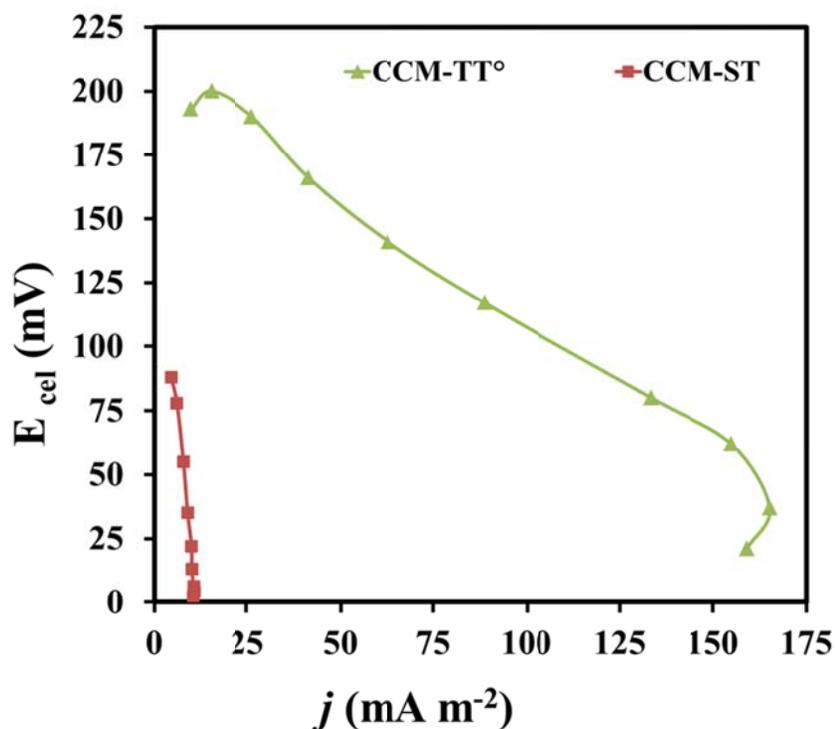


Figura 3.9: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-1) y TT<sup>o</sup> (b-1), durante el primer ciclo de operación. La CCM-ST alcanzó una  $P_{\text{max}}$  de  $2.57 \text{ mW m}^{-2}$ , mientras que con CCM-TT<sup>o</sup> la  $P_{\text{max}}$  fue de  $10.66 \text{ mW m}^{-2}$ .

Estos resultados son mayores a los alcanzados por Cai et al., (2012), en los que se logró incrementar sólo 2.1 veces el desempeño de una CCM con electrodo tratado térmicamente en comparación con una CCM con electrodo sin tratamiento.

Alrededor del día 10 de operación se observó en la CCM-TT° que el voltaje se mantenía constante. El valor máximo de voltaje producido en este sistema fue de 200 mV, mientras que en el caso de la CCM-ST sólo se obtuvieron 88 mV, en el mismo día. En el reporte de Cai et al., (2012), para un electrodo de tela de carbón tratado térmicamente se alcanzó un voltaje máximo de 800 mV aunque este no se mantuvo constante y disminuyó hasta 550 mV en ciclos posteriores. En la **Figura 3.10**, se muestran las curvas de polarización de CCM-ST y CCM-TT° al día 10 de operación, en la misma se observa una caída abrupta de voltaje en CCM-ST a corrientes bajas.



**Figura 3.10:** Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el primer ciclo de alimentación (día 10).

Durante el segundo ciclo de operación, se observó un incremento significativo en el desempeño de ambos sistemas como se muestra en la **Figura 3.11**, ya que la CCM-ST, alcanzó una  $P_{max} = 16.59 \text{ mW m}^{-2}$  y una  $j_{max} = 227.27 \text{ mA m}^{-2}$ , al día 5 de operación. En

cambio en la CCM-TT°, se obtuvo una  $P_{\max} = 28.16 \text{ mW m}^{-2}$  y una  $j_{\max} = 325 \text{ mA m}^{-2}$ . La duración de este ciclo fue de 25 días, ya que aún en el día 20 se obtuvieron densidades de potencia cercanas a los  $10 \text{ mW m}^{-2}$ . En este ciclo, el desempeño de la CCM-TT° sólo fue 1.69 veces mayor que el de CCM-ST,

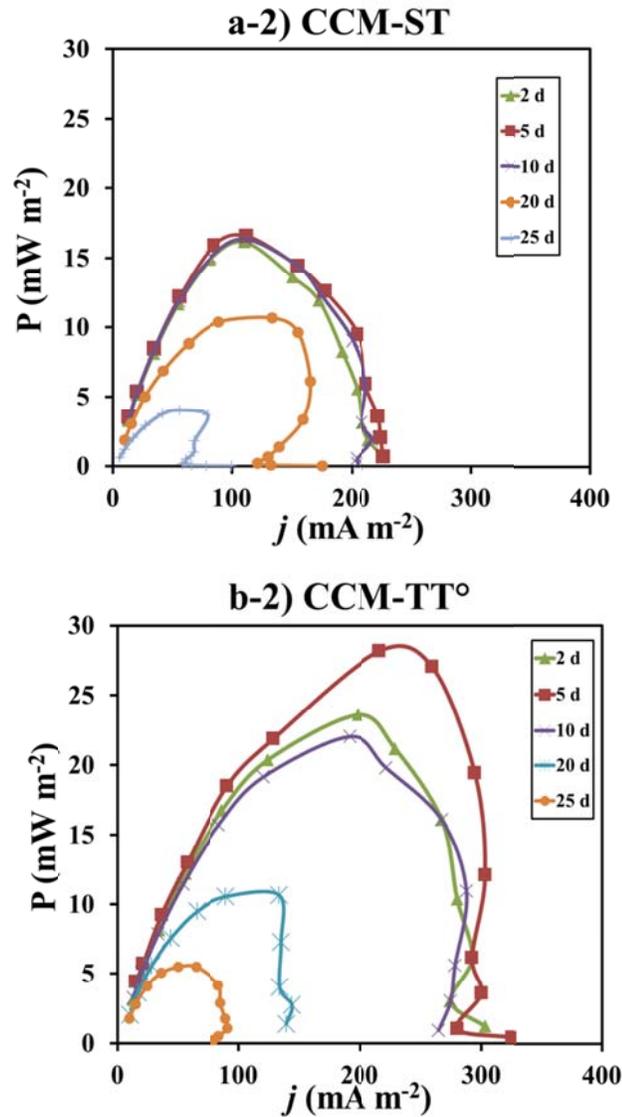


Figura 3.11: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-2) y CCM-TT° (b-2), durante el segundo ciclo de operación.

Durante el segundo ciclo de operación el tiempo en que se alcanzó la producción de voltajes estables fue de 2 días, y este se mantuvo estable durante aprox.10 días, para ambos sistemas. En el caso de la CCM-TT°, el voltaje máximo fue de 297 mV mientras que en

CCM-ST fue de 265 mV. En la **Figura 3.12** se observan las curvas de polarización de ambos sistemas, en el día 5.

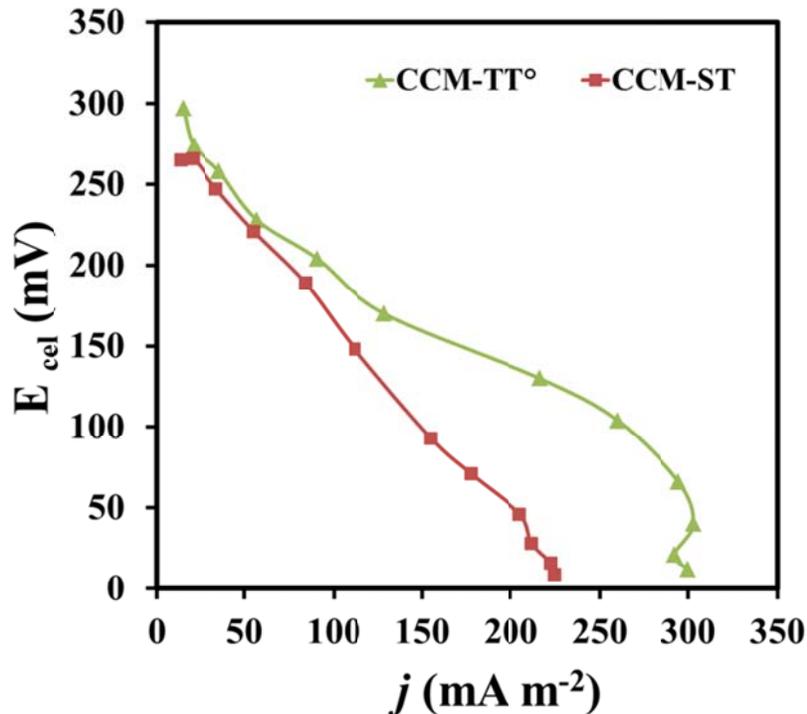


Figura 3.12: Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el segundo ciclo de alimentación (día 5)

Hasta el momento de la redacción de este trabajo, no se ha encontrado en la literatura algún reporte sobre el efecto del tratamiento térmico del electrodo, en sistemas con tiempos de operación largos, ya que la mayoría solamente realiza estudios en las primeras horas de arranque o en un primer ciclo de alimentación (días). Por lo tanto, se decidió realizar un tercer ciclo para determinar, si después de 40 días aún se seguían observando diferencias en el desempeño de los sistemas.

Las curvas de potencia obtenidas durante este ciclo se muestran en la **Figura 3.13**. Como se puede observar durante este periodo de operación, la CCM-ST alcanzó los niveles de densidad de potencia que en el día 2 se habían obtenido en la CCM-TT° ( $28.16 \text{ mW m}^{-2}$ ), ya que en el día 4 de operación la  $P_{\text{max}}$  fue de  $28.6 \text{ mW m}^{-2}$  y la  $j_{\text{max}}$  de  $300 \text{ mA m}^{-2}$ . Por otro lado CCM-TT°, tuvo un menor rendimiento y la  $P_{\text{max}}$  alcanzada solo fue de  $24 \text{ mW m}^{-2}$ ,  $j_{\text{max}}$ , se mantuvo en  $300 \text{ mA m}^{-2}$ . Mediante estos datos, se concluye que el tratamiento térmico solo repercute en las etapas primarias de colonización del ánodo.

Por otro lado, en este ciclo se alcanzó la estabilidad en ambos sistemas, por lo que se puede decir que en las condiciones de operación, el tiempo de aclimatación al ánodo en la CCM-ST fue de 42 días, mientras que para la CCM-TT°, fue de sólo 20 días, ya que no se observó un incremento en la  $P_{max}$  ni en la  $j_{max}$  en el 3<sup>er</sup> ciclo comparado con el 2<sup>o</sup> ciclo.

Esto indica que con el diseño de celda, material de electrodos y condiciones de operación, la  $P_{max}$  que se puede alcanzar es de aprox.  $28 \text{ mW m}^{-2}$  y una  $j_{max}$  de aprox.  $300 \text{ mA m}^{-2}$ .

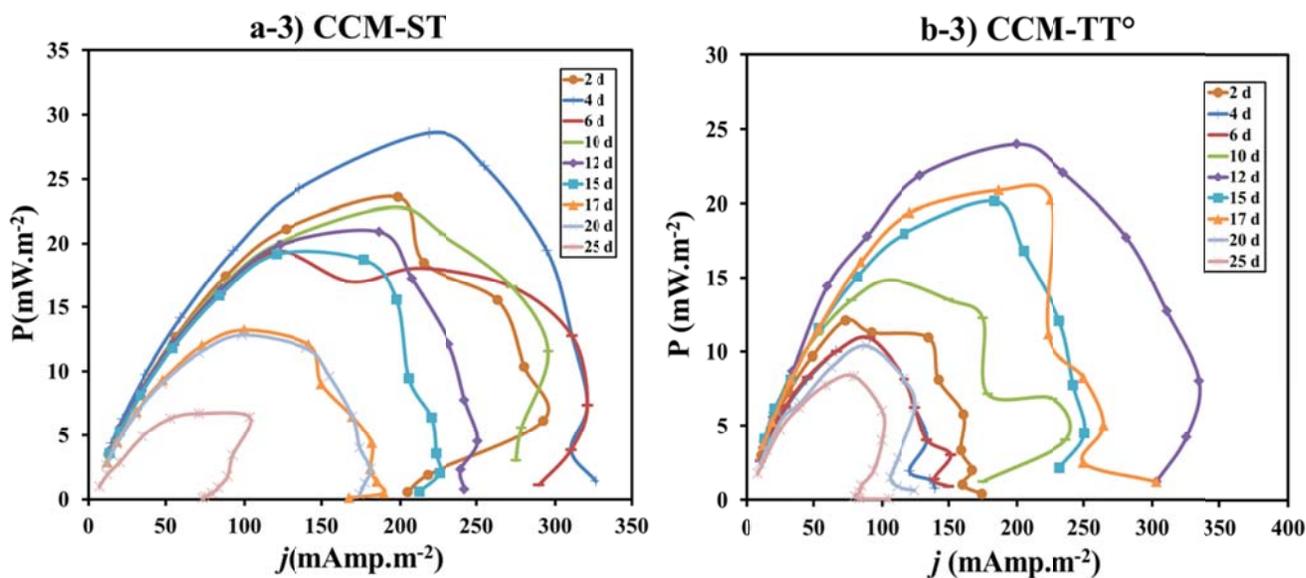


Figura 3.13: Curvas de densidad de potencia de CCM-ST (a-1) y TT° (b-1), durante el tercer ciclo de operación.

Durante el tercer ciclo de operación la producción de voltaje alcanzada en sistema fue de 300 mV para CCM-ST y 271 mV para CCM-TT°. En este ciclo el electrodo ST alcanzo ligeramente un valor más alto de voltaje, aunque en el mismo orden de magnitud que en CCM-TT°. Esto indica que a partir de este ciclo se alcanzó la estabilidad y se ha formado una biopelícula madura.

