



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.  
Posgrado en Ciencias en Energía Renovable

**IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA  
ELECTROQUÍMICO MICROBIANO PARA LA  
RECUPERACIÓN DE CERIO**

Tesis que presenta la  
M. EN C. MURIEL ELISA GONZÁLEZ MUÑOZ

En opción al título de  
DOCTOR EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

Mérida, Yucatán, diciembre de 2019.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Dra. Liliana María Alzate Gaviria, por todo su apoyo y enseñanzas, pero sobre todo, por su gran paciencia y dedicación en la dirección de este trabajo de tesis. Agradezco también a la Dra. Xóchitl Domínguez Benetton, por sus valiosos consejos como codirectora. A los revisores e integrantes del comité, la Dra. Daniella Esperanza Pacheco Catalán, el Dr. Otto Benjamín Ortega Morales, el Dr. David Valdés Lozano y la Dra. Beatriz Escobar Morales, por su gran interés, así como por todo el conocimiento compartido y sus excelentes recomendaciones.

Agradezco también al Dr. David Valdés y al laboratorio de química marina del CINVESTAV por los análisis realizados en sus instalaciones, y de manera especial, al M. en C. Jorge Arturo Domínguez Maldonado, técnico de la unidad de energía renovable (CICY UER), por toda la asesoría técnica brindada durante la elaboración de esta tesis y por las grandes lecciones enseñadas. A la técnico Tanit Toledano Thompson (CICY UER), muchas gracias por toda la ayuda prestada para la realización de las microscopías electrónicas de barrido y la espectroscopía dispersiva de rayos X (SEM-EDX).

Gracias al Dr. Manuel Aguilar Vega y al Laboratorio de Membranas de la Unidad de Materiales del CICY por las instalaciones prestadas, así como a la M. en C. Elizabeth Hernández Álvarez, por los análisis realizados en el Laboratorio de ICP-MS del Instituto de Geofísica de la UNAM.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca nacional No. 421498 otorgada para la realización de esta tesis, así como al Clúster Biocombustibles Gaseosos perteneciente al Centro Mexicano de Innovación en Bioenergía, proyecto 247006, financiado por el Fondo de Sustentabilidad Energética CONACYT-SENER.

Por último y sobre todo, gracias a mi familia y amigos por apoyarme durante la realización de mi doctorado.



1.4.	Hipótesis.....	48
1.5.	Objetivos .....	48
1.5.1.	<i>Objetivo general</i> .....	48
1.5.2.	<i>Objetivos particulares</i> .....	48
<b>Capítulo 2.</b>	<b>Metodología .....</b>	<b>49</b>
2.1.	Desarrollo de bioánodos halotolerantes por cronoamperometría empleando dos potenciales de polarización .....	49
2.1.1.	Colecta y caracterización de sedimentos para la selección del inóculo.....	49
2.1.2.	Configuración de la celda electroquímica para el desarrollo de los bioánodos halotolerantes .....	50
2.1.3.	Inoculación y desarrollo por cronoamperometría de los bioánodos halotolerantes .....	51
2.1.4.	Monitoreo de la composición fisicoquímica del electrolito .....	53
2.1.5.	Caracterización electroquímica de los bioánodos halotolerantes y del electrolito .....	53
2.1.6.	Cálculo de parámetros energéticos .....	54
2.2.	Recuperación de cerio por generación electroquímica de bases en una celda de tres electrodos en condiciones salobres.....	57
2.2.1.	Configuración de la celda electroquímica para la recuperación de cerio por generación electroquímica de bases (mediante cronopotenciometría) en condiciones salobres .....	57
2.2.2.	Caracterización del depósito electroquímico de cerio en condiciones salobres.....	57
2.3.	Implementación de una celda de electrólisis microbiana para la recuperación de cerio por generación bioelectroquímica de bases en condiciones salobres.....	58
2.3.1.	Configuración de la celda de electrólisis microbiana para la recuperación de cerio en condiciones salobres.....	58

2.3.2. Inoculación y desarrollo del bioánodo halotolerante para la celda de electrólisis microbiana.....	59
2.3.3. Adaptación del bioánodo halotolerante a la celda de electrólisis microbiana .....	59
2.3.4. Recuperación de depósitos de Cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres en una celda de electrólisis microbiana .....	60
2.4. Análisis estadístico .....	60
<b>Capítulo 3. Resultados y discusión.....</b>	<b>61</b>
3.1. Obtención y caracterización de biopelículas electroactivas.....	61
3.1.1. Caracterización in situ de sedimento y agua del estero Ría Lagartos .....	61
3.1.2. Caracterización in vitro del sedimento y agua colectados en el estero Ría Lagartos.....	67
3.1.3. Caracterización electroquímica del sistema en condiciones abióticas .....	75
3.1.4. Caracterización del estado inicial del sistema.....	76
3.1.5. Establecimiento de biopelículas por cronoamperometría .....	77
3.1.6. Monitoreo del desarrollo de la biopelícula por voltamperometría cíclica.....	85
3.1.7. Caracterización de la biopelícula por voltamperometría lineal .....	92
3.1.8. Implicaciones del potencial de polarización sobre la producción de corriente .....	94
3.2. Obtención y caracterización de depósitos de Cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres.....	96
3.2.1. Obtención y caracterización de depósitos de cerio empleando una concentración inicial de Ce 30 mM .....	97
3.2.2. Obtención y caracterización de depósitos de cerio empleando una concentración inicial de Ce 3 mM .....	107
3.3. Obtención de depósitos de óxidos de cerio por generación electroquímica de bases empleando un sistema electroquímico microbiano en condiciones salobres....	110

<b>Conclusiones .....</b>	<b>129</b>
<b>Perspectivas .....</b>	<b>130</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>131</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>154</b>

## LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.1. Aplicaciones tecnológicas de los elementos de las tierras raras. ....	9
Tabla 1.2. Algunas reacciones anódicas y catódicas empleadas en los sistemas electroquímicos microbianos.....	22
Tabla 1.3. Sistemas electroquímicos microbianos con bioánodos de carbón operados a diferentes concentraciones de sal.....	26
Tabla 1.4. Metales recuperados en celdas de combustible microbianas.....	41
Tabla 1.5. Metales recuperados en celdas de electrólisis microbianas. ....	42
Tabla 1.6. Electroodos empleados como microsensors de elementos de las tierras raras en solución acuosa .....	44
Tabla 2.1. Descripción de las técnicas electroquímicas empleadas para caracterizar los bioánodos halotolerantes.....	55
Tabla 3.1. Caracterización de sedimento y agua en Rio Lagartos por punto de muestreo	61
Tabla 3.2. Caracterización de sedimento y agua en Las Coloradas por punto de muestreo .....	62
Tabla 3.3. Caracterización de sedimento y agua en El Cuyo por punto de muestreo.....	63
Tabla 3.4. Caracterización del agua y sedimento del estero Ría Lagartos (global y por zona de muestreo).....	64
Tabla 3.5. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo Río Lagartos.....	68
Tabla 3.6. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo Las Coloradas .....	69
Tabla 3.7. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo El Cuyo.....	70
Tabla 3.8. Caracterización del agua y los sedimentos colectados por zona de muestreo en el estero Ría Lagartos.....	71

Tabla 3.9. Densidad máxima de corriente obtenida por cronoamperometría a +0.340 V/EEH y -0.160 V/EEH.....	79
Tabla 3.10. Densidad de potencia máxima obtenida por cronoamperometría a +0.34 V/SHE y -0.16 V/SHE.....	80
Tabla 3.11. Densidad de corriente máxima obtenida por voltamperometría lineal ( $1\text{mV s}^{-1}$ ) a los 21 días de polarización por cronoamperometría a +0.34 V/EEH and -0.16 V/EEH.	94
Tabla 3.12. pH, potencial y cantidad de depósitos recuperados durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría (Ce 30 mM). ....	98
Tabla 3.13. Potencial, pH y cantidad de depósitos recuperada durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría empleando Ce 3 mM. ....	108
Tabla 3.14. pH y potenciales registrados en la generación electroquímica de bases en condiciones salobres por cronopotenciometría (48 h) en una CEM empleando Ce 3 mM. ....	112
Tabla 3.15. Depósitos de cerio obtenidos durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría en un SEM empleando Ce 3 mM. ....	116
Tabla 3.16. Composición elemental por espectroscopia de difracción de rayos X (EDX) de los depósitos de Ce obtenidos por generación electroquímica de bases en un SEM en condiciones salobres. ....	121

## LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1. Materiales críticos de importancia económica según la Comisión Europea.....	8
Figura 1.2. Interacciones microbianas con potencial para la recuperación de metales. ...	18
Figura 1.3. Esquema de un sistema electroquímico microbiano. ....	21
Figura 1.4. Mecanismos de transferencia de electrones al ánodo.....	30
Figura 1.5. Características físico-geográficas de la Península de Yucatán .....	36
Figura 1.6. Zonas hidroquímicas y tróficas de la zona Yucateca.....	37
Figura 1.7. Mecanismos de precipitación de cadmio en una celda de electrólisis microbiana sin membrana.....	45
Figura 1.8. Diagrama de Pourbaix del Cerio en solución acuosa en presencia de cloruro de sodio en concentraciones similares al agua de mar. ....	47
Figura 2.1. Mapa del estero Ría Lagartos .....	50
Figura 2.2. Configuración de la celda electroquímica de tres electrodos para la obtención de bioánodos por polarización directa a +0.380 V/EEH y -0.160 V/EEH. ....	52
Figura 3.1. Voltamperometrías cíclicas ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) de los controles abióticos del sistema.. ..	76
Figura 3.2. Voltamperometrías cíclicas ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizadas en el día 1, después de inocular el sistema y antes de empezar la polarización por cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH. ....	77
Figura 3.3. Polarización por cronoamperometría (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH. ....	79
Figura 3.4. Concentración de la demanda química de oxígeno registrada en el electrolito durante los 21 días de cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH.....	82
Figura 3.5. Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 5 días de polarización por cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH. ....	86
Figura 3.6. Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 10 días de polarización por cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH. ....	88
Figura 3.7. Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 21 días de polarización por cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH. ....	90
Figura 3.8. Voltamperometría lineal ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) a los 21 días de polarización por cronoamperometría a +0.34 V/EEH and -0.16 V/EEH.....	93