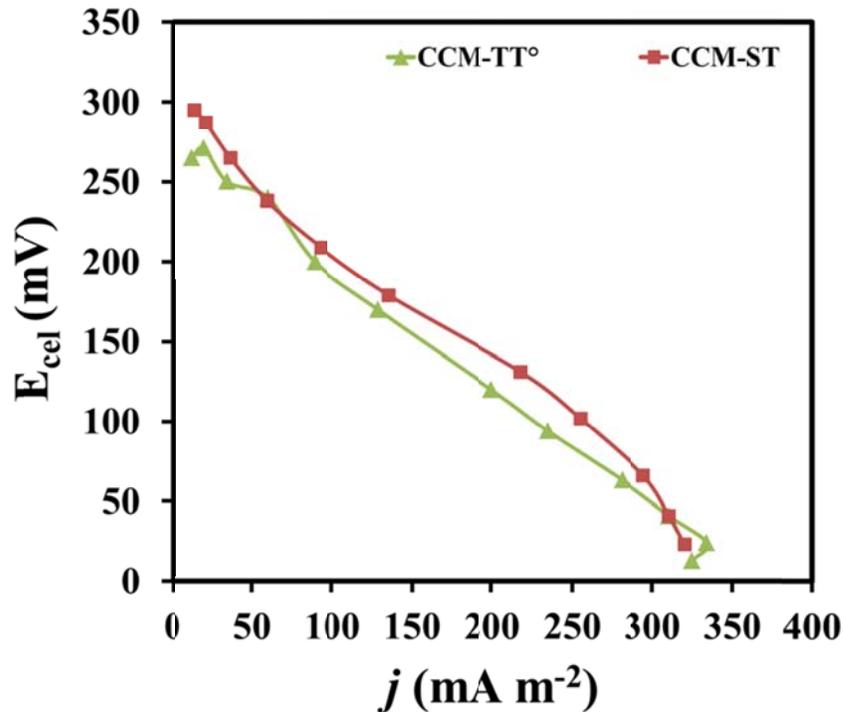


Figura 3.14: Curva de polarización CCM-ST y CCM-TT° durante el tercer ciclo de alimentación (día 5).

En el cuarto ciclo de operación (65° día de operación), además de la solución con los ácidos grasos volátiles se agregó al medio mineral 10 ppm de naproxeno sódico. Las curvas de potencia máxima en estos sistemas durante dicho ciclo se muestran en la **Figura 3.15**. Se puede observar que la  $P_{max}$  disminuyó en ambos sistemas en comparación con el ciclo 3. En la CCM-ST la  $P_{max}$  fue de  $21.66 \text{ mW m}^{-2}$ , mientras que en la CCM-TT° fue de  $18.03 \text{ mW m}^{-2}$ . En otras palabras el rendimiento en cada sistema se redujo 24.26% para la CCM-ST y 25% para la CCM-TT°, esto pudo deberse a que al finalizar el 3<sup>er</sup> ciclo, todavía sin naproxeno en el medio, se perturbaron los sistemas ya que se realizaron voltamperometrías cíclicas y estudios de impedancia electroquímica, para los cuales se colocó el electrodo de referencia en la cámara anódica. Por otro lado el voltaje de los sistemas se mantuvo constante, siendo el punto máximo en 260 mV para la CCM-ST.

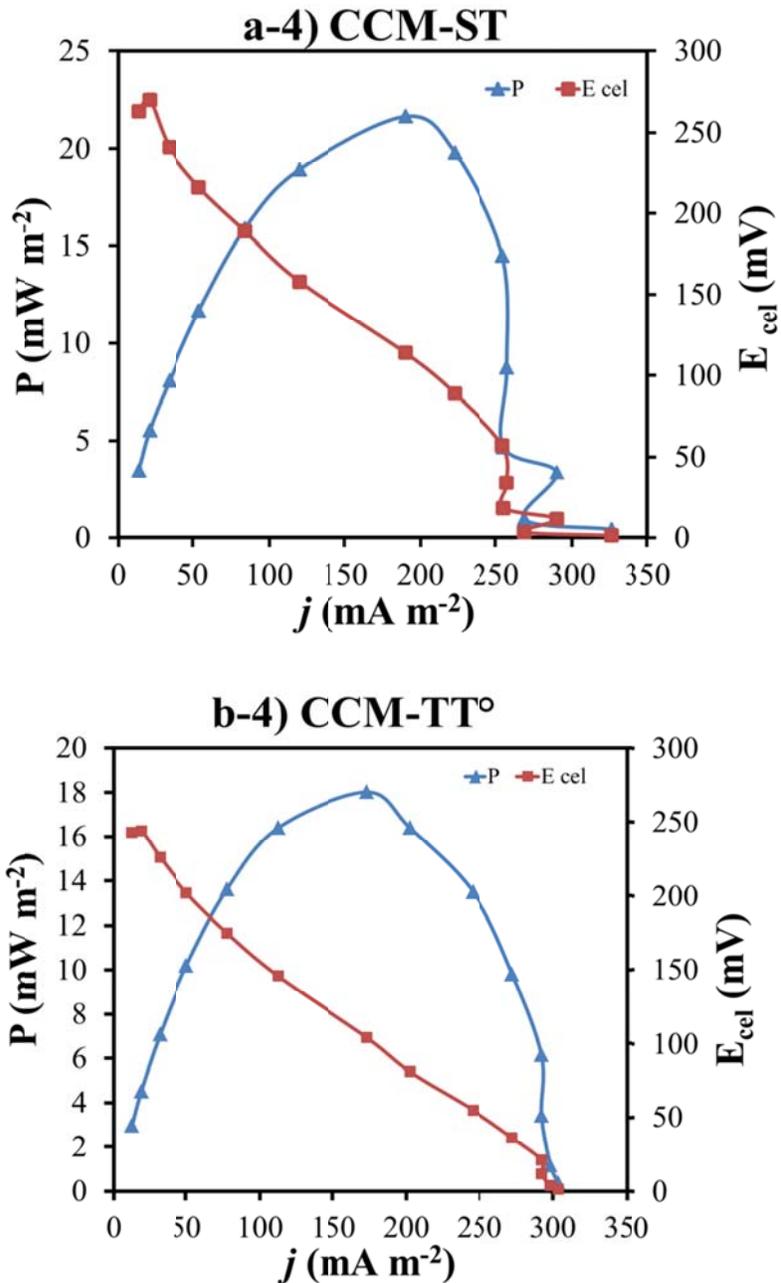


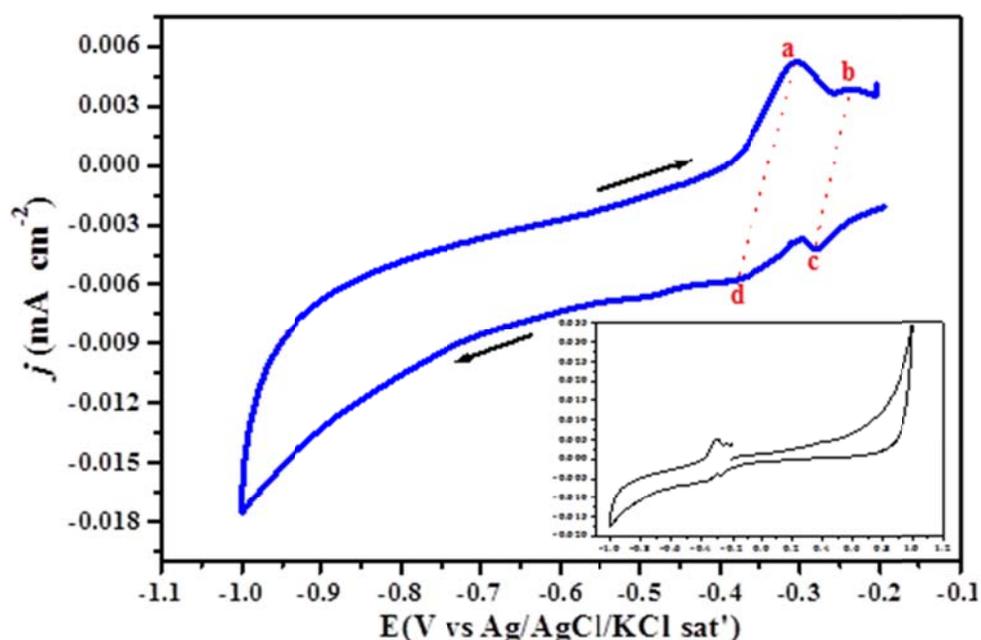
Figura 3.15: Curvas de densidad de potencia máxima y curvas de polarización, de CCM-ST (a-4) y TT° (b-4), durante el cuarto ciclo de operación.

Por otro lado, en cuanto a la remoción de naproxeno se observó que al 12° día de operación la CCM-TT° removió 17.96% de la concentración inicial, mientras que en la CCM-ST, la concentración se mantuvo constante; es decir que no se observó la remoción en este sistema. Al término del ciclo, se realizó una segunda medición, en la que no se observó una reducción significativa en la concentración del naproxeno en ambos sistemas.

Esto nos indicó que el tipo de electrodo tuvo una repercusión importante en la remoción del naproxeno, ya que sólo fue removido en la celda con electrodo tratado térmicamente, quizás esto se debe al tipo de microorganismos que se desarrollaron por el tratamiento. Finalmente las celdas se mantuvieron sólo con la adición de sustrato para los estudios de ecología microbiana.

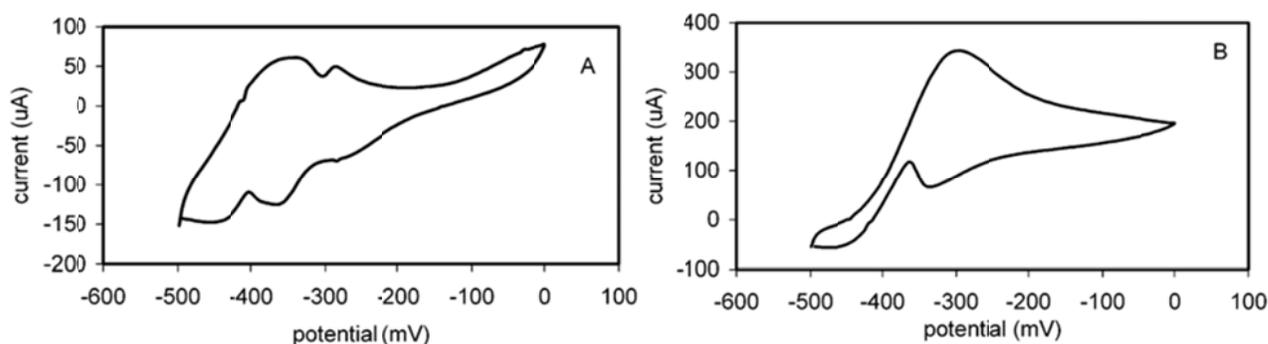
#### a) Caracterización electroquímica de los bioánodos en CCM-ST y CCM-TT°.

Mediante un estudio voltamperométrico de los ánodos en las CCM, se puede evaluar el crecimiento de la biopelícula y tratar de elucidar los posibles mecanismos de transferencia de electrones utilizados por las bacterias (Fricke et al., 2008; Harnisch y Freguia, 2012). Para evaluar la formación de las biopelículas en cada una de las CCM, se realizó un estudio voltamperométrico a una velocidad de barrido de  $1 \text{ mVs}^{-1}$ , al final del 3<sup>er</sup> ciclo de operación. En las **Figura 3.16**, se muestran la respuesta voltamperométrica obtenida en el bioánodo de la CCM-ST. En el voltamperograma se observaron dos procesos redox asociados a procesos de transferencia electrónica reversible, caracterizados por los siguientes pares de potenciales redox: (a)  $-0.305 \text{ V}$  con (d)  $-0.378 \text{ V}$  y (b)  $-0.236 \text{ V}$  con (c)  $-0.281 \text{ V}$ .



**Figura 3.16:** Respuesta voltamperométrica del ánodo en CCM-ST, al final del tercer ciclo de operación, a una velocidad de barrido de  $v=1 \text{ mV s}^{-1}$ .

La presencia de estos picos puede asociarse a dos sistema redox cuasi-reversibles, que podrían ser atribuidos la presencia de mediadores redox endógenos o a proteínas de membrana del tipo citocromo. En el trabajo de Liu et al., (2005) (ver **Figura 3.17**), se obtuvieron potenciales pico en -0.28 y -0.3V (*vs* Ag/AgCl/KCl), en celdas alimentadas con acetato y butirato, estos potenciales se aproximan a los obtenidos en CCM-ST, esto indicaría que los mediadores presentes en ambos sistemas son originados por un grupo de bacterias específicas relacionadas con el metabolismo de los AGV's.



**Figura 3.17: Respuesta voltamperométrica de bioánodos obtenida por el Liu et al., (2005), en CCM alimentadas con A) acetato y B) butirato.**

La respuesta voltamperométrica del bioánodo en la CCM-TT°, se muestra en la **Figura 3.18**. Los picos anódicos se encontraron en los siguientes valores de potencial pico anódico, con sus respectivas densidades de corriente: (f) -0.386 V y  $j = 0.078 \text{ mA cm}^{-2}$ , (g) -0.323 V y  $j = 0.062 \text{ mA cm}^{-2}$  y (h) -0.235 V y  $j = 0.02 \text{ mA cm}^{-2}$ . Estos picos se asociaron con los siguientes potenciales catódicos: (i) 0.282, (j) -0.416 y (k) -0.504 V. Es evidente que en la respuesta voltamperométrica en CCM-TT°, se obtuvieron mayores densidades de corriente, debido a las modificaciones originadas por el tratamiento térmico del ánodo y quizás a una mayor excreción de mediadores redox en el sistema. Por otro lado también es posible proponer una mayor diversidad microbiana en el bioánodo de la CCM-TT°, en comparación con CCM-ST, ya que se presentó un sistemas redox cuasi-reversible adicional.

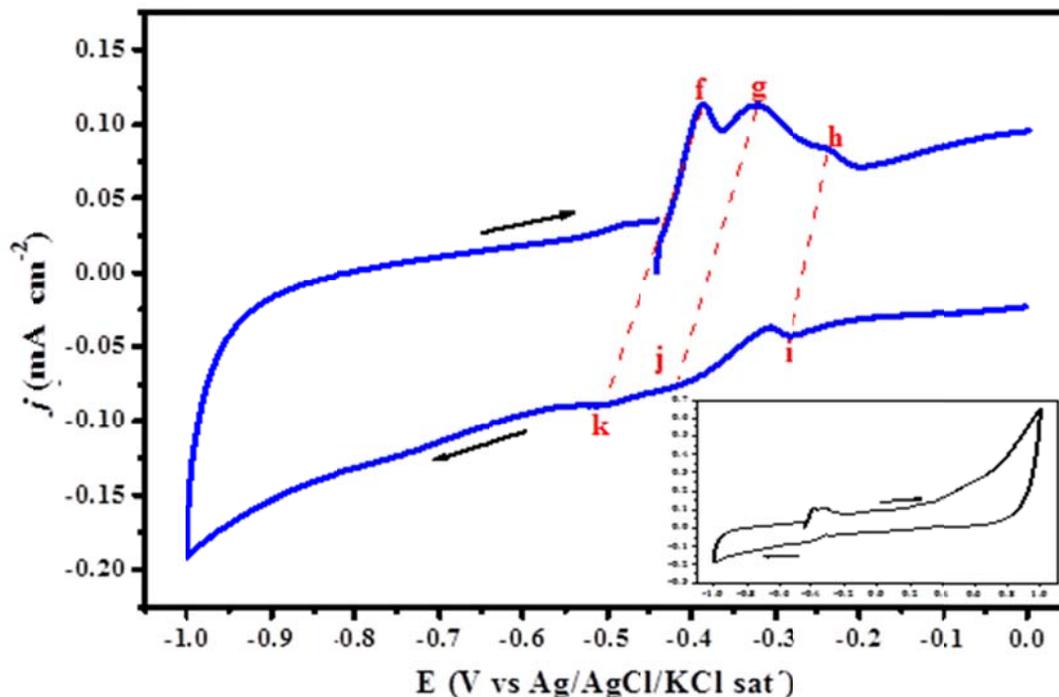


Figura 3.18: Respuesta voltamperométrica del ánodo en CCM-TT°, al final del tercer ciclo de operación, a una velocidad de barrido de  $v=1 \text{ mV s}^{-1}$ .

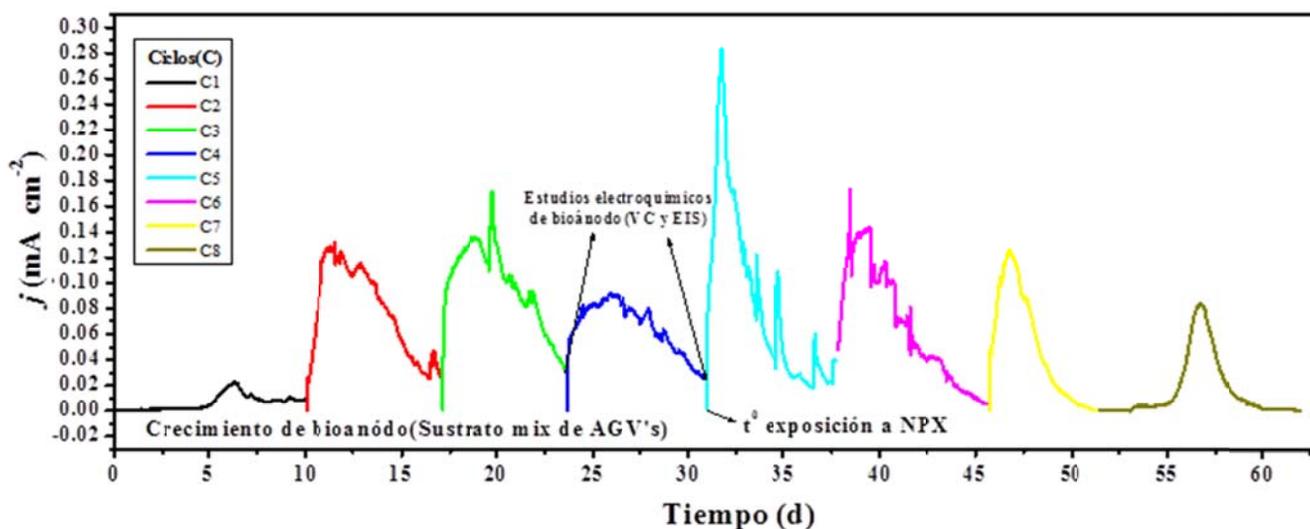
Para poder determinar los mecanismos de transferencia de electrones bacterianos, se requieren pruebas adicionales ya que mediante las respuestas voltamperométricas obtenidas, sólo es posible deducir la presencia de sustancias con actividad redox en los sistemas. Es necesario diferenciar entre los mediadores redox en solución y los mediadores redox anclados al electrodo, así como sus respectivas contribuciones; para ello se pueden cuantificar los mediadores redox endógenos o modificar los parámetros del experimento voltamperométrico.

### 3.6 Formación de biopelícula electroactiva aplicando un potencial constante de 0.1V y evaluación de la remoción de naproxeno sódico.

Para comparar los resultados obtenidos en las CCM-ST y CCM-TT°, se procedió a realizar un nuevo estudio de remoción de naproxeno sódico siguiendo la metodología propuesta por Harnisch et al., (2013); la cual consistió en formar una biopelícula electroquímicamente activa mediante la aplicación de un potencial, durante el 3<sup>er</sup> o 4<sup>o</sup>

ciclos de alimentación hasta alcanzar una corriente estable. En este estudio el potencial aplicado fue de 0.1 V (*vs* Ag/AgCl/KCl (sat.)), las condiciones de operación fueron las mismas que en las CCM-ST y CCM-TT°, se utilizó el mismo anolito y la misma concentración del sustrato (mezcla de ácidos grasos volátiles, compuesta por: acetato, propionato y butirato a una concentración final de 500 mg<sub>DQO</sub> L<sup>-1</sup>). Debido al desempeño observado en la caracterización y en los estudios en CCM, se decidió utilizar el electrodo tratado térmicamente como ánodo en este sistema, para lo cual la celda se denominó CCM-0.1 V.

En la **Figura 3.19**, se muestra la densidad de corriente obtenida en el sistema, a lo largo de los 8 ciclos de operación que representan 60 días de medición continua.

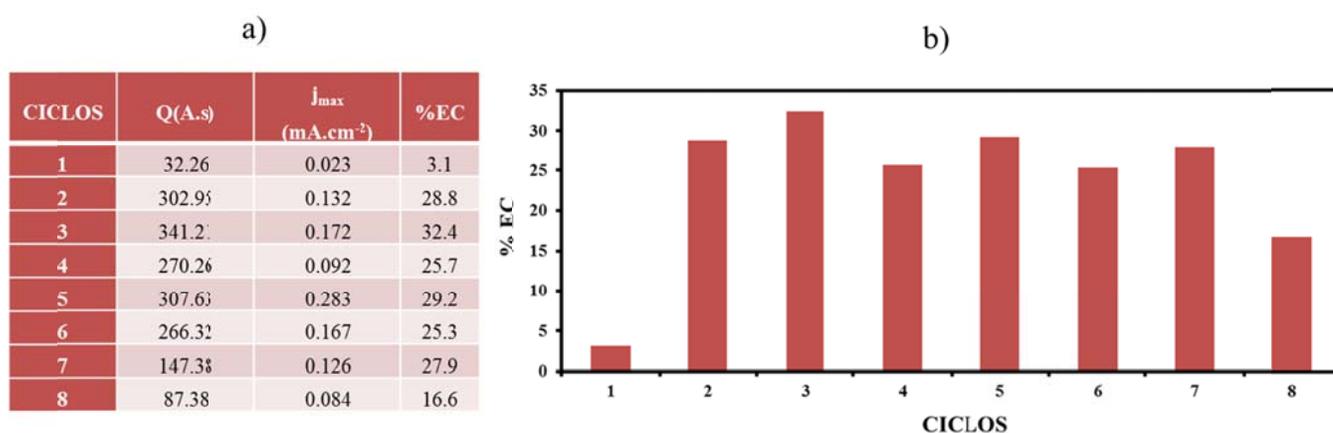


**Figura 3.19:** Formación cronoamperométrica de la biopelícula electroquímicamente activa con potencial constante de 0.1V (*vs* Ag/AgCl/KCl) y exposición a naproxeno sódico (10 ppm) a partir del 5° ciclo de operación (día 33).

Cada ciclo representa el cambio de anolito y catolito en ambas cámaras de la celda, con medio fresco. Como se observa en la **Figura 3.19**, durante el ciclo 1 (el cual corresponde a la etapa de inoculación del sistema), se obtuvieron densidades de corriente muy bajas (0.023 mA cm<sup>-2</sup>), debido a que en esta etapa se inició el proceso de colonización del ánodo. Por otro lado, a partir del ciclo 2, se incrementó la *j* en un 97%, hasta alcanzar un máximo de 0.32 mA cm<sup>-2</sup>. Por otro lado en el ciclo 3 la *j*<sub>max</sub>, sólo presentó un

incremento del 23.3%, por lo que ya en este ciclo se consideró formada la biopelícula electroquímicamente activa, corroborándose en el ciclo 4. Esto indica que sólo bastaron 10 días para lograr arrancar la celda utilizando la mezcla de AGVs. Este periodo de tiempo es la mitad del que se requirió en la CCM-TT°.

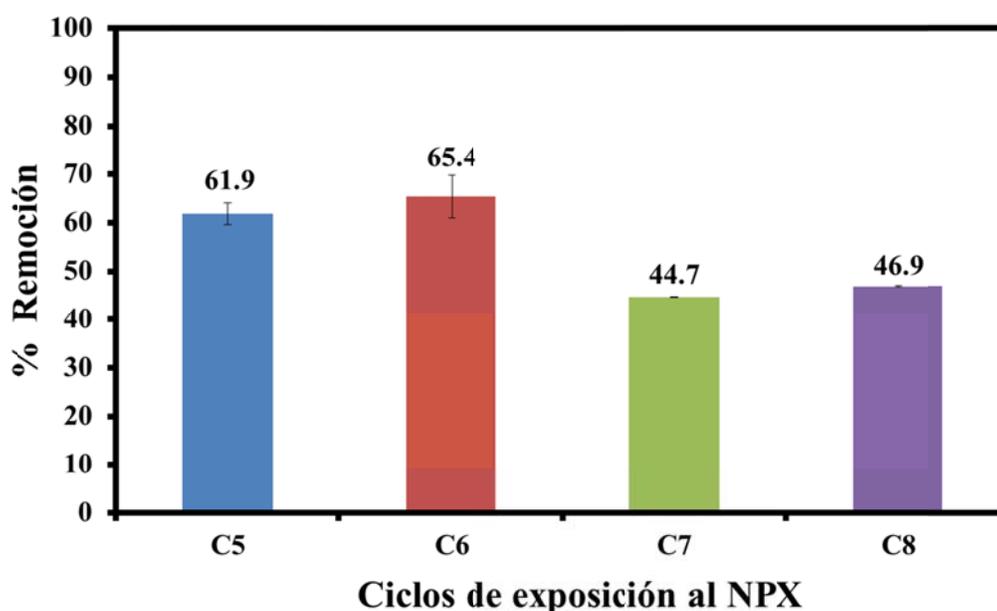
Mediante la integral de la corriente en cada ciclo, fue posible calcular la eficiencia coulombica, la cual es uno de los parámetros más importantes para evaluar el desempeño de CCM. En sistemas que se utilizan mezclas de AGVs, se ha reportado que el intervalo de eficiencia coulombica alcanzado va del 20 al 39% (Teng et al., 2010). Como se observa en la en la **Figura 3.20**, a partir del ciclo 2 se alcanzó el 28.8 % de EC, registrándose un valor máximo de 32.4% durante el 3<sup>er</sup> ciclo. Esto indica que el consumo de los AGVs en las condiciones de operación evaluadas, permitió en promedio una recuperación del 28.2% de los electrones totales del sustrato, comparando con el rango promedio de %EC, se puede ver que a pesar de que el sistema no es el más eficiente si se encuentra dentro del promedio ya reportado.



**Figura 3.20:** a) Desempeño global y b) Gráfico de % EC de la celda CCM-0.1 V.

Como se muestra en la **Figura 3.19**, a partir del ciclo 5 se añadió NPX al sistema, a una concentración de 10 ppm, la cual fue cuantificada para el tiempo cero ( $t^0$ ) de adición del fármaco al sistema, es decir, enseguida de la adición se tomó una muestra directamente de la cámara anódica. El primer día de operación se tomaron muestras a las 2, 4, 8 y 12 h, para determinar una posible remoción temprana del NPX; sin embargo, en este tiempo la concentración se mantuvo constante. Esto indicó que en el E-TT°, no se adsorbió el

fármaco y que el potencial de 0.1 V tampoco tuvo un efecto sobre la concentración inicial del NPX. Finalmente se tomó una muestra al 4º día de operación, en la que se cuantificó una remoción del 61.9% de la concentración inicial de NPX. Durante este mismo ciclo se obtuvo una  $j_{max}$  de  $0.283 \text{ mA cm}^{-2}$ , la cual fue la mayor alcanzada por el sistema. En un principio se podría atribuir a la presencia del fármaco; sin embargo el % de EC, no fue mayor al alcanzado por la mezcla de AGVs en el ciclo 3 (32.4%). Para corroborar la remoción del NPX en el sistema, se realizaron dos ciclos en las mismas condiciones de operación, alcanzando un máximo de remoción del 65.4% (ver **Figura 3.21**).