Figura 3.9. Difractograma de rayos X realizada a una muestra de CeO <sub>2</sub> empleada como control.....	97
Figura 3.10. Formación de depósitos de cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres (NaCl 50 g L <sup>-1</sup> ).....	99
Figura 3.11. Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción A.....	100
Figura 3.12. Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción B.....	101
Figura 3.13. Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción C.....	102
Figura 3.14. Difracción de rayos X del electrolito evaporado después de realizar las reacciones A, B y C..	103
Figura 3.15. Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción D.....	109
Figura 3.16. Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción E.....	110
Figura 3.17. Difractograma de rayos X realizada a los depósitos obtenidos sobre el electrodo de trabajo (Reacción F, G y H).....	118
Figura 3.18. Difractograma de rayos X de los depósitos de cerio precipitados en el electrolito (reacción F)..	119
Figura 3.19. Difractograma de rayos X de los depósitos de cerio precipitados en el electrolito (reacción G).....	120
Figura 3.20. Precipitado obtenido en la cámara catódica del sistema electroquímico microbiano.....	121
Figura 3.21. Diagrama de concentraciones de las especies químicas presentes en el catolito del SEM para la recuperación de cerio en condiciones salobres. ....	124
Figura 3.22. Microscopía electrónica de barrido de depósitos de cerio sobre el cátodo del SEM en condiciones salobres.....	126
Figura 3.23. Microscopía electrónica de barrido de precipitados de cerio obtenidos como en el electrolito del SEM en condiciones salobres. ....	127

## RESUMEN

Los sistemas electroquímicos microbianos (SEM) han destacado en la última década debido a su versatilidad para la producción de especies químicas de interés comercial empleando energía renovable. Este trabajo aborda dos aspectos principales: 1) El empleo de microorganismos halotolerantes como bioánodo para desarrollar SEM que operen con electrolitos salinos ( $50 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ ) y que por lo tanto presenten una menor resistencia y pérdidas energéticas en comparación con los sistemas de agua dulce, además de emplear como inóculo sedimentos de una laguna hiperhalina en vez de aguas residuales domésticas, ya que los primeros están adaptados naturalmente para sobrevivir a altas concentraciones salinas. En la primera parte de esta tesis se estudió el efecto del potencial de polarización para el establecimiento de bioánodos halotolerantes empleando sedimentos de la laguna hiperhalina Las Coloradas (Yucatán, México), donde se determinó que dicho potencial no es un factor determinante en la producción de corriente, pero sí sobre la remoción materia orgánica. El segundo aspecto, 2) consistió en emplear uno de los bioánodos desarrollados para la recuperación de un elemento de las tierras raras mediante la generación electroquímica de bases. En la segunda parte de esta tesis, se demostró que es posible recuperar cerio de una matriz acuosa salobre en forma de óxidos en un sistema electroquímico microbiano, siendo el primer trabajo en la literatura donde se reporta la recuperación de este metal de una solución acuosa, abriendo una puerta para el desarrollo de SEM especializados en la recuperación de elementos de las tierras raras.



## ABSTRACT

Microbial electrochemical systems (MES) have stood out in the last decade due to their versatility for the production of chemical products of commercial interest using renewable energy. This work addresses two main aspects: 1) The use of halotolerant microorganisms as MES bioanodes that work with saline electrolytes ( $50 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ ) and therefore, have a lower resistance and energy loss compared to freshwater systems. In addition, the use of sediments of a hyperhaline lagoon as inoculum instead of domestic wastewater provides microorganisms that are naturally adapted to survive at high salt concentration. In the first part of this thesis, the effect of the polarization potential for the establishment of halotolerant bioanodes, employing hyperhaline sediments from “Las Coloradas” lagoon (Yucatán, México) was studied, where it was determined that this potential is not a determining factor in the production of current, but it does on the removal of organic matter. The second aspect, 2) was to use those bioanodes for the recovery of a rare earth element by the electrochemical base generation. In the second part of this thesis, it was demonstrated that it is possible to recover cerium in the form of oxides in a microbial electrochemical system from an aqueous and brackish matrix, being the first work in the literature to report the recovery of this metal from an aqueous solution in MES, opening a door for the development of MES specialized in the recovery of rare earth elements.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional y el desarrollo industrial han generado altas demandas de recursos y problemas de contaminación ambiental a nivel mundial [1]. Aunado a esto, el aprovechamiento de fuentes de energía renovable en la actualidad es imperante. Es por esto que el desarrollo de tecnología que contribuya al aminoramiento de la contaminación ambiental y la explotación de combustibles fósiles es preciso [2]. Una alternativa interesante son los sistemas electroquímicos microbianos (SEM), ya que permiten la remoción de contaminantes y, en algunos casos, la generación de energía eléctrica renovable en forma simultánea. Además, los SEM pueden ser utilizados para recuperar productos con valor agregado, incluyendo diversas especies químicas de interés comercial [3, 4].

Si se les da la configuración adecuada, los SEM tienen la capacidad de extraer metales de las aguas residuales. El concepto de un SEM metalúrgico fue inicialmente propuesto por Ter Heijne y colaboradores [4], quienes desarrollaron una celda de combustible microbiana para la recuperación de Cu depositado electroquímicamente en el cátodo, generando  $0.43 \text{ W m}^{-2}$  y  $1.7 \text{ A m}^{-2}$ , de forma simultánea. Este concepto se originó de un trabajo previo, donde Ter Heijne y colaboradores [5, 6] emplearon Fe(III) como aceptor de electrones en el cátodo de una celda de combustible microbiana; como resultado, el Fe (III) se reduce a Fe(II) por vía electroquímica, el cual es posteriormente reoxidado por bacterias de la especie *Acidothiobacillus acetooxidans* inoculadas en la cámara catódica, que a su vez realizan la reducción de oxígeno para formar agua. Esto se realizó con la finalidad de desarrollar una alternativa económica para incrementar la cinética de la reducción de oxígeno en el cátodo. Dicha celda produjo  $0.86 \text{ W m}^{-2}$  de potencia con una densidad de corriente de  $4.5 \text{ A m}^{-2}$ . Por otro lado, Rhoads y colaboradores [7] probaron que al utilizar óxidos de manganeso (IV) producidos biológicamente por *Leptothrix discophora* como reactante en la cámara catódica se obtiene mejor densidad de potencia ( $0.127 \text{ W m}^{-2}$ ) en comparación con la reducción de oxígeno al emplear cátodos de grafito ( $0.004 \text{ W m}^{-2}$ ). Más recientemente se ha demostrado que con SEM es posible recuperar diferentes metales como Au, Ag, Hg, V, Fe, Cr, entre otros, y en algunos casos obtener energía eléctrica como subproducto.

También, se han recuperado metales como Zn, Cd y Pb al operar el sistema como una celda de electrólisis microbiana. Al emplear esta configuración, parte de la energía requerida para depositar los metales en el cátodo es proporcionada por microorganismos electroactivos inoculados en la cámara anódica [8, 9].

El desarrollo de SEM para la recuperación de metales tiene como objetivo reducir el costo operacional de la tecnología, así como brindar sustentabilidad a la industria metalúrgica en un futuro. Otro objetivo es el aprovechamiento o generación de energía renovable y la remoción de materia orgánica y metales de diversas aguas residuales con fines de remediación por la vía bioelectroquímica. Esta vía es ventajosa, ya que permite condiciones de reacción que no son posibles de obtener si se emplea solamente la vía biológica o electroquímica [8, 9].

Durante los últimos cinco años, el suplemento de materiales estratégicos tales como los elementos de las tierras raras (ETR) se ha vuelto prioritario. Más de 97% de la producción mundial de estos elementos está monopolizada por China, quien desde 2005 redujo sus exportaciones causando tensiones sociopolíticas y económicas en torno a estos elementos [10]. Como resultado, los precios de los ETR se han variado en forma significativa, y la Unión Europea los considera materiales críticos de importancia económica debido a que su suministro es susceptible a interrupciones [10]. Iniciativas con intereses similares han surgido en Australia, los EUA y Japón [10-12]. Dichos elementos son de particular interés debido a su utilidad en la manufactura de dispositivos de alta tecnología (celulares, pantallas, resonancia magnética, autos eléctricos) y tecnologías verdes (turbinas de viento, celdas fotovoltaicas de última generación, energía nuclear, celdas de combustible) [11-13]. Esta problemática ha generado la necesidad de encontrar fuentes alternas de este grupo de metales, en especial para los países que no cuentan con fuentes de ETR en su territorio [9].