**Figura 3.21:** % de remoción de NPX en los ciclos de exposición en CCM-0.1V.

Todos los ciclos de operación del sistema se llevaron a cabo en las mismas condiciones y concentración del sustrato; la única excepción fue el ciclo 8, en el que se añadió la mitad de la concentración de la mezcla de AGV's; es decir  $250 \text{ mg}_{\text{DQO}} \text{ L}^{-1}$ .

Para determinar la posible contribución del NPX generación de corriente en el sistema, en el ciclo 8 (ver **Figura 3.22**) no se añadieron AGVs al medio, solamente el NPX. El día 2 no se observó un incremento en la densidad de corriente y la concentración de NPX fue cuantificada, encontrándose que se mantuvo en el nivel inicial. Posteriormente se añadió la mezcla de AGVs, y de forma inmediata se incrementó la densidad de corriente.

Al final del ciclo se midió la concentración de NPX y se observó una remoción del 47%, por lo que se deduce que la remoción sólo ocurre en presencia de los AGVs, quizás asociada a un mecanismo de biotransformación co-metabólica en la que no intervienen bacterias electroquímicamente activas.

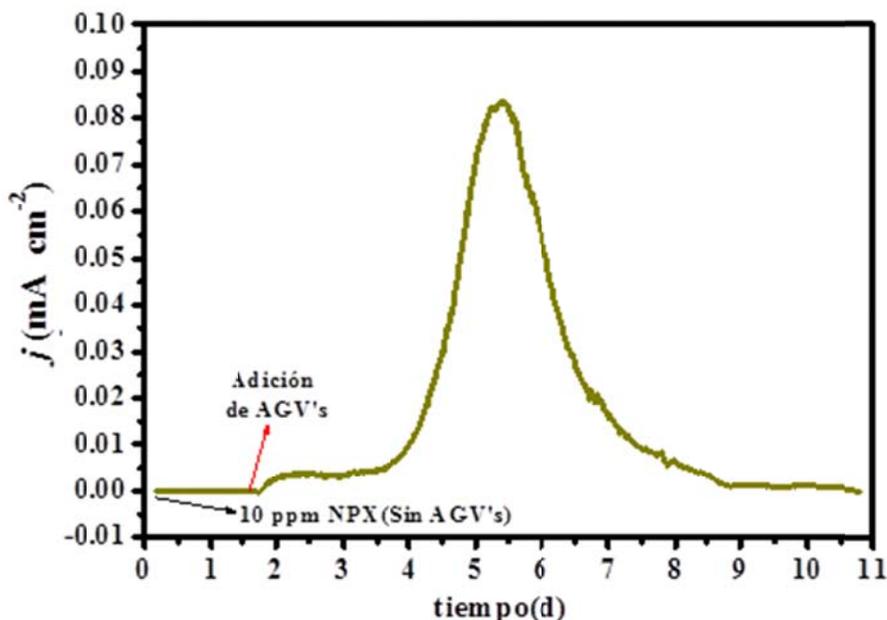


Figura 3.22: Respuesta cronoamperométrica del ciclo 8 después de adicionar NPX (10 ppm) como única fuente de carbono. Al día 2 se añadió la mezcla de AGV's (250 mg<sub>DQO</sub> L<sup>-1</sup>).

a) Estudio voltamperométrico del bioánodo generado en la CCM-0.1V sin la presencia de naproxeno sódico

El bioánodo obtenido al aplicar un potencial constante de 0.1 V, fue estudiado mediante voltamperometría cíclica a una velocidad de barrido de 1 mV s<sup>-1</sup>. En la **Figura 3.23**, se muestran 2 respuestas voltamperométricas, la línea negra corresponde a la del ánodo sin biopelícula y en línea de color rojo la respuesta obtenida al término del ciclo 4 de operación. De forma cualitativa se evidencia la formación de la biopelícula sobre el electrodo ya que las respuestas son muy diferentes antes y después de la colonización.

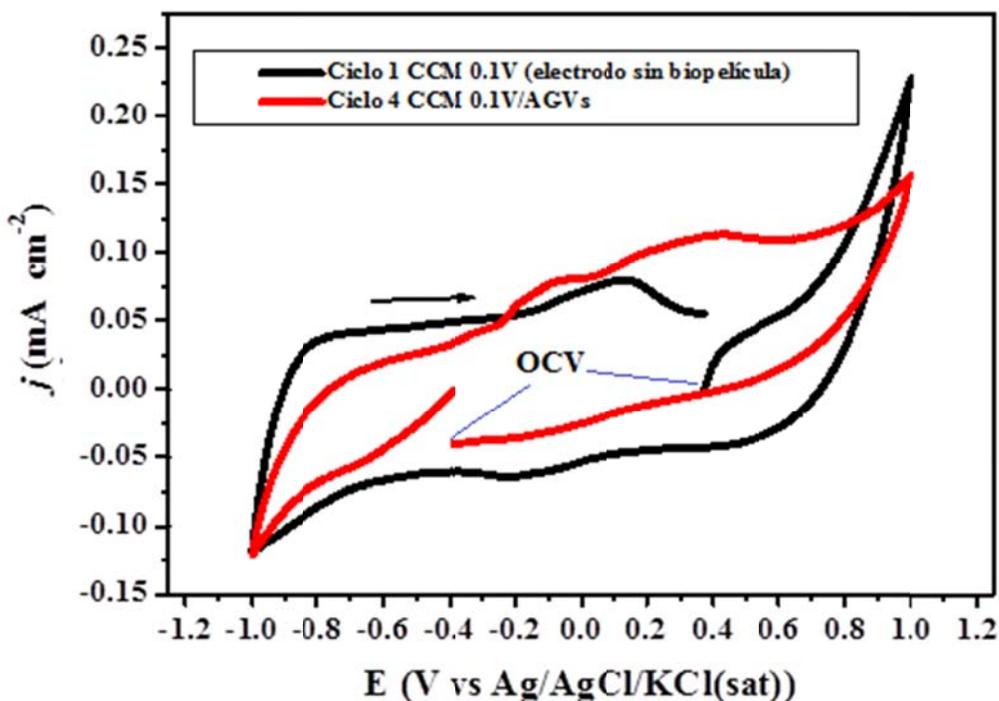


Figura 3.23: Respuesta voltamperométrica del bioánodo de CCM-0.1 V durante el arranque del sistema (ciclo 1) y al final del cuarto ciclo de operación, a una velocidad de barrido de  $v=1 \text{ mV s}^{-1}$ .

Mediante la respuesta voltamperométrica, también se hace evidente el cambio en el potencial de circuito abierto (OCV), el cual es el valor en el que se iniciaban las voltamperometrías, en el caso del ánodo desnudo, el valor de OCV es de +0.4 V mientras que para el bioánodo en el cuarto ciclo es de -0.4 V. Este cambio es la prueba más contundente de la colonización, ya que es normal que el ánodo tenga un valor de potencial negativo.

Para tratar de evidenciar los mecanismos de transferencia electrónica utilizados por las bacterias en este sistema, se realizó el estudio voltamperométrico al inicio y al final del cuarto ciclo, las respuestas obtenidas se muestran en la **Figura 3.24**. Como se observa en la misma, al inicio del ciclo (línea roja), no se presentó ningún proceso redox, ya que la voltamperometría se realizó en el medio fresco. Al término del ciclo (línea negra), se obtuvo una respuesta voltamperométrica con varios picos anódicos anchos en los siguientes valores de potencial: a) -0.31, b) -0.19, c)-0.07, d) 0.19 y e) 0.42 V. La presencia de estos picos al final del ciclo indica una posible excreción de mediadores redox durante el ciclo 4 (después de 7 días de operación).

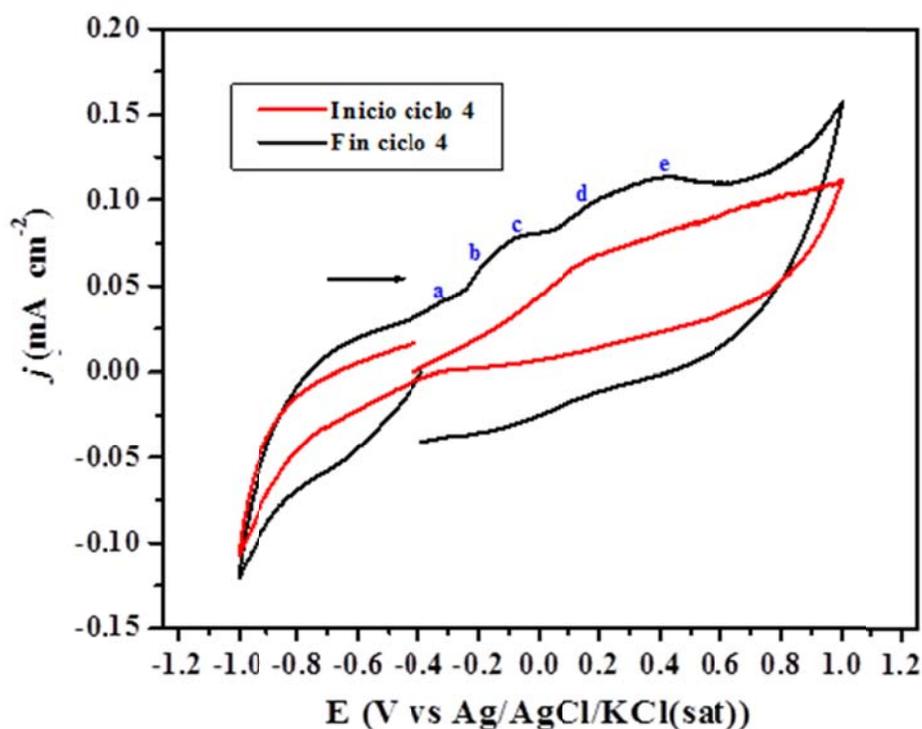
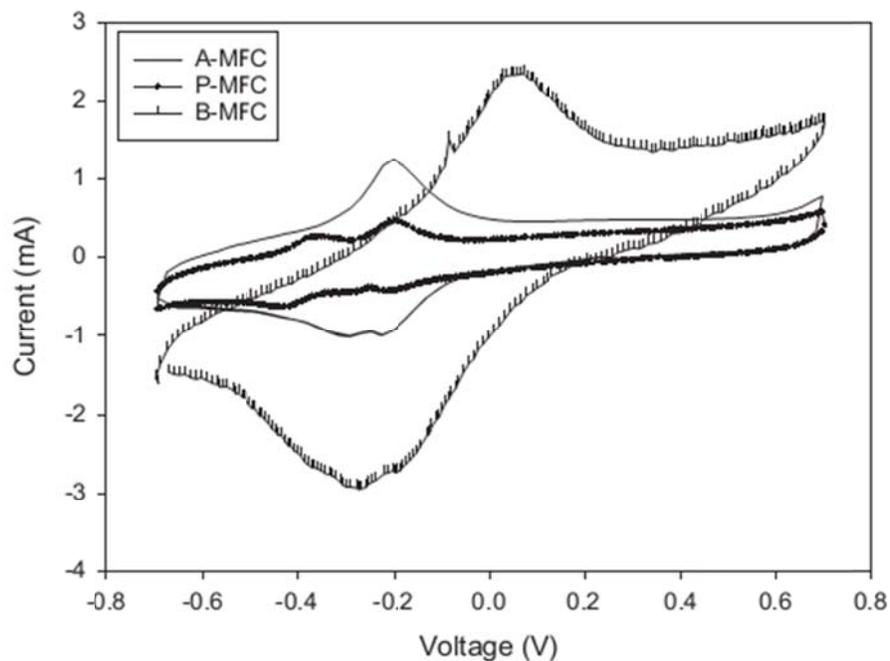


Figura 3.24: Respuesta voltamperométrica del bioanódo en CCM-0.1 V, al inicio y al final del cuarto ciclo de operación,  $\nu=1 \text{ mV s}^{-1}$ .

A diferencia de los bioanodos generados en las CCM-ST y CCM-TT°, el bioanodo del dispositivo CCM-0.1V, presentó una mayor cantidad de picos y además dos de ellos en potenciales positivos (0.189 y 0.419 V). Esto indica que este bioanodo es más diverso o que se excretan sustancias con actividad redox diferentes a las excretadas en los otros sistemas.

Este estudio del bioanodo es importante porque permite caracterizar de forma cualitativa la diversidad de metabolismos presentes en el sistema. Considerando que el sistema de estudio fue alimentado con una mezcla de ácidos grasos, es de esperarse una diversidad mayor de microorganismos y por lo tanto de procesos metabólicos. Si se comparan las respuestas voltamperométricas obtenidas con las respuestas del estudio de Kaur et al., (2013), (ver **Figura 3.25**), se puede apreciar que según el tipo de ácido graso utilizado como sustrato se obtiene una respuesta voltamperométrica con procesos redox que ocurren a potenciales diferentes. Por lo que es de esperarse que los bioanodos generados en

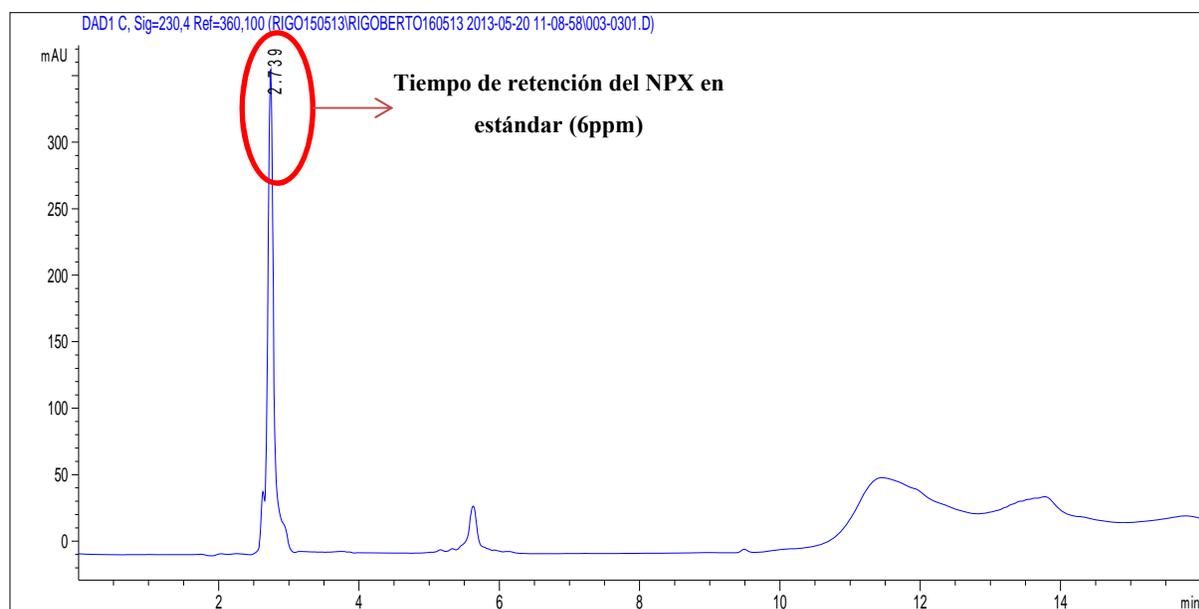
los sistemas evaluados en este trabajo posean una gran diversidad de procesos redox involucrados en la BEA generada.



**Figura 3.25: Respuesta voltamperométrica de bioanodos en CCM (MFC, por sus siglas en inglés) alimentadas con diferentes ácidos grasos volátiles: A-MFC (acetato), P-MFC (propionato) y B-MFC (butirato). Tomada de Kaur et al., (2013).**

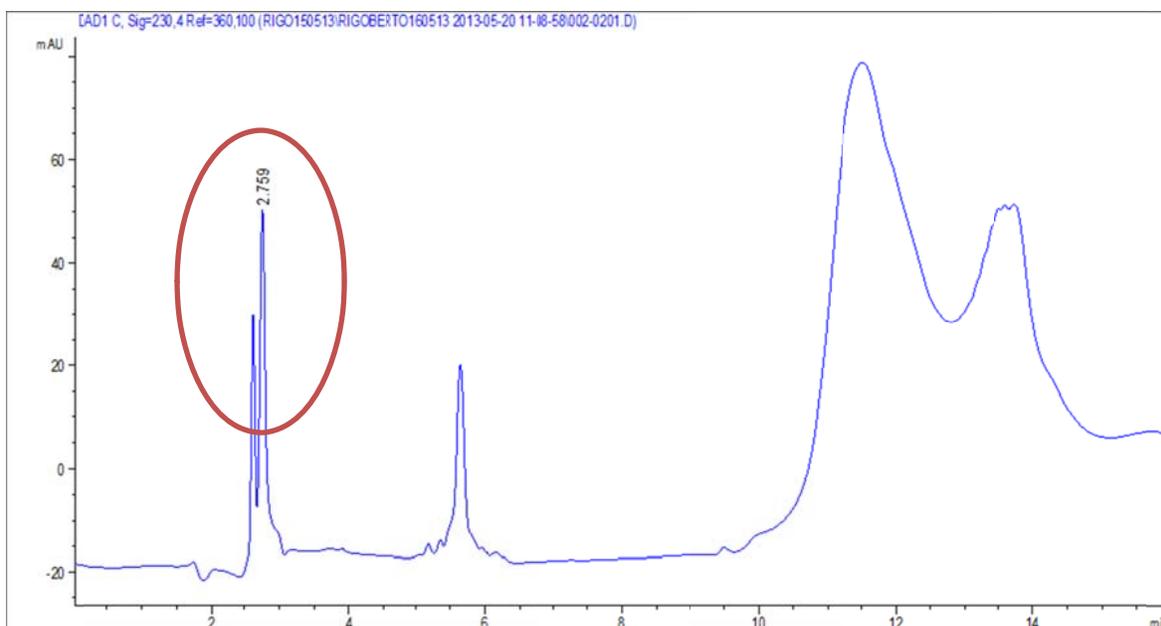
### 3.7 Mecanismo de remoción de naproxeno.

Mediante la cuantificación de NPX por cromatografía de líquidos con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD/FD), no es posible determinar subproductos de degradación. Pero mediante los cromatogramas obtenidos es posible averiguar de forma cualitativa si está presente algún subproducto de degradación de estructura similar al NPX. En la **Figura 3.26**, se muestra el cromatograma obtenido para el estándar de 6 ppm en el que el NPX aparece en un tiempo de retención de 2.739 min.



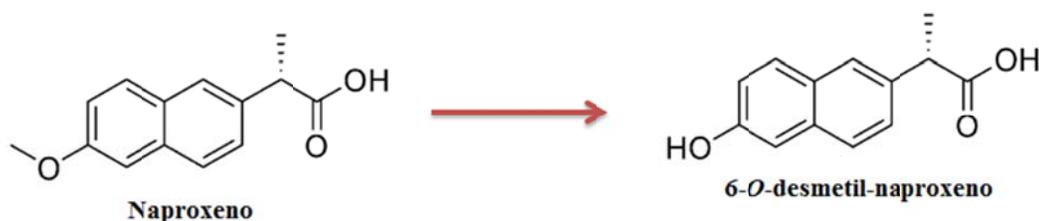
**Figura 3.26:** Cromatograma de estándar de 6 ppm de NPX, el cual aparece con un tiempo de retención de 2.739 min.

En la figura **3.27** se muestra el cromatograma de una de las muestras correspondiente al final del ciclo 7, en el que la remoción alcanzada fue de 44.7%. En el mismo se observa el NPX, con un tiempo de retención de 2.759 min, ligeramente desplazado en comparación con el estándar. También se observa un pico muy cercano al del naproxeno; sin embargo no puede ser atribuido a algún subproducto de degradación ya que la escala de absorbancia es mucho menor en el estándar de la **Figura 3.27**.



**Figura 3.27:** Cromatograma de una muestra de CCM-0.1 V tomada al final de ciclo 7 de operación, donde el NPX aparece con un tiempo de retención de 2.759 min.

En la literatura hay poca información sobre la biotransformación anaerobia del naproxeno sódico. El experimento realizado por, Lahti and Oikari, (2010), utilizando botellas serológicas, medio basal, acetato de sodio como sustrato y un inóculo de planta de tratamiento de aguas residuales (pre-tratado térmicamente para eliminar microorganismos metanogénicos). En dicho experimento se identificó que el principal subproducto de biotransformación del fue caracterizado como 6-O-desmetil-naproxen, utilizando un estándar comercial del mismo compuesto (ver **Figura 3.28**).



**Figura 3.28:** Formación de intermediario en la biotransformación anaerobia del naproxeno propuesto por Lahti and Oikari, (2010).

A pesar de que la remoción no es completa, la transformación del naproxeno a 6-O-desmetil-naproxeno inactiva a la molécula, es decir pierde su actividad como analgésico. Para poder asegurar que dicho metabolismo se presenta en las celdas se requiere utilizar

espectrometría de masas de las muestras e incluso análisis elemental de las muestras puras, lo cual podría confirmar la presencia de este subproducto de la biotransformación.

## Capítulo IV. Conclusiones y Perspectivas.

---

### 4.1 Conclusiones.

- El tratamiento térmico realizado a los ánodos de tela de grafito, incremento el desempeño electroquímico de los ánodos, ya que altero la estructura de las fibras, incrementando sus hidrofiliidad, al mismo tiempo que dio lugar a la manifestación de grupos del tipo carbonilo (quinoides) con actividad redox, los cuales pueden favorecer el proceso de transferencia electrónica.
- Los ánodos tratados térmicamente, favorecieron el proceso de aclimatación de las bacterias electroactivas en las CCMs, formando biopelículas electroquímicamente activas en un periodo de 20 días en comparación con los 42 días que se requirieron para estabilizar el bioanódo en la CCM-ST.
- Durante el primer ciclo de operación de las CCM, el sistema con el ánodo tratado térmicamente (CCM-TT°), tuvo un desempeño 4.15 veces mayor al alcanzado por el sistema con ánodo sin tratamiento (CCM-ST).
- El bioanódo aclimatado con un potencial de 0.1 V, tuvo un buen desempeño en la remoción de los ácidos grasos volátiles, ya que el promedio de la eficiencia coulombica alcanzada fue del 28.2%.
- La remoción de naproxeno sódico sólo ocurrió en la CCM-TT° en el 12° día de operación alcanzando un máximo de remoción del 17.96%.
- El bioanódo formado al aplicar un potencial constate de 0.1 V, tuvo un intervalo de remoción del 44.7 al 65.4% durante 4 ciclos de operación.

- La caracterización de los bioanodos en los diferentes sistemas sugiere la presencia de diversos mediadores redox excretados durante el metabolismo de los ácidos grasos volátiles.
- La remoción de naproxeno en las CCMs es atribuido a las bacterias planctónicas en el sistema ya que las BEAs no lo utilizaron como combustible para la generación de electricidad, por lo que el proceso es atribuido a una remoción o degradación co-metabólica alterna al proceso bioelectroquímico.

## 4.2 Perspectivas.

- Determinar los subproductos de biotransformación y proponer el mecanismo por medio del cual se logra la remoción del naproxeno sódico, para esto se requiere utilizar espectrofometría de masas (HPLC-MS).
- Realizar la identificación de los microorganismos aclimatados al ánodo en cada CCM y compararlos, para determinar el efecto del tratamiento térmico sobre la comunidad bacteriana y el efecto del naproxeno.
- Utilizar un nuevo diseño de celda en la que los electrodos estén más cercanos disminuyendo la resistencia interna.

# Capítulo V. Bibliografía y Anexos.

---

## 5.1 Referencias bibliográficas.

Adhoum, N., Monser, L., Toumi, M., and Boujlel, K. (2003). Determination of naproxen in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a platinum electrode. *Anal. Chim. Acta* 495, 69–75.

Babauta, J., Renslow, R., Lewandowski, Z., and Beyenal, H. (2012). Electrochemically active biofilms: facts and fiction. A review. *Biofouling* 28, 789–812.

Bard, A.J., and Faulkner, L.R. (2001). *Electrochemical methods: fundamentals and applications* (New York: Wiley).

Bayram, E., and Ayranci, E. (2011). A systematic study on the changes in properties of an activated carbon cloth upon polarization. *Electrochimica Acta* 56, 2184–2189.

Biniak, S., Pakula, M., and Świątkowski, A. (1994). Cyclic voltammetric studies of heat treated and oxidized carbon fibres in organic and aqueous solutions. *Monatshefte Für Chem. Chem. Mon.* 125, 1365–1370.

Bleda-Martínez, M.J., Maciá-Agulló, J.A., Lozano-Castelló, D., Morallón, E., Cazorla-Amorós, D., and Linares-Solano, A. (2005). Role of surface chemistry on electric double layer capacitance of carbon materials. *Carbon* 43, 2677–2684.

Cai, H., Wang, J., Bu, Y., and Zhong, Q. (2012). Treatment of carbon cloth anodes for improving power generation in a dual-chamber microbial fuel cell. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* n/a–n/a.

Cercado, B., Cházaro-Ruiz, L.F., Ruiz, V., López-Prieto, I. de J., Buitrón, G., and Razo-Flores, E. (2013a). Biotic and abiotic characterization of bioanodes formed on oxidized carbon electrodes as a basis to predict their performance. *Biosens. Bioelectron.* 50, 373–381.

Cercado, B., Byrne, N., Bertrand, M., Pocaznoi, D., Rimboud, M., Achouak, W., and Bergel, A. (2013b). Garden compost inoculum leads to microbial bioanodes with potential-independent characteristics. *Bioresour. Technol.* 134, 276–284.

Chae, K.-J., Choi, M.-J., Lee, J.-W., Kim, K.-Y., and Kim, I.S. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* 100, 3518–3525.

- Dominguez-Benetton, X., Sevda, S., Vanbroekhoven, K., and Pant, D. (2012). The accurate use of impedance analysis for the study of microbial electrochemical systems. *Chem. Soc. Rev.* *41*, 7228.
- Du, Z., Li, H., and Gu, T. (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Adv.* *25*, 464–482.
- Feng, Y., Yang, Q., Wang, X., and Logan, B.E. (2010). Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air–cathode microbial fuel cells. *J. Power Sources* *195*, 1841–1844.
- Fricke, K., Harnisch, F., and Schröder, U. (2008). On the use of cyclic voltammetry for the study of anodic electron transfer in microbial fuel cells. *Energy Environ. Sci.* *1*, 144–147.
- Hamelers, H.V.M., Heijne, A., Sleutels, T.H.J.A., Jeremiasse, A.W., Strik, D.P.B.T.B., and Buisman, C.J.N. (2009). New applications and performance of bioelectrochemical systems. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *85*, 1673–1685.
- Harnisch, F., and Freguia, S. (2012). A Basic Tutorial on Cyclic Voltammetry for the Investigation of Electroactive Microbial Biofilms. *Chem. - Asian J.* *7*, 466–475.
- Harnisch, F., Gimkiewicz, C., Bogunovic, B., Kreuzig, R., and Schröder, U. (2013). On the removal of sulfonamides using microbial bioelectrochemical systems. *Electrochem. Commun.* *26*, 77–80.
- Huang, L., Cheng, S., and Chen, G. (2011). Bioelectrochemical systems for efficient recalcitrant wastes treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* *86*, 481–491.
- Jeong, C.M., Choi, J.D.R., Ahn, Y., and Chang, H.N. (2008). Removal of volatile fatty acids (VFA) by microbial fuel cell with aluminum electrode and microbial community identification with 16S rRNA sequence. *Korean J. Chem. Eng.* *25*, 535–541.
- Kaur, A., Kim, J.R., Michie, I., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., and Premier, G.C. (2013). Microbial fuel cell type biosensor for specific volatile fatty acids using acclimated bacterial communities. *Biosens. Bioelectron.* *47*, 50–55.
- Kiran Kumar, A., Venkateswar Reddy, M., Chandrasekhar, K., Srikanth, S., and Venkata Mohan, S. (2012). Endocrine disruptive estrogens role in electron transfer: Bioelectrochemical remediation with microbial mediated electrogenesis. *Bioresour. Technol.* *104*, 547–556.
- Klavarioti, M., Mantzavinos, D., and Kassinos, D. (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environ. Int.* *35*, 402–417.

kumar, G.G., Sarathi, V.G.S., and Nahm, K.S. (2013). Recent advances and challenges in the anode architecture and their modifications for the applications of microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* *43*, 461–475.