Interesantemente, diversos reportes han confirmado la presencia de ETR en los sedimentos marinos superficiales a lo largo de toda la costa del Océano Pacífico, encontrándose en concentraciones de entre 250 y 1,500 ppm [14]. Se ha asociado su presencia con cortezas de Co y Fe-Mn, las cuales son abundantes en las zonas abisales del Océano Pacífico y se pronostica que también existen en el Océano Atlántico, incluyendo el Golfo de México y la zona del Caribe, [11, 12]. En las costas de Grecia, en el Golfo Estrimónico, se encontró que en mineralizaciones arenosas, conocidas como

*placers*, tienen contenido de ETR en la fracción arenosa es de 11.7 ppm, siendo el Ce el más abundante (50 – 62%) [15]. También, se han encontrado ETR presentes en arenas de playa provenientes del estado de Veracruz, México, donde se ha reportado una concentración de ETR totales de entre 60 y 107 ppm [16] con predominancia de Ce sobre el resto de los ETR ( $24.99 \pm 3.50$  ppm). De igual forma, se ha reportado presencia de Ce (169 ppm) como ETR dominante en arena de playa y sedimentos marinos del Golfo de Baja California, en el distrito minero de Rosalía [16, 17]. Este es también el caso de aguas costeras, por ejemplo, Zereen y colaboradores [18] reportaron una concentración de ETR totales de 0.062 ppm y 0.814 ppm en agua de mar y estuarina, respectivamente, colectada en la Bahía de Galvestone en Texas, EUA, predominando el Ce en ambos casos ( $0.039 \pm 0.008$  ppm y  $0.278 \pm 0.021$  ppm). Deng y colaboradores [19] encontraron un gradiente de concentración de ETR totales de entre 31.8 y 168  $\text{pmol L}^{-1}$  a lo largo de la columna de agua de mar (5663 m de profundidad) en la zona oeste del Océano Pacífico, siendo también el Ce el más abundante de los elementos con una concentración de entre 9.68 y 48.90  $\text{pmol L}^{-1}$ , equivalente a 0.001 y 0.007 ppm; la mayor concentración de Ce fue encontrada en el agua intersticial del suelo del fondo marino, debajo de la columna de agua (0.80 ppm). También, Crocket y colaboradores [20] han confirmado la presencia de ETR en el norte del Océano Atlántico, con predominancia de Ce en una concentración de hasta 137.09  $\text{pmol L}^{-1}$ , equivalente a 0.020 ppm. Esto concuerda con lo encontrado por Osborne y colaboradores [21] en el agua del Mar Caribe, donde el ETR más abundante es el Ce con un concentración de entre 10 y 20  $\text{pmol L}^{-1}$ , equivalente a 0.001 y 0.003 ppm. Debido a la tensión existente sobre las fuentes de ETR tradicionales, los sedimentos marinos representan fuentes alternas interesantes para la obtención de dichos metales, donde los SEM pueden ser empleados para su recuperación [9].

Cabe mencionar que la recuperación de metales en SEM presenta la ventaja de que es aplicable en matrices acuosas diluidas, a diferencia de las técnicas convencionales tales como la extracción con solventes, que además de ser altamente contaminantes, son aplicables únicamente en matrices acuosas concentradas [22]. Si bien las regiones costeras y marinas representan una fuente importante de ETR y otros metales, aun es necesario desarrollar tecnología para su recuperación de manera sustentable. Es por ello que los SEM para la recuperación de ETR en condiciones salobres son una atractiva oportunidad de investigación.

Una ventaja de aplicar los SEM en ambientes salobres, como por ejemplo, los ambientes marinos, es que los sistemas se operan a una conductividad entre 5 y 10 veces más elevada en comparación con los SEM tradicionales de agua dulce, lo que se refleja en mejores rendimientos energéticos. Esto se debe a que el agua de mar, que contiene una salinidad promedio de  $35 \text{ g L}^{-1}$ , es usada como electrolito, resultando en una menor caída óhmica, en comparación con los SEM tradicionales que operan con una salinidad menor a  $10 \text{ g L}^{-1}$ . En la literatura se ha reportado la adaptación de microorganismos de agua dulce a la presencia de sales, con resultados limitados [23, 24]. Es por esto que se ha generado interés en el uso de microorganismos naturalmente adaptados a concentraciones elevadas de sal, como es el caso de los sedimentos de ambientes marinos e hiperhalinos [25-30]

Si bien existen numerosos reportes sobre la recuperación de metales en SEM por depósito electroquímico en su forma elemental [6, 8, 22, 31, 32], esta vía no es posible para los ETR en solución acuosa debido a que su potencial de reducción a dicha forma ( $-2.36 \text{ V/EEH}$ ) está muy por debajo del límite de estabilidad del agua ( $-0.828 \text{ V/EEH}$ ,  $\text{pH} = 7$ ) [28]. Sin embargo, es posible precipitarlos en forma de óxidos mediante la generación electroquímica de bases [33, 34]. Este proceso ha sido realizado recientemente en una celda electroquímica para la recuperación de Nd y La [35].

De lo expuesto anteriormente, se desprende la hipótesis, así como el objetivo general de este trabajo, que consiste en desarrollar un SEM para la recuperación de Ce de una matriz acuosa salobre, similar al agua de mar.

## CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

### 1.1. Crecimiento demográfico, demanda de recursos y fuentes alternativas

En la actualidad, la tasa crecimiento demográfico mundial es la mayor en la historia. Durante siglos, el crecimiento poblacional fue lento y desigual. En 1800, se registró una población mundial de 1,000 millones de habitantes. En los 150 años siguientes la población mundial aumentó significativamente, conformándose de 2,500 millones de habitantes en 1950. Después de 1950, el crecimiento demográfico se incrementó dramáticamente, y la población creció a 6,500 millones de habitantes en 2005. Se estima que esta tendencia continuará en el futuro y se calcula que alrededor del año 2070 la población mundial será de cerca de 10,000 millones de habitantes [36]. Para asegurar la calidad de vida de las generaciones actuales y futuras, es necesario contar con disponibilidad suficiente de recursos, incluyendo alimento, agua y energía, así como minerales necesarios para la industria y la tecnología. Debido al creciente desbalance entre una población en rápida expansión y la poca disponibilidad de recursos básicos para su sostenimiento, las sociedades actuales enfrentan la necesidad de conservar y aprovechar sus recursos de forma eficiente y sustentable [1].

#### 1.1.1. *Energía y agua*

La energía fósil impulsa el 80% de las actividades humanas que se desarrollan en el mundo y es esencial para la producción de alimentos y la actividad industrial, así como para el abastecimiento de agua potable. En 2014, se registró una demanda energética mundial de 13.7 Gtoe, lo que equivale a un aumento de 50%, si se compara con los 8.8 Gtoe registrados en 1990. Se ha pronosticado que, bajo las políticas actuales de consumo, la demanda energética continuará aumentando hasta alcanzar los 18.7 Gtoe en 2035. Hoy en día, más de 80% de la energía demandada en el mundo se obtiene de combustibles fósiles. Esto generó la emisión de 32.4 Gton a la atmósfera en 2014 y se espera que en 2035 se emitan 44.1 Gton de CO<sub>2</sub> por el mismo concepto [37-39]. Debido a que este gas de efecto invernadero se considera como el principal responsable del cambio climático, es necesario realizar esfuerzos para disminuir sus emisiones [40]. Adicionalmente, se calcula que las reservas de combustibles fósiles se agotarán en 35, 37

y 107 años, refiriéndose respectivamente al petróleo, gas natural y carbón. Todo lo anterior, aunado al aumento de precios que se ha observado en los últimos años [2], resulta en la imperante necesidad de encontrar fuentes de energía que sean renovables y benévolas con el medio ambiente.

Por otro lado, el crecimiento demográfico acelerado, la mejora en la calidad de vida, los cambios en los patrones de consumo, así como la expansión de la agricultura irrigada han generado un aumento en el consumo de recursos hídricos a nivel mundial. Se estimó, en 2016, que cerca de dos tercios de la población mundial padecían escasez de agua potable, incluyendo a México, con una escasez de moderada a severa, al menos en los meses de febrero a mayo y junio [41, 42]. El Programa de Evaluación Global del Agua de las Naciones Unidas (WWAP por sus siglas en inglés) estima que para 2030 solo el 60% de la demanda mundial de agua podrá ser cubierta. La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD por sus siglas en inglés) espera que para 2050 la explotación de recursos hídricos crezca en un 55%. En consecuencia, 40% de la población mundial estará viviendo en regiones con escasez de agua al finalizar dicho periodo.