Lahti, M., and Oikari, A. (2010). Microbial Transformation of Pharmaceuticals Naproxen, Bisoprolol, and Diclofenac in Aerobic and Anaerobic Environments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* *61*, 202–210.

Liu, H., Cheng, S., and Logan, B.E. (2005). Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* *39*, 658–662.

Liu, J., Qiao, Y., Guo, C.X., Lim, S., Song, H., and Li, C.M. (2012). Graphene/carbon cloth anode for high-performance mediatorless microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* *114*, 275–280.

Liu, Y., Harnisch, F., Fricke, K., Schröder, U., Climent, V., and Feliu, J.M. (2010). The study of electrochemically active microbial biofilms on different carbon-based anode materials in microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* *25*, 2167–2171.

Logan, B.E. (2008). *Microbial fuel cells* (Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience).

Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., and Rabaey, K. (2006). Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology †. *Environ. Sci. Technol.* *40*, 5181–5192.

Martín, J., Camacho-Muñoz, D., Santos, J.L., Aparicio, I., and Alonso, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *J. Hazard. Mater.* *239-240*, 40–47.

Méndez-Arriaga, F., Esplugas, S., and Giménez, J. (2008). Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO<sub>2</sub> and simulated solar irradiation. *Water Res.* *42*, 585–594.

Menéndez, J.A., Phillips, J., Xia, B., and Radovic, L.R. (1996). On the modification and characterization of chemical surface properties of activated carbon: in the search of carbons with stable basic properties. *Langmuir* *12*, 4404–4410.

Montes-Morán, M.A., Suárez, D., Menéndez, J.A., and Fuente, E. (2004). On the nature of basic sites on carbon surfaces: an overview. *Carbon* *42*, 1219–1225.

Polovina, M., Babić, B., Kaluderović, B., and Dekanski, A. (1997). Surface characterization of oxidized activated carbon cloth. *Carbon* *35*, 1047–1052.

Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M., and Verstraete, W. (2004). Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* *70*, 5373–5382.

Reungoat, J., Escher, B.I., Macova, M., and Keller, J. (2011). Biofiltration of wastewater treatment plant effluent: Effective removal of pharmaceuticals and personal care products and reduction of toxicity. *Water Res.* *45*, 2751–2762.

Salitra, G., Soffer, A., Eliad, L., Cohen, Y., and Aurbach, D. (2000). Carbon Electrodes for Double-Layer Capacitors I. Relations Between Ion and Pore Dimensions. *J. Electrochem. Soc.* *147*, 2486.

Shen, W., Li, Z., and Liu, Y. (2008). Surface chemical functional groups modification of porous carbon. *Recent Patents Chem. Eng.* *1*, 27–40.

Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C., and Kaupenjohann, M. (2008). Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City–Mezquital Valley. *Water Res.* *42*, 2124–2134.

Suryanarayanan, V., Zhang, Y., Yoshihara, S., and Shirakashi, T. (2005). Voltammetric Assay of Naproxen in Pharmaceutical Formulations Using Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis* *17*, 925–932.

Teng, S.-X., Tong, Z.-H., Li, W.-W., Wang, S.-G., Sheng, G.-P., Shi, X.-Y., Liu, X.-W., and Yu, H.-Q. (2010). Electricity generation from mixed volatile fatty acids using microbial fuel cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *87*, 2365–2372.

Torres, C.I., Kato Marcus, A., and Rittmann, B.E. (2007). Kinetics of consumption of fermentation products by anode-respiring bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *77*, 689–697.

Wang, X., Feng, Y., Ren, N., Wang, H., Lee, H., Li, N., and Zhao, Q. (2009a). Accelerated start-up of two-chambered microbial fuel cells: Effect of anodic positive poised potential. *Electrochimica Acta* *54*, 1109–1114.

Wang, X., Cheng, S., Feng, Y., Merrill, M.D., Saito, T., and Logan, B.E. (2009b). Use of Carbon Mesh Anodes and the Effect of Different Pretreatment Methods on Power Production in Microbial Fuel Cells. *Environ. Sci. Technol.* *43*, 6870–6874.

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

Wen, Q., Kong, F., Zheng, H., Yin, J., Cao, D., Ren, Y., and Wang, G. (2011a). Simultaneous processes of electricity generation and ceftriaxone sodium degradation in an air-cathode single chamber microbial fuel cell. *J. Power Sources* *196*, 2567–2572.

Wen, Q., Kong, F., Zheng, H., Cao, D., Ren, Y., and Yin, J. (2011b). Electricity generation from synthetic penicillin wastewater in an air-cathode single chamber microbial fuel cell. *Chem. Eng. J.* *168*, 572–576.

Winter, M., and Brodd, R.J. (2004). What Are Batteries, Fuel Cells, and Supercapacitors? *Chem. Rev.* *104*, 4245–4270.

Zhao, F., Slade, R.C., and Varcoe, J.R. (2009). Techniques for the study and development of microbial fuel cells: an electrochemical perspective. *Chem. Soc. Rev.* 38, 1926–1939.

Zhou, M., Chi, M., Luo, J., He, H., and Jin, T. (2011). An overview of electrode materials in microbial fuel cells. *J. Power Sources* 196, 4427–4435.

Zoski, C.G. (2007). *Handbook of electrochemistry* (Amsterdam; Boston: Elsevier).

## 5.2 Anexos.

### 5.2.1 Análisis Molecular y Bioinformático:

Se realizó la extracción de ADN recolectando las muestras del sedimento, sobrenadante y del electrodo, posteriormente se utilizó la clonación de genes mediante el vector PROMEGA pGEM-T. Se utilizaron oligonucleótidos universales para la amplificación del fragmento del gen RNAr 16S ( 1504 pb ) mediante la técnica de PCR . Una vez obtenida la confirmación del inserto, se envió a secuenciar al laboratorio de LANBAMA el cual envió la secuencia de nucleótidos de cada muestra y esta a su vez se analizó utilizando la herramienta de búsqueda NCBI para identificar la secuencia de coincidencia más cercana mediante el uso del Blast-n. Posteriormente fue construido el árbol filogenético utilizando el método del neighbor-joining en el programa MEGA 5,2 obteniéndose los siguientes resultados:



Figura 5.1: Relación filogenética basada en el análisis comparativo de las secuencias de RNAr 16S recuperados del ánodo de CCM-0.1V.

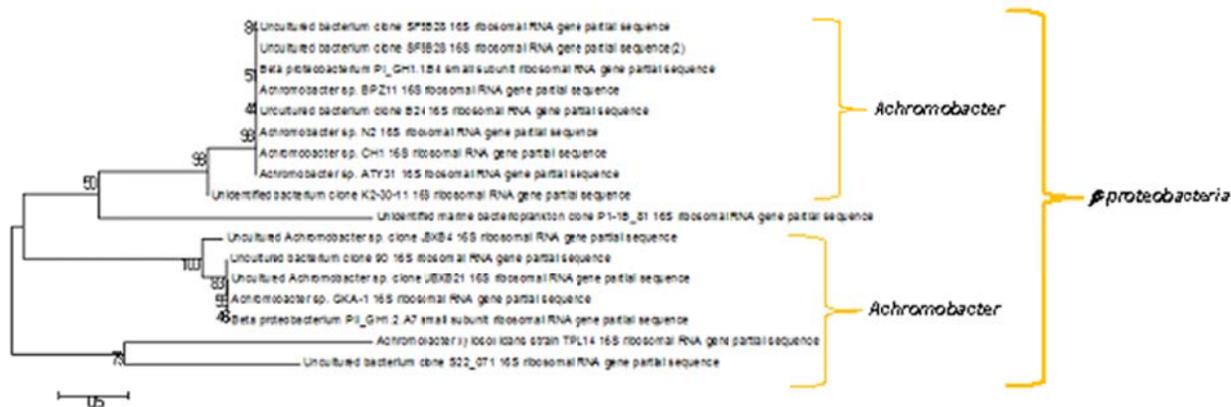


Figura 5.2: Relación filogenética basada en el análisis comparativo de las secuencias de RNAr 16S recuperados del sobrenadante de la cámara anódica de CCM-0.1V.

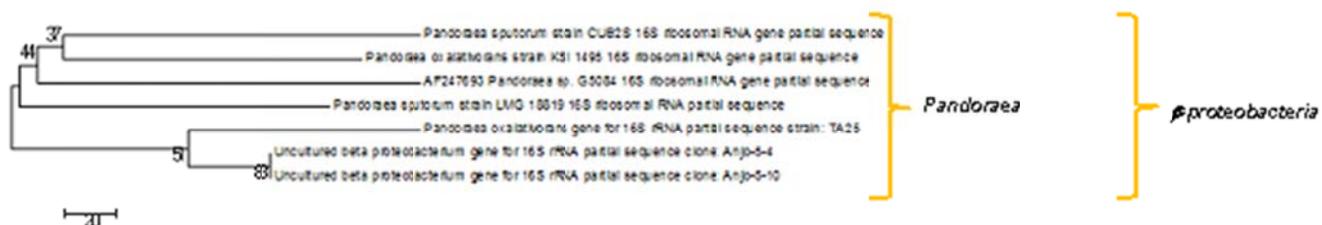


Figura 5.3: Relación filogenética basada en el análisis comparativo de las secuencias de RNAr 16S recuperados del sedimento de la cámara anódica de CCM-0.1V.

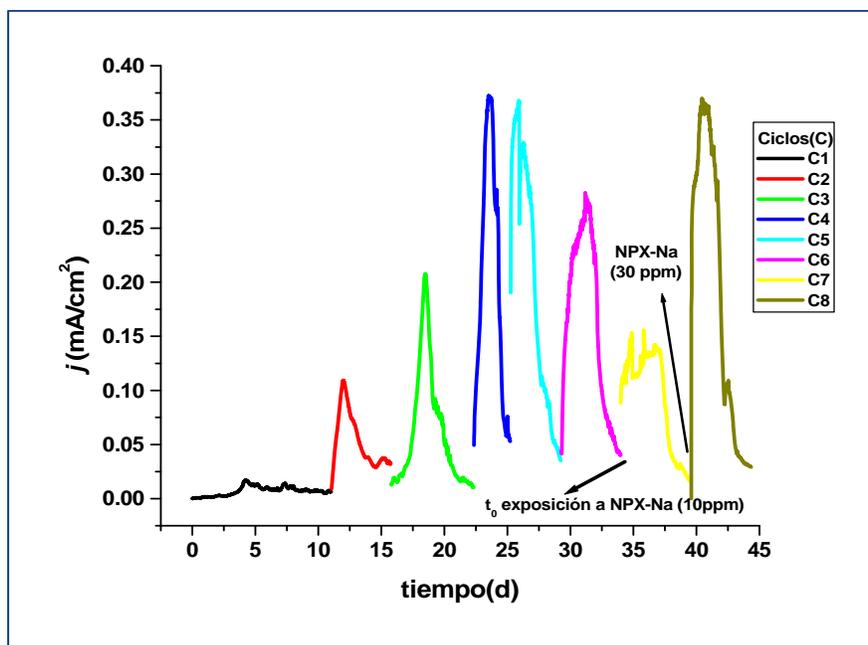
a) *Procedimiento de la extracción del DNA:*

Se tomaron muestras del electrodo, sedimento y del sobrenadante, se colocaron en tubos de 50 ml con fondo cónico, los cuales fueron rotulados. Se agregaron 960 µl de fenol precalentado a 65°C a cada tubo. **Nota: el reactivo es fenol-Cloroformo y se debe tomar de la capa de abajo.** El electrodo es enjuagado con una solución de buffer de lisis y posteriormente es retirado. Los tubos se incuban a 65° durante un periodo de 30 minutos (se vortexea para homogenizar cada 5 minutos). Al terminar el tiempo de incubación se ponen

en hielo durante 5 minutos. Se agrega a cada tubo 80  $\mu$ l de cloroformo. Se vortexea y se centrifuga durante 10 minutos a 10 000 rpm. Pasado este tiempo se recupera el sobrenadante y se divide la muestra en dos tubos eppendorf y se ponen 400  $\mu$ l de cada uno. Posteriormente se le añade 20  $\mu$ l de NaCl 5M y 1ml de Isopropanol a cada tubo. Se incuban las muestras a -40°C durante 30 minutos y centrifugan a 8000 rpm durante 30 min a 4°C. Después, se retira el líquido sobrenadante del lado contrario a donde se espera que este la pastilla, misma que se lava con 250  $\mu$ l de EtOH absoluto y 100  $\mu$ l de TE + de NaCl 5M. Pasa incubación a -40°C durante 15 minutos y se centrifuga a 8000 rpm 15 minutos a 14°C, eliminar el sobrenadante y se agrega 1 ml de EtOH al 70% Se centrifuga hasta llegar a 10 000 rpm y se retira el sobrenadante. Se deja secar abierto y se resuspende la pastilla con el DNA en 50  $\mu$ l de TE.

### **5.2.2 CCM 0.1 V / Sustrato: acetato de sodio.**

En la **Figura 5.4** se muestra la respuesta del sistema donde se formó cronoamperométricamente una biopelícula electroquímicamente activa mediante la aplicación de un potencial constante de 0.1V vs (Ag/AgCl/KCl(sat)). La fuente de carbono en esta celda fue acetato de sodio (1g/L). Cada ciclo representa el cambio de anolito y catolito en ambas cámaras de la celda. A lo largo de dichos ciclos se observa un incremento en la densidad de corriente, desde la etapa primaria en la formación de la biopelícula hasta llegar a un estado estable en el ciclo 5. La estabilidad del sistema se confirmó en el ciclo 6 donde no se alcanzó el valor de *j<sub>max</sub>* de los ciclos anteriores, pero si una densidad de carga similar, al ciclo 5. Esto demuestra que 4 ó 5 ciclos permitieron el desarrollo y maduración de la biopelícula electroquímicamente activa, para la posterior evaluación con el naproxeno sódico (Harnisch et al., 2013).



**Figura 5.4:** Formación cronoamperométrica de biopelícula mediante un potencial anódico constante de 0.1V utilizando acetato de sodio (1g/L) como sustrato principal.

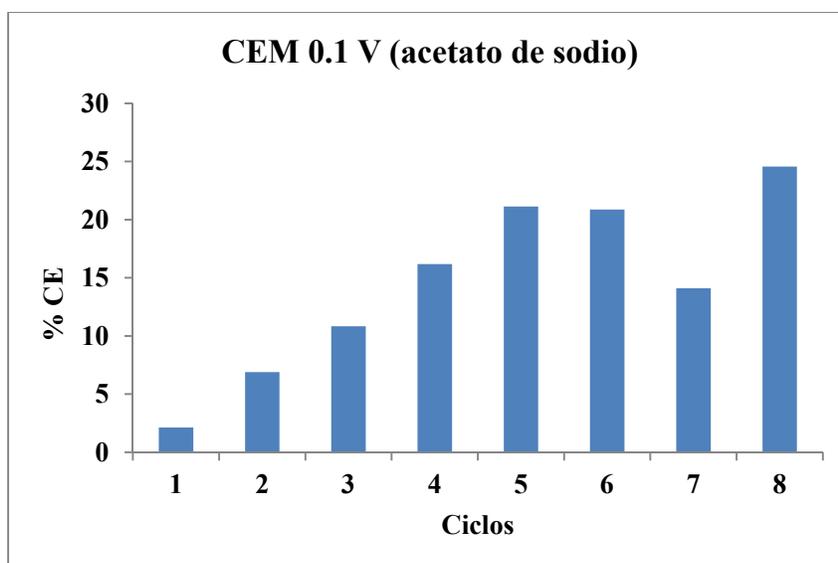
A partir del ciclo 7 se agregó al medio el NPX, utilizando concentraciones altas (10 a 30 ppm) que permitieran determinar el efecto del compuesto en el desempeño de la biopelícula. Durante el ciclo 7 no se observó la remoción de NPX, sin embargo el sistema sufrió una caída en la densidad de corriente, lo que en un principio se atribuyó como un efecto inhibitorio debido a la presencia del contaminante. Para demostrar el efecto sobre la biopelícula electroactiva, se incrementó la concentración hasta 30 ppm, en el ciclo 8, sin embargo en este la biopelícula incremento su actividad catalítica al llegar a una densidad de carga de  $0.89279 \text{ mA cm}^{-2}$ , la cual fue el valor máximo alcanzado por el sistema. En dicho ciclo tampoco se observó la remoción del contaminante.

En la **Tabla 5.1** se resumen los parámetros obtenidos en la CEM 0.1V. a lo largo de cada ciclo de trabajo del SBE:

**Tabla 5.1: Desempeño de la CEM 0.1V/Acetato.**

CICLOS	Q(mA/cm <sup>2</sup> ).d	<i>j</i> <sub>max</sub> (mA/cm <sup>2</sup> )	% CE
1	0.07759	0.01719	2.134
2	0.25054	0.10948	6.893
3	0.39362	0.20785	10.829
4	0.58805	0.37262	16.178
5	0.76803	0.36802	21.130
6	0.75887	0.28292	20.878
7	<b>0.51245</b>	<b>0.15598</b>	<b>14.099</b>
8	<b>0.89279</b>	<b>0.37007</b>	<b>24.563</b>

En cuanto a la eficiencia coulombica (%CE) de la celda se alcanzó el nivel bajo reportado por otros autores que utilizan el mismo sustrato (**Figura 5.5**). Esto es atribuido generalmente a la naturaleza del inóculo utilizado. La CE es un buen parámetro para determinar el momento en que este tipo de sistemas alcanzan el estado estable, ya que como se observa en la gráfica 6, el incremento a lo largo de los ciclos tiene un comportamiento lineal hasta alcanzar la estabilidad en el ciclo 6.



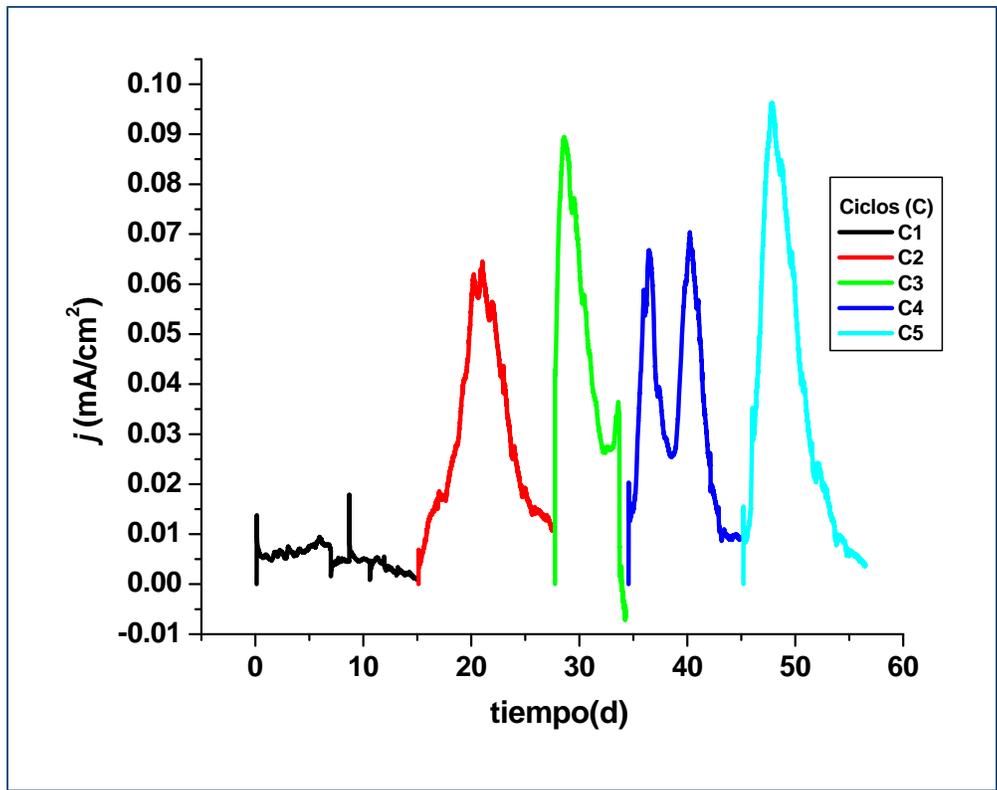
**Figura 5.5: Eficiencia coulombica de la CEM 0.1/Acetato.**

Debido a que no se observó la remoción del NPX-Na, en este primer sistema se decidió cambiar de sustrato hacia uno más complejo que permitirá el desarrollo de una comunidad bacteriana más diversa. Por lo que se eligió utilizar una mezcla de 3 ácidos grasos volátiles (AGVs): ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico.

### **5.2.3 CEM 0.6V/Sustrato: AGVs.**

Este sistema trabajo de la misma manera que los dos anteriores, con la excepción de que el potencial anódico aplicado fue de 0.6V. se eligió este valor por que esta reportado en la literatura que a valores de potencial altos se genera una mayor diversidad de microorganismos electroquímicamente activos (Torres et al., 2009). Por otro lado tambien se ha reportado en CEM para la generación de hidrogeno, que valores cercanos a este valor potencial, favorecen la remoción de AGVs (Lenin Babu et al., 2013).

En cuanto al desempeño del sistema también se ha reportado que no generan una elevada densidad de corriente, debido a que la tendencia en estos sistemas es que el ánodo se carga negativamente conforme es colonizado. La mayor densidad de corriente obtenida en esta celda fue de  $0.09629 \text{ mA cm}^{-2}$ . Por otro lado la velocidad de arranque, al igual que en la CEM 0.1V/AGVs, fue menor que la comprada con CEM 0.1/Acetato (**Figura 5.6**).



**Figura 5.6: Formación cronoamperométrica de biopelícula mediante un potencial anódico constante de 0.6V utilizando una mezcla de AGVs (500 mgDQO/L) como sustratos principales.**

Al bajar su  $J_{max}$  es evidente que se tendrán valor de %CE bajos, el mayor alcanzado fue de 21.1% (figura 12).

**Tabla 5.2: Desempeño de CEM 0.6V/AGVs.**

CICLOS	Q(mA/cm2)d	$j_{max}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	%CE
1	0.0767	0.0179	3.93175391
2	0.36233	0.06454	18.5735645
3	0.30884	0.08942	15.831589
4	0.34839	0.07041	17.8589797
5	0.41156	0.09629	21.0971661

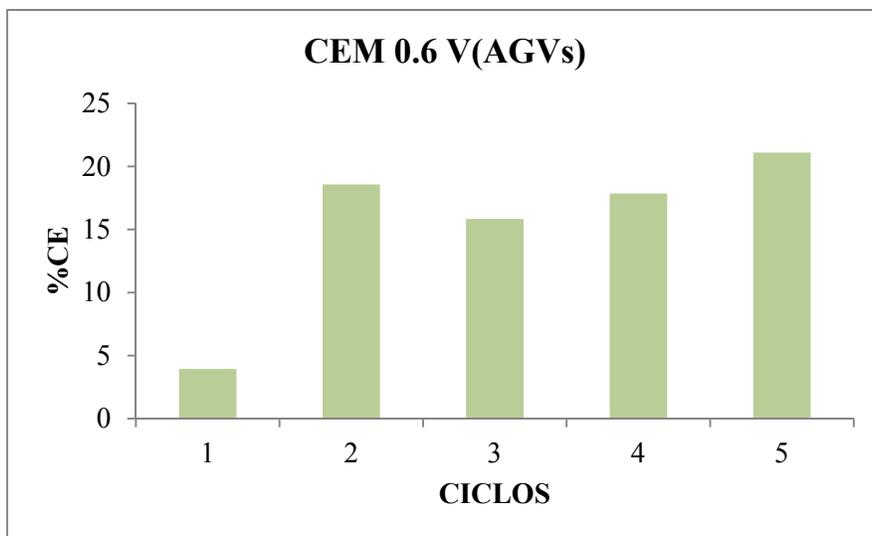


Figura 5.7: Eficiencia coulombica de la CEM 0.6/AGVs.

#### 5.2.4 Fisisorción de nitrógeno.

Para determinar el área específica se empleó la ecuación de Brunauer-Emmet-Teller (BET):

$$\frac{P}{V \cdot (P_0 - P)} = \left( \frac{1}{V_{MC.C}} \right) + \left[ \left( \frac{C-1}{V_{MC.C}} \right) \cdot \left( \frac{P}{P_0} \right) \right] \text{Ec. 1}$$

$$C = \exp \left[ \frac{E_1 - E_2}{R \cdot T} \right] \text{Ec. 2}$$

Donde:

$E_1$  = Calor de adsorción de la primera capa del adsorbato, cal/mol

$E_2$  = Calor de licuefacción del gas, cal/mol

$P$  = Presión del  $N_2$  en equilibrio con el  $N_2$  adsorbido sobre el sólido, atm

$P_0$  = Presión del  $N_2$  requerido para la saturación a la temperatura del experimento, atm

R = Constante de los gases ideales, cal/mol.K

T = Temperatura absoluta, K

V = Volumen del N<sub>2</sub> adsorbido a presión P, m<sup>3</sup>/g

V<sub>MC</sub> = Volumen del N<sub>2</sub> requerido para formar una monocapa sobre la superficie del adsorbente, m<sup>3</sup>/g.

Para obtener el área específica (S) de las fibras en la tela de carbón (área BET) se utiliza V<sub>MC</sub> y el área proyectada que ocupa una molécula de nitrógeno, con la ecuación:

$$S = \left( \frac{P_e \cdot V_{MC}}{R \cdot T_e} \right) (N_A \cdot S_{N_2}) \text{ Ec. 3}$$

Donde:

S = Área específica, m<sup>2</sup>/g.

N<sub>A</sub> = Número de Avogadro (6.023x10<sup>23</sup>, moléculas/mol)

P<sub>e</sub> = Presión estándar, 1 atm

R = Constante de los gases ideales, 0.08206 L atm/mol K

S<sub>N<sub>2</sub></sub> = Área proyectada que ocupa una molécula de N<sub>2</sub>, 1.62nm<sup>2</sup>/molécula

T<sub>e</sub> = Temperatura estándar, 273.15 K

### 5.2.5 Determinación de sitios activos.

Este procedimiento se realizó de acuerdo al método estipulado desde 1994: Titulaciones Boehm, el cual se basa en titulaciones ácido-base. Las ecuaciones siguientes muestran la solución neutralizante utilizada para cada uno de los sitios activos y como se calcula cada uno de estos.