### *1.1.2. Metales críticos para el desarrollo tecnológico*

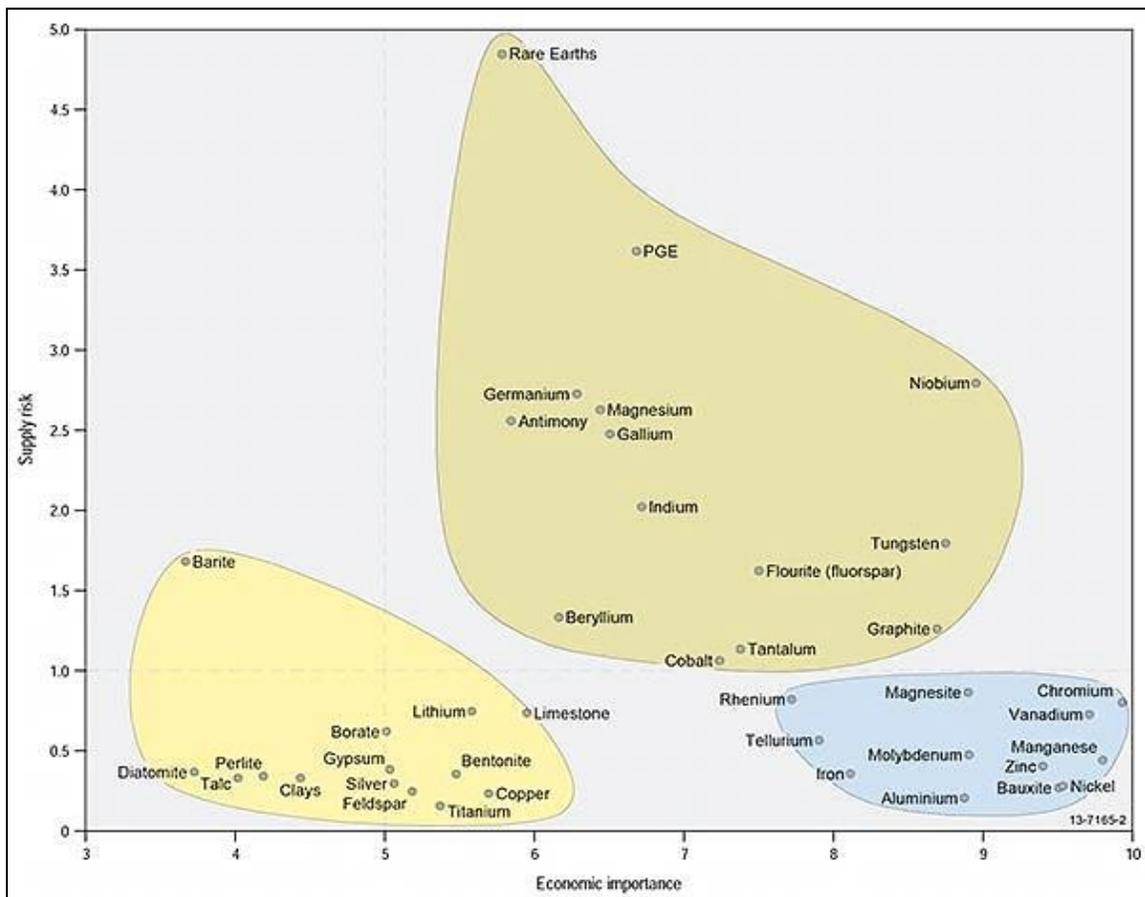
Durante al menos tres décadas, científicos y economistas han debatido sobre el rápido agotamiento de los recursos de los que depende la humanidad. A diferencia de los combustibles fósiles, que son irremediamente consumidos después de su uso, los metales tienen el potencial de ser recuperados y reutilizados un sinnúmero de veces. No obstante, la tasa de extracción de diversos metales de alta importancia para el sector tecnológico se ha incrementado de manera importante. Se estima que su extracción ha aumentado en un 3% anual durante los últimos 50 años, y se espera que esta tendencia continúe en el futuro [43].

El cobre (Cu) se encuentra entre los metales más demandados a nivel mundial, ya que tiene variedad de aplicaciones, entre las que se encuentran cableado, tuberías, calefacción, construcción, telecomunicaciones, iluminación, electrónica, motores para automóviles, tractores y camiones, por mencionar algunas. El zinc (Zn) es altamente demandado para fabricación de piezas de acero y bronce galvanizados, entre otras.

También son de importancia: el platino (Pt), empleado en la joyería, y como catalizador, con un sinnúmero de aplicaciones tecnológicas e industriales (celdas de combustible, industria automotriz, etc.); el estaño (Sn) destaca por su uso en la fabricación de latas, aunque también se emplea para la conservación de la madera, para la fabricación de pinturas antiincrustantes, como un componente del bronce, como aditivo para minimizar la decoloración y fragilización de una variedad de plásticos, así como en soldaduras electrónicas. La plata (Ag), utilizada con fines ornamentales, también posee aplicaciones industriales ya que es empleada como conductor en diversos componentes electrónicos, como soldadura, y en el revelado de fotografías; el níquel (Ni) es empleado en su mayoría como constituyente del acero inoxidable, y se utiliza en la fabricación de vajillas, electrodomésticos, y una amplia variedad de usos industriales [43, 44]. Además del Cu, Zn, Sn, Ag y Ni, otros metales tales como el oro (Au), el paladio (Pd), el aluminio (Al), el hierro (Fe) y el plomo (Pb), forman parte de la composición de gran variedad de equipos eléctricos y electrónicos, los cuales se han desarrollado con rapidez y su tiempo de vida se ha reducido debido a los constantes cambios en su función y diseño en los últimos años, reflejándose en una mayor demanda de estos elementos [45, 46]. Otra aplicación emergente de los metales en el ámbito tecnológico, es la generación de energía renovable. Un ejemplo son las celdas solares tipo CIGS (cobre-indio-galio-selenio) requieren cantidades importantes de indio (In) para su manufactura [46]. Este tipo de celdas de película delgada, también requieren del uso de galio (Ga) y Telurio (Te). En el campo del cuidado de la salud, así como en el de las energías renovables, el sector militar y la industria productora de electrónicos, el uso de equipos que operan con imanes de alto rendimiento (imanes permanentes) es cada vez más demandado, por lo que el suplemento de elementos de las tierras raras (ETR) resulta crucial para este sector [47].

De lo anterior se puede entrever que el sostenimiento de las sociedades industrializadas depende estrechamente de la disponibilidad de reservas de metales con aplicaciones tecnológicas. En este sentido, la Comisión Europea [48] ha designado como prioritarios a los siguientes metales: antimonio (Sb), berilio (Be), cromo (Cr), cobalto (Co), galio (Ga), germanio (Ge), indio (In), magnesita ( $MgCO_3$ ), magnesio (Mg), niobio (Nb), los metales del grupo del platino (PGMs por sus siglas en inglés), elementos de las tierras raras pesados (ETRP o HREEs por sus siglas en inglés), elementos de las tierras raras ligeros (ETRL o LREEs por sus siglas en inglés), silicio (Si) y tungsteno (W), debido a su importancia económica y tecnológica, así como por riesgos en la interrupción de su suministro. De manera similar, el Departamento de Defensa de los EUA en su Informe

sobre “Requisitos en materia de Reservas de Materiales Estratégicos y Críticos”, publicado en 2013 ha resaltado la importancia de los siguientes materiales: estaño (Sn), antimonio (Sb), óxidos de aluminio ( $Al_xO_y$ ), carburo de silicio (SiC), itrio (Y), tungsteno (W), tantalio (Ta), bismuto (Bi), germanio (Ge), manganeso (Mn) metálico electrolítico, disprosio (Dy), berilio (Be), erbio (Er), cromo (Cr), galio (Ga), terbio (Tb), tulio (Tm) y escandio (Sc) [16]. De entre los metales mencionados, destacan los elementos de las tierras raras (ETR), por ser el grupo de metales que presenta mayor riesgo de interrupción en su suministro (Figura 1.1) [10, 48-51].



**Figura 1.1.** Materiales críticos de importancia económica según la Comisión Europea [48].

### 1.1.2.1. Los elementos de las tierras raras (ETR).

Los ETR son un grupo de 17 metales con características y propiedades físicas y químicas muy similares entre sí [15]. Incluyen a la familia de los lantánidos y dos elementos de transición. Según su peso atómico, los ETR pueden subagruparse en dos categorías: los ETR ligeros y los ETR pesados. El primer grupo incluye al lantano (La), al cerio (Ce), al praseodimio (Pr), al neodimio (Nd) y al samario (Sm), mientras que el segundo grupo engloba al europio (Eu), al gadolinio (Gd), al terbio (Tb), al disprosio (Dy), al holmio (Ho), al erbio (Er), al tulio (Tm), al iterbio (Yb), al lutecio (Lu) y al itrio (Y). El escandio (Sc) es el único ETR que se clasifica aparte por ser un metal de transición [10, 13, 48-51].

Los ETR son elementos de superficie activa, que juegan un papel importante en la metalurgia de materiales, ya que se emplean para el refinamiento de microestructuras, así como en aleaciones y en la purificación de diversos materiales [52]. Este grupo de elementos ha cobrado importancia gradualmente, debido a sus propiedades químicas y físicas únicas, así como sus aplicaciones en un sinnúmero de campos, que incluyen la ingeniería química, la metalurgia, la energía nuclear, la óptica, el magnetismo, la luminiscencia y materiales para láseres, los superconductores de alta temperatura y las baterías secundarias, entre otras. [53, 54]. Las aplicaciones más destacadas de los ETR se resumen en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1. Aplicaciones tecnológicas de los elementos de las tierras raras.**

Z	Elemento	Símbolo	Aplicaciones	Ref.
21	Escandio	Sc	Bulbos y otras partes de lámparas eléctricas, refinamiento de petróleo, semiconductores y válvulas termoiónicas, piezas y equipo de uso aeronáutico.	[47]
39	Itrio	Y	Lámparas fluorescentes con fósforos: televisores y pantallas de cristales líquidos, en aleaciones de aluminio y magnesio.	[47]

Ref.: referencias.

**Tabla 1.1. Aplicaciones tecnológicas de los elementos de las tierras raras (Cont.).**

Z	Elemento	Símbolo	Aplicaciones	Ref.
57	Lantano	La	Catalizador para el proceso de cracking del petróleo, baterías para vehículos eléctricos, lámparas fluorescentes con fósforos.	[47]
58	Cerio	Ce	Imanes permanentes, baterías para vehículos eléctricos, lámparas fluorescentes con fósforos, semiconductores, válvulas termoiónicas, productos vítreos y partes para motores de vehículos. Catalizador en celdas electroquímicas.	[47, 49, 50]
59	Praseodimio	Pr	Imanes para turbinas de viento, imanes y baterías para vehículos eléctricos, pigmentos, cerámicos, fibra óptica, aparatos para toma de imágenes, agentes de aleación.	[47, 49]
60	Neodimio	Nd	Fabricación de imanes permanentes en general, imanes y baterías para vehículos eléctricos, imanes para turbinas de viento, superaleaciones, componentes electrónicos, productos vítreos, filtros ópticos, modificantes del acero, almacenamiento de hidrógeno, láseres, capacitores.	[13, 47, 49, 55]
61	Prometio	Pm	Baterías nucleares, misiles guiados.	[11]
62	Samario	Sm	Sustituto de Nd, Pr y Dy en imanes para vehículos eléctricos y turbinas de viento, absorbentes de neutrones para reactores nucleares, láseres, imanes en general y capacitores.	[47, 49]
63	Europio	Eu	Lámparas fluorescentes con fósforos, fósforos para iluminación y pantallas, barreras de control nuclear, láseres, fósforos para iluminación y pantallas.	[47-49]

Ref.: referencias.

**Tabla 1.1. Aplicaciones tecnológicas de los elementos de las tierras raras (Cont.).**

<b>Z</b>	<b>Elemento</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Aplicaciones</b>	<b>Ref.</b>
64	Gadolinio	Gd	Dispositivos de almacenamiento de datos, semiconductores y válvulas termoiónicas, aparatos electro-médicos, equipos de grabación ópticos y magnéticos.	[49]
65	Terbio	Tb	Fabricación de tubos catódicos, computadoras ópticas, aleaciones, láseres, fósforos para iluminación y pantallas, lámparas fluorescentes con fósforos, catálisis en el cracking de gasolina, proyectores de películas y lámparas de arco.	[13, 47, 49, 56]
66	Disproσιο	Dy	Imanes permanentes para turbinas de viento y vehículos eléctricos, barreras de control nuclear, cerámicos para la industria electrónica.	[47, 49]
67	Holmio	Ho	Componentes electrónicos, semiconductores y válvulas termoiónicas, productos metálicos diversos.	[49]
68	Erbio	Er	Comunicaciones, redes y cables eléctricos, materiales metálicos no ferrosos, semiconductores y válvulas termoiónicas.	[49]
69	Tulio	Tm	Semiconductores y válvulas termoiónicas. Componentes electrónicos, aparatos de radiación, dispositivos para instalaciones eléctricas.	[49]
70	Iterbio	Yb	Comunicaciones, redes y cables eléctricos, materiales metálicos no ferrosos, semiconductores y válvulas termoiónicas, aparatos de radiación.	[49]
71	Lutecio	Lu	Comunicaciones, redes y cables eléctricos, semiconductores y válvulas termoiónicas, aparatos de radiación, aparatos electro-médicos.	[49]

Ref.: referencias.

### 1.1.2.2. Importancia del cerio (Ce).

De entre los ETR destacan el Ce, Nd, Pr y Dy por sus aplicaciones en la producción de tecnologías limpias y energía renovable [47]. Se espera que la demanda de dichos elementos crezca en un futuro debido a que el uso de los imanes permanentes de alta intensidad es cada vez más frecuente en dichos campos (ej. turbinas de viento, motores de autos eléctricos), siendo de especial interés el Ce por su alta disponibilidad y menor costo [57, 58]. En este sentido, la Comisión Europea y el Departamento de Energía de los EUA han pronosticado que la demanda de Ce y Nd excederá la capacidad de suministro mundial en un futuro [47, 48]. La búsqueda de materiales que sustituyan a los ETR en la manufactura de imanes permanentes es un área de investigación creciente. Si bien se han reportado candidatos libres de ETR hechos a base de metales de transición interna, hasta el momento un número importante de materiales alternativos para producir nuevos tipos de imanes permanentes consisten en aleaciones que incluyen Ce, Sm o Nd (ej. CeFe<sub>x</sub>), aunque en menor cantidad en comparación con los imanes permanentes tradicionales [57, 58]. Es por lo anterior que el aprovechamiento de fuentes alternativas de ETR como el Ce resulta un tema de investigación interesante [13, 47-49, 55].

El Ce (Z = 58) destaca dentro de este grupo de elementos, no solo por ser el más abundante de los ETR en la naturaleza, sino por el sinnúmero de aplicaciones que tiene (Tabla 1.1). Se ha reportado el uso de óxidos de cerio como catalizador en la remoción de contaminantes metálicos de fuentes de agua potable [59]. En años recientes el Ce ha llamado la atención por sus numerosas aplicaciones nanotecnológicas, por ejemplo para emplearse como catalizador para la remoción de CO y NO<sub>x</sub> de las emanaciones generadas por la combustión de combustibles fósiles, como es el caso de los automóviles [60, 61], así como para la remoción de compuestos orgánicos contaminantes derivados de emanaciones gaseosas industriales [62]. De igual forma, el CeO<sub>2</sub> es empleado como catalizador en celdas electroquímicas, por ejemplo, en ánodos de baterías de óxidos de litio [63, 64], de celdas de combustible de óxidos sólidos [65] y celdas fotoelectroquímicas para la producción de hidrógeno [66], así como en cátodos de celdas de electrólisis electroquímicas para la producción de hidrógeno [67, 68] y de peróxido de hidrógeno [69], en cátodos para la degradación electroquímica de compuestos fenólicos en solución [70], e inclusive, en celdas de combustible microbianas de sedimentos con la finalidad de mejorar la cinética de reducción de oxígeno en el cátodo [71].

Por otro lado, las nanopartículas de CeO<sub>2</sub> tienen potencial para el tratamiento de enfermedades infecciosas o relacionadas con las especies reactivas de oxígeno (enfermedades cardíacas y cáncer) debido a su actividad antimicrobiana y antioxidante, entre otras aplicaciones biomédicas [72-74]. También, las nanopartículas de CeO<sub>2</sub> se utilizan en la fabricación de biosensores de última generación por sus propiedades catalíticas y de superficie [75].

### 1.1.3. Fuentes alternativas de recursos

Debido al aumento en la demanda de recursos energéticos, hídricos y metalúrgicos, y a problemas en el suministro de los mismos, diversas fuentes alternas de recursos han cobrado importancia.

Dependiendo de la región geográfica, las fuentes de energía renovable más viables para ser explotadas son la hidrotérmica, la energía eólica, la fotovoltaica, la energía solar térmica y la energía procedente de la biomasa. La energía eólica y solar generada a nivel mundial representa cerca de dos terceras partes del total de la energía obtenida de fuentes renovables. La generación de energía fotovoltaica es la que presenta el crecimiento más acelerado, con un promedio anual de 6.8%. Sin embargo, se pronostica que cerca de 40% del aumento en el uso de fuentes de energía renovables entre 2013 y 2038, corresponderá al uso de la energía eólica, la cual desplazará a la energía hidrotérmica y se convertirá en la fuente de energía renovable más aprovechada para el año 2040 [1, 38, 39]. En cuanto a la biomasa, se proyecta que su demanda se duplicará para el año 2050, debido a su uso como materia prima para la producción de bioenergía y biocombustibles [76].

Cabe destacar, que los recursos marinos tienen potencial para contribuir al suplemento de la demanda energética derivada de la biomasa [76, 77]. Además, las aguas marinas están siendo consideradas como fuente potencial de agua potable, mediante su desalinización, con una tasa de crecimiento del 55% con respecto a la capacidad instalada global en 2012 [78]. De igual forma, los recursos marinos representan una importante fuente de metales necesarios para el desarrollo tecnológico.

### 1.1.3.1. Extracción de metales de fuentes marinas.

Debido a los retos que enfrenta la minería tradicional (aumento en la demanda y escasez de recursos, detrimento ambiental), la minería marina ha cobrado importancia. Diversos reportes indican que la extracción de minerales del fondo oceánico se ha convertido en una atractiva área de inversión económica en los últimos años [8, 33, 65]. Hoy en día, los minerales del fondo oceánico no representan una fuente de suministro importante a nivel global, sin embargo, esto podría cambiar de forma dramática, especialmente porque se estima que las reservas marinas igualan o superan las reservas terrestres de metales. Se ha proyectado que, para 2020, el sector de la minería marina podría suministrar 5% de la demanda global de metales y minerales, y que en 2030 podría alcanzarse 10%, lo que representaría un valor de 65,000 millones de dólares (con base en los precios de 2010). Sorprendentemente, el capital mencionado es muy pequeño, si se le compara con el potencial real de los recursos minerales de los océanos; por ejemplo, sólo los depósitos de oro del fondo marino, están valuados en 150 billones de dólares (con base en precios de 2014) [65].

El fondo marino es una fuente atractiva de ETR. Los recursos minerales oceánicos pueden dividirse en dos clases según su localización, 1) los recursos de la cuenca oceánica, y 2) los recursos del margen continental, que incluye la plataforma continental, el talud continental y la zona de pendiente continental [79].

En cuanto a los recursos de la cuenca oceánica, los exponenciales avances en material de exploración, explotación, técnicas de costo-beneficio, así como la tecnología minera en aguas profundas, han permitido demostrar que los ETR se asocian a los nódulos polimetálicos y a las costras ricas en cobalto del fondo marino, formando depósitos naturales de estos valiosos elementos [15]. Esto ocurre debido a un proceso de mineralización atribuido a las propiedades diagenéticas e hidrogeológicas de los óxidos de cobalto y manganeso, donde los ETR del agua de mar se depositan sobre los óxidos mencionados [11, 12]. Estos nódulos son característicos de la llanura abisal, como es el caso de la zona Clarion-Clipperton (CCZ) en el Pacífico Central. Las costras de hierro-manganeso y los nódulos de cobalto representarán una importante fuente de recursos en el futuro cercano, ya que no sólo contienen metales básicos tales como Mn, Ni, Co, Cu y Zn, sino que también son ricos en elementos críticos como Li, Mo, Nb, así como ETR [11, 12, 15, 80]. En promedio, las costras de hierro-manganeso contienen alrededor de 3 veces más ETR que los nódulos, y algunos de sus depósitos tienen concentraciones

similares a las de las minas terrestres ubicadas en el Sur de China [15]. De acuerdo a lo publicado por Hein y colaboradores [11, 12], es muy posible que en las cortezas ricas en cobalto propias del Océano Atlántico e Índico exista una riqueza en ETR similar a la observada en el Pacífico, sin embargo, los datos publicados de la zona son aún escasos [11].