$C_{SC} = C_{SC}$	NaHCO <sub>3</sub> , 0.1 N	ec. 1
$C_{SCL} = C_{SC} + C_{SL}$	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 0.1 N	ec. 2
$C_{SCLF} = C_{SC} + C_{SL} + C_{SF}$	NaOH, 0.1 N	ec. 3
$C_{SAT} = C_{SC} + C_{SL} + C_{SF} + C_{SCa}$	NaOC <sub>2</sub> H <sub>2</sub> , 0.1 N	ec. 4

Donde:

$C_{SC}$  = Concentración de sitios carboxílicos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SCL}$  = Concentración de sitios carboxílicos y lactónicos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SL}$  = Concentración de sitios lactónicos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SCa}$  = Concentración de sitios carbonilos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SCLF}$  = Concentración de sitios carboxílicos, lactónicos y fenólicos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SF}$  = Concentración de sitios fenólicos, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

$C_{SAT}$  = Concentración de sitios ácidos totales, ( $\text{meq}\cdot\text{g}^{-1}$ )

Para cada una de las determinaciones se utilizó la cantidad de 0.1 g del material en 25 mL de solución neutralizante, los cuales se colocaron en tubos de propileno de 50 mL, se sellaron y se dejaron en agitación constante a 150 rpm durante 5 días. Pasado el tiempo, la solución se filtró y se tituló con una solución de HCl 0.1 N.

Las concentraciones de los sitios activos en la superficie de la fibra se calcularon con la siguiente ecuación:

$$CSA = \frac{V_{in} (C_{in} - C_{fn})}{m} \times 1000$$

Donde:

$C_{SA}$  = Concentración de sitios activos, ( $\text{meq/g}$ )

$V_{in}$  = Volumen inicial de la solución neutralizante, (L)

$C_{in}$  = Concentración inicial de la solución neutralizante, ( $\text{eq/L}$ )

$C_{fn}$  = Concentración final de la solución neutralizante. ( $\text{eq/L}$ )

$M$  = Masa de la tela de carbón (g)

La concentración final ( $C_{fn}$ ) de la solución neutralizante fue determinada con los datos de titulación y utilizando la ecuación:

$$C_{fn} = \frac{V_T \cdot C_T}{V_m}$$

Donde:

$V_T$  = Volumen utilizado de la solución titulante, (mL)

$C_T$  = Concentración de la solución titulante, ( $\text{eq/L}$ )

$V_m$  = Volumen de la muestra de la solución neutralizante, (mL)

El volumen utilizado, en la solución titulante se identifica con la gráfica de la segunda derivada, para la cual se utiliza:

$$D2 = \frac{d^2pH}{dV^2} = \frac{\Delta pH2 - \Delta pH1}{VT3 - VT2}$$

### **5.2.6 Estudios voltamperométricos de la oxidación del naproxeno sódico sobre electrodos de carbón.**

El estudio de la oxidación electroquímica de NPX, utilizando las telas de grafito, se realizó para discriminar entre un proceso de remoción biológico y el proceso electroquímico, al aplicar potenciales cercanos al valor obtenido en los SBM. Además, este estudio permitió conocer las interacciones entre los electrodos y el contaminante, sin la presencia de entidades biológicas.

En la literatura no se hay reportes sobre la oxidación del NPX en medio acuoso, existen reportes en medios orgánicos como acetonitrilo sobre carbón vítreo, donde se encontró que esta especie lleva a cabo una oxidación electroquímica, químicamente irreversible, cuya respuesta presentó un potencial pico anódico a 1.32V(vs Ag/AgCl) (Suryanarayanan et al., 2005).

En este trabajo se encontró una respuesta similar, como se muestra en la **Figura 5.7**, la cual corresponde a una respuesta voltamperométrica sobre el E-Cvi, en una solución 10mM de NPX en 1M de KNO<sub>3</sub>. En este caso el potencial pico anódico del NPX (H) se encontró a 0.86V (vs Ag/AgCl). Al realizar un segundo barrido (VC 2), ya no observó el pico, esto se debe a que el NPX, puede reaccionar con la superficie del electrodo, adsorbiéndose.

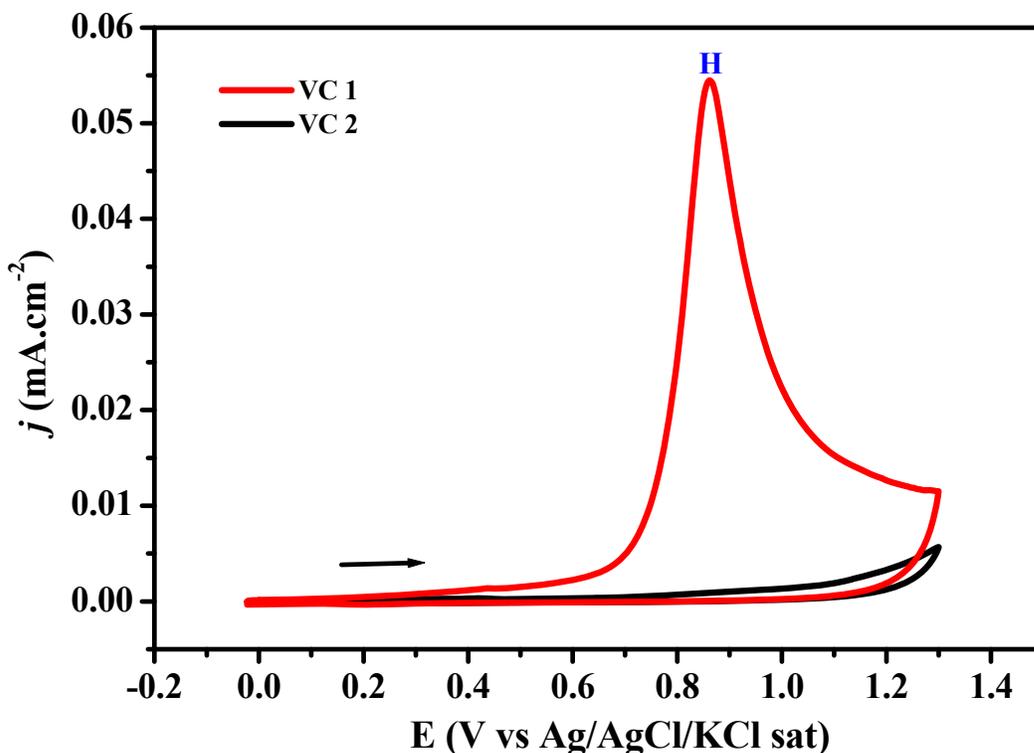


Figura 5.8: Estudio voltamperométrico con electrodo de carbón vítreo (E-Cvi), 10mM de NPX en 1M de  $\text{KNO}_3$  velocidad de barrido  $5 \text{ mV s}^{-1}$ .

El estudio voltamperométrico bajo las mismas condiciones experimentales, sobre los electrodos de tela de grafito, presentaron mayores densidades de corriente pico en comparación con el E-Cvi, lo que se atribuye a la configuración física de la tela y al incremento del área superficial en el E-TT°.

En el caso del electrodo E-ST, se observó (**Figura 5.8**), que adicional al pico correspondiente a la oxidación primaria del NPX (I) ( $0.83 \text{ V}$  vs Ag/AgCl), se aprecian dos a  $1.0 \text{ V}$ (J) y  $1.09 \text{ V}$ (K) (vs Ag/AgCl). La presencia de estos picos adicionales, puede deberse a los grupos funcionales presentes en la superficie del material. Por otro lado, al realizar un segundo ciclo voltamperométrico, se observa que el electrodo pierde actividad, esto quiere decir que su superficie es modificada, debido a la posible adsorción del NPX en su superficie, tal como fue observado en el E-Cvi.

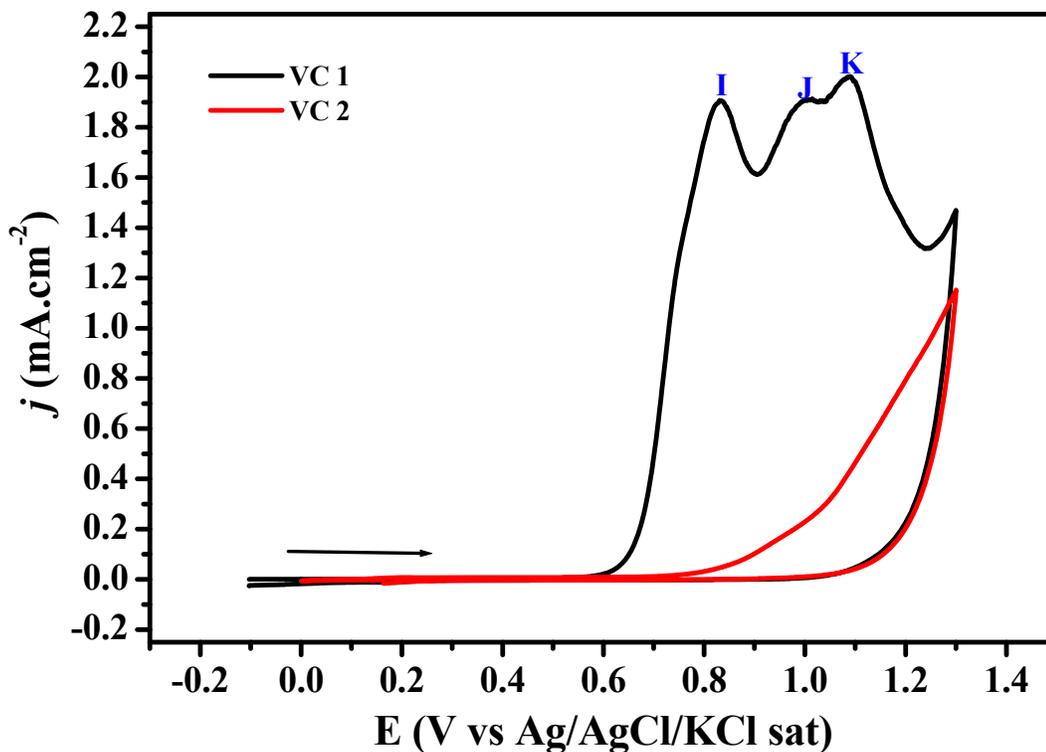


Figura 5.8: Respuesta voltamperométrica del NPX 10mM sobre E-ST, en 1M de  $\text{KNO}_3$  velocidad de barrido  $5 \text{ mVs}^{-1}$ .

En la **Figura 5.9**, se muestran los voltamperogramas obtenidos con el E-TT°, en el que se observan dos picos: a 0.85 V (L) y 1.11 V (M). El pico L, es atribuido al proceso de oxidación del NPX, ya que se encuentra muy cercano al valor de potencial observado en E-Cvi (0.86V) y E-ST (0.83V). El segundo pico (M), es atribuido a una re-oxidación del compuesto, sobre el electrodo. A diferencia del E-ST, este electrodo permite dos ciclos más de oxidación del NPX sin modificar drásticamente su actividad. Hasta el ciclo número 4 en el que no se aprecian ningún proceso redox.

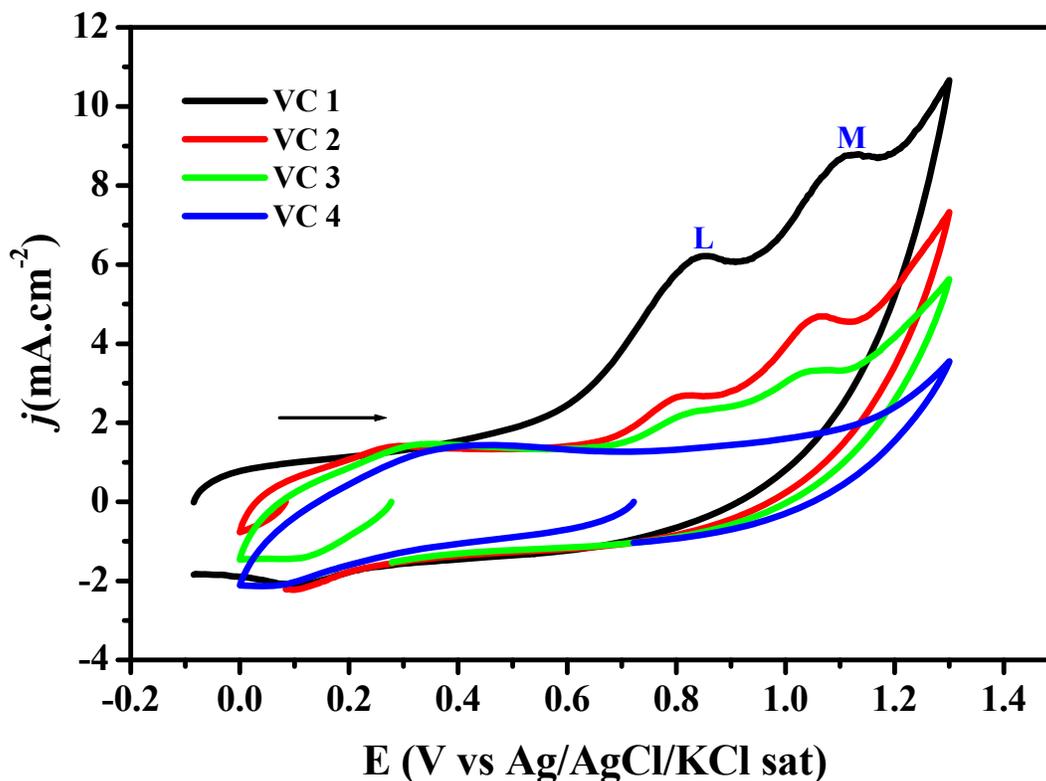


Figura 5.9: Respuesta voltamperométrica de E-TT°, a 10mM de NPX en 1M de KNO<sub>3</sub> y  $\nu = 5\text{mVs}^{-1}$ .

En el barrido en dirección catódica no se observó ningún pico, lo que significa que la electro-oxidación del naproxeno sódico es un proceso químicamente irreversible (esto también fue observado en E-Cvi y E-ST) (Adhoum et al., 2003). El mecanismo de reacción propuesto para este proceso de oxidación se muestra en la figura 6.1 e implica la formación de un radical carbocatión, en el carbono adyacente al anillo aromático, esta especie puede experimentar una rápida disociación protónica ( $\text{H}^+$ ) para dar lugar a un carbocatión, el cual puede ser oxidado irreversiblemente con la pérdida un de segundo electrón (Suryanarayanan et al., 2005).