Por otro lado, en el trabajo desarrollado por Kato y colaboradores [14] se encontró que el lodo del fondo oceánico es rico en ETR, el cual está ampliamente distribuido en gran parte del Océano Pacífico. Estos lodos contienen aproximadamente 0.2% de ETR en peso, y se acumula formando capas de entre 8 y 24 m de espesor. En el trabajo mencionado, se estimó que los depósitos de ETR contenidos en el lodo del Pacífico son de 100 a 1,000 veces más grandes que las reservas terrestres, que se calcula son de 110 millones de toneladas de ETR. Resulta aún más interesante el hecho de que fuentes de ETR pueden ser localizadas en las zonas costeras. La exploración y actividad minera en aguas poco profundas son actividades actualmente importantes en la placa continental de África del este y Sri Lanka, el Sureste asiático y Australia; así mismo, la presencia de minerales críticos, incluyendo los ETR han sido encontrados en las zonas costeras del Subcontinente Indio [15]. Resultados similares han sido reportados en sedimentos del océano Atlántico, incluyendo zonas costeras del Golfo de México [11, 12, 16, 17]. Adicionalmente, se ha detectado la presencia de ETR en aguas geotermales marinas, con concentraciones de Nd de  $225 \text{ mg L}^{-1}$ , y de Eu de  $300 \text{ mg L}^{-1}$  [81], así como en agua de mar perteneciente al Océano Pacífico y Atlántico, incluyendo zonas costeras del Mar Caribe [18-20]. Cabe destacar que en la gran mayoría de los trabajos anteriormente citados, el Ce es la especie más abundante con respecto al resto de los ETR.

Otra fuente de ETR son los placers, que son depósitos de diversos minerales de alta densidad ( $2.9 \text{ g cm}^{-3}$ ), que se han concentrado sobre una superficie por arrastre de una corriente de agua (o de aire) [82]. El Ba, Cr, Au, Fe, Sn, Ti, Th, W, Zr y los ETR son minerales comúnmente encontrados en estos depósitos [79, 83]. En el pasado, los placers han sido explotados a escala industrial para la extracción de ETR. De hecho, desde finales del siglo XIX hasta mediados del siglo XX, el suplemento de ETR en América del Norte provino en su mayoría de estos depósitos, y en 1980, los placers de Australia representaban la tercera fuente de ETR más importante a nivel mundial. Actualmente, en Estados Unidos existen varios placers que son usados como fuentes menores de ETR, localizados en Hilton Head en Carolina del Norte y Green Cove Springs en Florida

(placers marinos), Cascade y Bear Valley en Idaho (placers aluviales). También existen otros placers ricos en ETR, como el de Oak Grove en Tennessee (paleoplacer), que nunca ha sido explotado [83, 84].

Los placers marinos se encuentran localizados dentro del margen continental [79], lo que los convierte en fuentes de metales más accesibles que los nódulos y cortezas polimetálicas, en relación a su cercanía a la costa. En México, existen zonas de placers en toda la región del Océano Pacífico. En la región norte, se ha reportado la presencia de ETR asociados al mineral monazita, frente a las costas de Sonora, Sinaloa y Nayarit, así como en la región sur, que comprende las costas del Istmo de Tehuantepec. También, existen placers en la región sur del Océano Atlántico, incluyendo el sur de Veracruz, Tabasco y parte de la Laguna de Términos. Todos estos sitios se caracterizan por ser cuencas hidrológicas con aportes mayormente terrígenos, y por ser fuentes potenciales para la extracción de ETR [85, 86].

#### 1.1.3.2. Métodos de extracción de ETR y otros metales de soluciones acuosas

Actualmente, existen diversos métodos para la extracción de ETR de matrices acuosas. La bastnesita, la monazita y la xenotima son las principales fuentes comerciales de estos metales [67, 68], aunque hasta el momento se han identificado más de 250 minerales diferentes que contienen ETR en concentraciones de 10 a 500 ppm. Los ETR son separados de los minerales que los contienen por procesos de flotación, gravimétricos o magnéticos para dar lugar a concentrados de ETR, que son subsecuentemente recuperados en fase acuosa por métodos pirometalúrgicos e hidrometalúrgicos [87, 88]. Los primeros requieren grandes cantidades de energía debido a que se realizan a altas temperaturas, además de generar gases peligrosos como el dióxido de azufre y de que requieren altos costos de capital; los segundos incluyen lixivaciones con ácidos acuosos inorgánicos, como el ácido clorhídrico, sulfúrico o nítrico, o con soluciones básicas, como el hidróxido de sodio y sales de amonio [9, 87-90].

Posteriormente, los lixiviados obtenidos son sometidos a procesos de separación y purificación, ya sea a 1) la extracción con solventes, a 2) la recuperación con resinas de intercambio iónico o a 3) la precipitación y filtración, con la finalidad de obtener concentrados de ETR ya sea de forma individual o en mezcla [89]. En cuanto a la

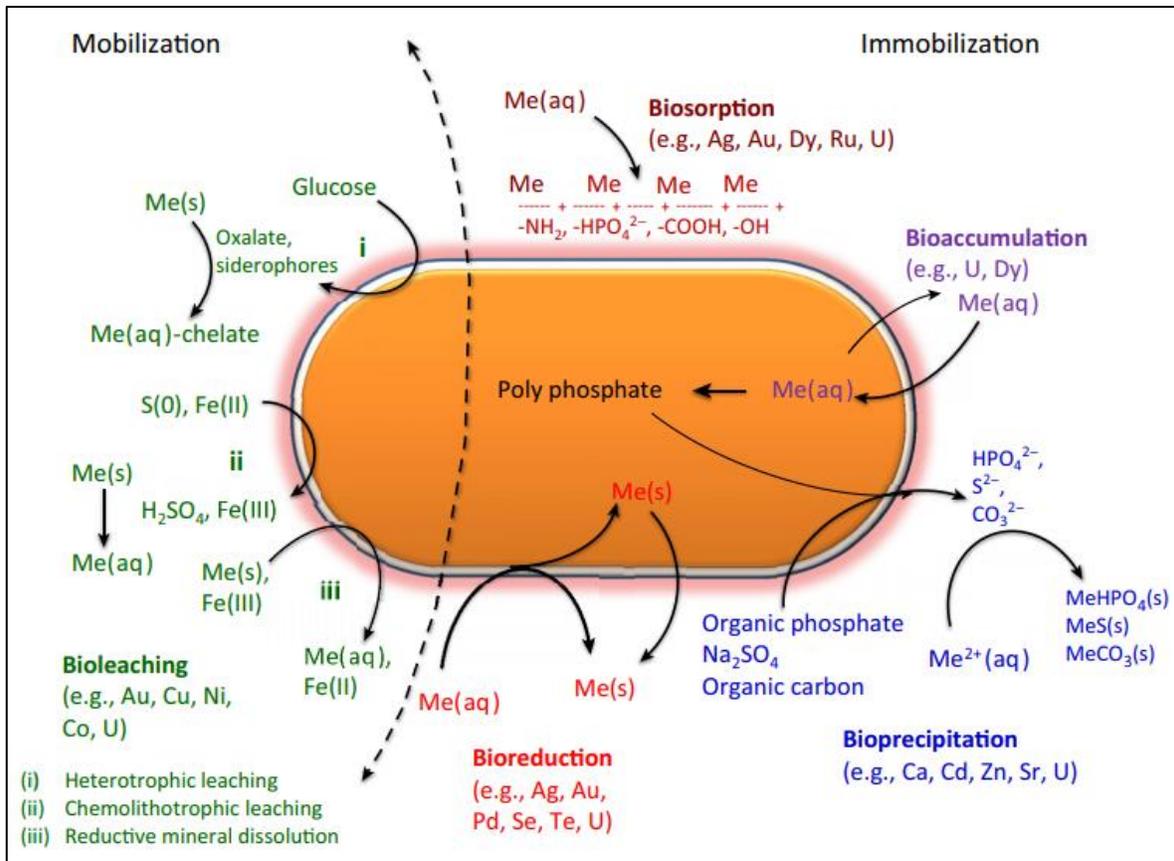
extracción con solventes, existen tres clases principales de extractantes: a) los de intercambio catiónico, b) los de solvatación y c) los de intercambio aniónico, aunque también se ha sugerido el uso de agentes quelantes para la separación de ETR; estos tienen la desventaja de que requieren grandes cantidades de solventes y generan cantidades importantes de residuos líquidos [90]. Por otro lado, los métodos de extracción con resinas tienen la ventaja de ser más selectivos con respecto a los anteriores, sin embargo, el uso de resinas los hace costosos; se han empleado resinas como Tulsion CH93 y CH-96, T-PAR, Dowex I-X8, amberlita, entre otras. Por último, los métodos de precipitación recurren a la obtención de hidróxidos y otros precipitados mediante la alcalinización del medio, usando bases como hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio y amoniaco; estos métodos tienen la desventaja de que, además del consumo de las bases mencionadas, requieren de procesos posteriores para la recuperación de los precipitados, que pueden ser costosos, como la filtración [89].

Las técnicas biológicas ofrecen una alternativa a los procesos físico-químicos convencionales para la recuperación de metales en soluciones acuosas. Dichas técnicas son especialmente aplicables cuando el metal que se desea recuperar está en concentraciones bajas, condición bajo la cual las técnicas convencionales no resultan rentables [91]. Otra ventaja es que su aplicación representa un consumo energético menor en comparación con las técnicas físico-químicas, además de que pueden lograr una recuperación más discriminatoria [22, 81]. Las técnicas biológicas incluyen la biolixiviación, la bioadsorción, la bioacumulación, la bioprecipitación y la bioreducción, y son mediadas por microorganismos [22, 34], de las cuales la mayoría ya se ha reportado en la literatura para la recuperación de ETR [22, 92].

Las interacciones microbianas empleadas como técnicas para la recuperación de metales reportadas en la literatura se esquematizan en la Figura 1.2, dividiéndose en dos grandes categorías, movilización e inmovilización [22, 93]. Algunas de ellas se explican a continuación.

La biolixiviación es un método biológico empleado para la movilización de metales de una fuente sólida, sea un mineral o un desecho tecnológico. Este método aprovecha metabolitos o reacciones metabólicas de diversos microorganismos para promover la disolución de metales de la fase sólida. La biolixiviación puede llevarse a cabo vía redoxólisis, acidólisis, complejólisis (lisis por formación de complejos químicos) y/o por alquilación [94]. En este sentido, se han utilizado microorganismos de los géneros

*Acidithiobacillus*, *Acetobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Desulfovibrio*, *Aspergillus* y *Penicillium* para la biolixiviación de metales, incluyendo Ce y otros ETR [91, 92].



**Figura 1.2.** Interacciones microbianas con potencial para la recuperación de metales [22].

En cuanto a la bioadsorción, esta posee la ventaja de que, con base en su masa seca, la capacidad de adsorción de los microorganismos resulta favorable en comparación con las resinas comerciales de intercambio iónico. La bioadsorción involucra diversos procesos entre los que se encuentran fenómenos de adsorción, de intercambio iónico, de complejación (formación de complejos químicos) y/o de precipitación. Estos procesos ocurren en la pared celular de los microorganismos, específicamente en grupos carboxilo, fosforilo, hidroxilo, carbonilo y tioles anclados a la superficie de la misma [22, 81]. En años recientes, se ha demostrado que diversos microorganismos poseen capacidad para adsorber ETR, sin embargo, presentan desventajas debido a la baja

especificidad de los grupos funcionales de la pared celular de los microorganismos [22, 45].

En cuanto a la bioacumulación de ETR, esta ha sido reportada en la literatura empleando microorganismos de los géneros *Bacillus*, para la recuperación de Ce y La, y *Penidela*, para la recuperación de Dy. Respecto a la bioprecipitación, se ha encontrado que *Leptothrix discophora* y *Pseudomonas putida* MnB29 tienen la capacidad de precipitar Ce(III) en forma de fosfatos, cuando se les cultiva en presencia de 140 mg L<sup>-1</sup> de Ce en forma de CeCl<sub>3</sub> [95].

## 1.2. Introducción a los sistemas electroquímicos microbianos

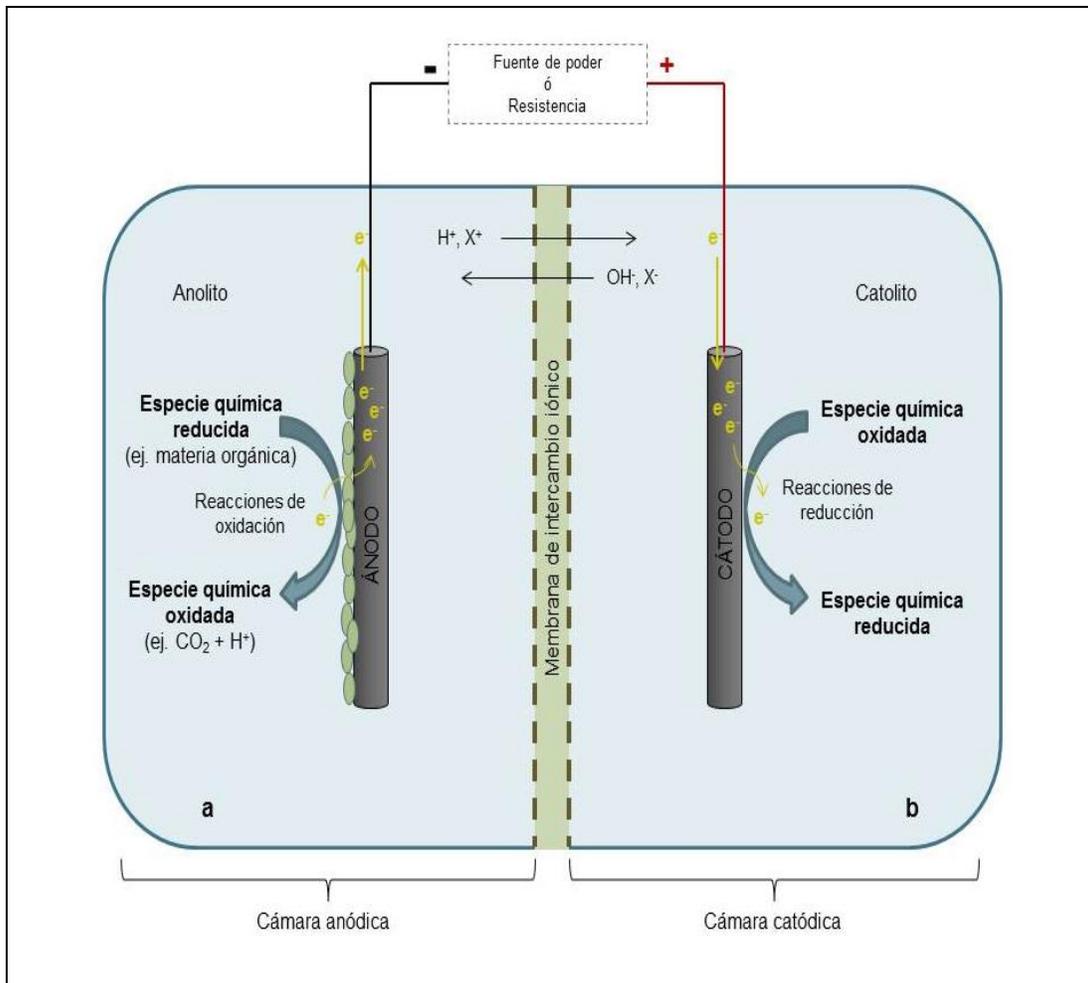
Los sistemas electroquímicos microbianos (SEM) son dispositivos electroquímicos que emplean microorganismos como catalizador. Dichos sistemas son capaces de generar o aprovechar energía renovable, de sintetizar diversos productos de interés comercial, y de aplicarse en la biorremediación aguas y suelos contaminados de forma simultánea. Precisamente, es debido a su versatilidad que los SEM han cobrado importancia como objetivo de estudio en las últimas dos décadas [3, 96].

Aunque los SEM pueden presentar un sinnúmero de configuraciones, todos ellos cuentan con características en común. Poseen dos electrodos, uno que funge como ánodo y otro como cátodo; estos electrodos se interconectan a través de un circuito eléctrico, conectado a una resistencia (celda de combustible microbiana [CCM]) o fuente de poder (celda de electrólisis microbiana [CEM]) [96]. El ánodo suele ser un electrodo de material carbonáceo con un colector de corriente metálico, el cual está situado en la cámara anódica. Esta contiene un electrolito, denominado anolito, que contiene un compuesto reducido que funge como donador de electrones en el sistema, así los electrones de dicho compuesto son transferidos al ánodo, y posteriormente del ánodo al cátodo a través del circuito eléctrico que los conecta [97]. Por otro lado, el cátodo se sitúa en la cámara catódica, y suele estar sumergido en un electrolito denominado catolito [98], en el cual se encuentra disuelto un agente oxidante, que recibirá los electrones provenientes del ánodo. Como resultado, se forma un compuesto reducido, que en muchas ocasiones es de interés comercial, aunque también podría tratarse de un contaminante en una forma química de menor toxicidad o con mayor facilidad de

recuperación; cabe destacar también que, en muchos casos, el aceptor de electrones es el agua, o el oxígeno, ya sea disuelto o por exposición directa al aire, caso en el cual el cátodo prescinde del electrolito (Figura 1.3) [98-101].

Las cámaras anódica y catódica se encuentran intercomunicadas y separadas por una membrana de intercambio iónico (aunque pueden utilizarse otro tipo de separadores o materiales permeables al transporte de iones), ya sea protónica (Nafion), catiónica, aniónica o bipolar [102], aunque en algunos SEM se puede prescindir de la membrana. En este último caso, los SEM poseen una sola cámara, de igual forma que para el caso de los cátodos expuestos al aire (cátodos aireados) [34, 96, 103].

Para que el sistema electroquímico sea considerado como microbiano, al menos uno de los procesos, ya sea el anódico o el catódico, debe involucrar el uso de microorganismos [9]. Un ejemplo muy común es el aprovechamiento de microorganismos electroactivos para catalizar la oxidación de materia orgánica en el ánodo. Esto se consigue mediante el aprovechamiento de las reacciones catabólicas acopladas a la cadena respiratoria de los microorganismos. Esta última consta de una cascada de reacciones enzimáticas de óxido-reducción donde el ánodo funciona como el aceptor de electrones. De esta manera, los electrones son obtenidos de la materia orgánica y entregados al ánodo por acción de los microorganismos, los cuales colonizan el electrodo formando una biopelícula (Figura 1.3) [3, 97, 103-105].



**Figura 1.3.** Esquema de un sistema electroquímico microbiano.

- a) Esquema de una cámara anódica, ej. operando con un bioánodo para la oxidación de materia orgánica. b) Esquema de una cámara catódica operando con un cátodo abiótico.

Las reacciones catódicas en los SEM se caracterizan por ser versátiles, ya que pueden dar lugar a un sinnúmero de especies químicas con valor comercial. Se ha reportado en la literatura una gran variedad de reacciones de reducción en los SEM, que van desde la reducción del oxígeno molecular para formar agua o la reducción de metales pesados disueltos a su forma metálica, hasta diversas reacciones de síntesis electroquímica para la obtención de compuestos orgánicos de interés comercial [31, 96, 105, 106]. Algunas reacciones anódicas y catódicas de los SEM se resumen en la Tabla 1.2.

**Tabla 1.2. Algunas reacciones anódicas y catódicas empleadas en los sistemas electroquímicos microbianos.**

Reacción	E° (V/EEH)	Tipo de SEM	Biocatalizador	Ref.
<i>Reacciones de oxidación/reacciones anódicas</i>				
Glucosa + 6H <sub>2</sub> O → 6CO <sub>2</sub> + 24H <sup>+</sup> + 24e <sup>-</sup>	-0.410	CCM o CEM	Si	[3, 106]
Glucosa + 2H <sub>2</sub> O → 2CH <sub>3</sub> COOH + 2CO <sub>2</sub> + 4H <sub>2</sub>	-0.267	CCM o CEM	Si	[107, 108]
Lactato + H <sub>2</sub> O → Acetato + CO <sub>2</sub> + 4H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.335	CCM o CEM	Si	[96, 108]
Acetato + 2H <sub>2</sub> O → 2CO <sub>2</sub> + 7 H <sup>+</sup> + 8e <sup>-</sup>	-0.290	CCM o CEM	Si	[109]
H <sub>2</sub> → 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.410	CCM o CEM	Si	[96, 106]
Metano + 2H <sub>2</sub> O → CO <sub>2</sub> + 8H <sup>+</sup> + 8e <sup>-</sup>	-0.240	CCM o CEM	Si	[106]
2H <sub>2</sub> O → O <sub>2</sub> + 4H <sup>+</sup> + 4e <sup>-</sup>	-1.230	CEM	No	[110]
<i>Reacciones de reducción/reacciones catódicas</i>				
½ O <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → H <sub>2</sub> O	0.820	CCM	No	[96, 106]
O <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup> + 2H <sub>2</sub> O → H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 2OH <sup>-</sup>	0.280	CCM	No	[96, 106]
NO <sup>3-</sup> + 5e <sup>-</sup> + 6H <sup>+</sup> → 1/2N <sub>2</sub> + 3H <sub>2</sub> O	0.750	CCM	No	[106]
2NO <sup>3-</sup> + 10e <sup>-</sup> + 12H <sup>+</sup> → N <sub>2</sub> + 6H <sub>2</sub> O	3.313	CCM	Si	[109]
Cu <sup>2+</sup> + 2e <sup>-</sup> → Cu <sup>0</sup>	0.340	CCM	No	[4]
2CO <sub>2</sub> + 7H <sup>+</sup> + 8e <sup>-</sup> → Acetato + 2H <sub>2</sub> O	-0.280	CEM	No	[96]
2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → H <sub>2</sub>	-0.410	CEM	No	[96]

E°: potencial estándar a pH 7. EEH: electrodo estándar de hidrógeno. SEM: sistema electroquímico microbiano. CCM: celda de combustible microbiana. CEM: celda de electrólisis microbiana. Ref.: referencia.

### *1.2.1. Incremento de la conductividad del electrolito como estrategia para mejorar la producción energética*

En la última década, el número de publicaciones científicas con respecto a la producción de corriente asociada al metabolismo microbiano y su uso en SEM ha crecido de forma exponencial, esto debido a su gran potencial de aplicación tecnológica [96, 105]. En este tiempo, se han conseguido mejoras en cuanto a la eficiencia coulombica, potencia de salida y reducción de costos de los SEM. Esto se ha conseguido mediante varias estrategias, que incluyen el uso de materiales más eficientes y económicos, mejoras en la configuración de los dispositivos, la reducción de la distancia entre electrodos [99, 111, 112], así como la selección de microorganismos más eficientes y la optimización del crecimiento de las biopelículas electroquímicamente activas sobre los electrodos, por mencionar algunos ejemplos. Como resultado, la densidad de potencia que se puede obtener en los SEM (i.e. CCM) ha aumentado cerca de 10 veces, alcanzando valores promedio de 2 o 3 W m<sup>-2</sup> y valores máximos de ~7 W m<sup>-2</sup>. Sin embargo, la densidad de potencia lograda en un sistema microbiano es baja en comparación con las celdas de combustible hidrógeno convencionales (~10,000 W m<sup>-2</sup>). Esto se debe en gran medida a la elevada resistencia interna que presentan los SEM [27, 105].

Para que los SEM puedan tornarse aplicables, es necesario que los beneficios del sistema (productos con valor agregado y tratamiento de aguas residuales) sean mayores que el costo (capital y operacional). Para lograr esto, los beneficios deben ser maximizados y los costos de capital y operación, minimizados. En general, una elevada tasa de conversión (densidad de corriente) es un prerrequisito para obtener costos bajos de operación. Al mismo tiempo, la tasa de conversión está limitada por las pérdidas de energía en el sistema. Se ha estimado que, para las CCM, se debe alcanzar una resistencia interna menor a 40 mΩ m<sup>-2</sup>, combinada con una densidad de corriente de 25 A m<sup>-2</sup>, para asegurar la rentabilidad del sistema. En cuanto a las CEM, se calcula que la resistencia interna debe ser menor a 80 mΩ m<sup>-2</sup>, con una densidad de corriente de al menos 20 A m<sup>-2</sup>. Dicha resistencia, consta a su vez de varias resistencias parciales, que incluyen, la resistencia anódica, la resistencia del electrolito, la resistencia del transporte de iones a través de la membrana y la resistencia del cátodo. Adicionalmente, el gradiente de pH entre el ánodo y el cátodo supone una resistencia adicional. Típicamente, los SEM

presentan resistencias entre 85 – 942 m $\Omega$  m<sup>-2</sup>, cuando se trata de CCM, y de entre 36 – 189 m $\Omega$  m<sup>-2</sup>, cuando se trata de CEM [3].

Una alternativa interesante para reducir la resistencia interna en los SEM es incrementar la conductividad del electrolito, esto con la finalidad de aumentar el rendimiento energético del sistema [105, 113]. En su mayoría, los SEM han sido desarrollados para trabajar con soluciones de conductividad baja, que tradicionalmente no exceden los 20 mS cm<sup>-1</sup> [29]. Para incrementar la conductividad, la salinidad del electrolito debe ser lo más elevada posible, pero por otro lado, esta no debe de exceder la concentración máxima tolerada por los microorganismos, que suele ser de 100 mM de NaCl (5.8 g L<sup>-1</sup> NaCl) en microorganismos de agua dulce [27, 28]. Miyahara *et al.* [114], reportaron una mejora en la potencia de salida, de 0.11 W m<sup>-2</sup> a 0.50 W m<sup>-2</sup>, cuando la concentración de NaCl se incrementa de 0 mM a 100 mM (5.8 g L<sup>-1</sup>) en una CCM de una cámara inoculada con suelo de un campo arrocero. De forma similar, Liu *et al.* [111] demostraron que un incremento en la fuerza iónica, de 100 mM (5.8 g L<sup>-1</sup>) a 300 mM (17.4 g L<sup>-1</sup>), produjo un incremento en la densidad de potencia de 0.72 W m<sup>-2</sup> a 1.33 W m<sup>-2</sup>, empleando agua residual doméstica como inóculo en una CCM de una cámara. También, se observó un aumento en el voltaje de celda, así como un incremento en la eficiencia coulombica. Sin embargo, el desempeño del sistema decayó al elevar la concentración de NaCl a 400 mM (23.2 g L<sup>-1</sup>). Resultados similares fueron encontrados por Lefebvre *et al.* [24], quienes reportaron un aumento de 30% en las potencias de salida al elevar la concentración de NaCl del electrolito desde 0 mM hasta 243.8 mM (20 g L<sup>-1</sup>), y un decremento de 63% al elevar la concentración hasta 487.6 mM (40 g L<sup>-1</sup>), en comparación con los 27 W m<sup>-3</sup> obtenidos sin adicionar NaCl. La eficiencia coulombica presentó una tendencia similar. Destaca también el trabajo de Nevin *et al.* [115], quienes encontraron que *Geobacter sulfurreducens* puede ser adaptada a concentraciones de sal marinas con éxito y producir electricidad empleando acetato como donador de electrones. En este estudio, se observó un mejor desempeño energético en condiciones marinas, ya que el sistema mostró una densidad de corriente superior en un 74% (4 A m<sup>-2</sup>), en comparación con las condiciones de agua dulce (2.3 A m<sup>-2</sup>).

Existen varios reportes donde se ha comprobado que el desempeño energético de los SEM aumenta al incrementar la conductividad del electrolito. Algunos de ellos se resumen en la Tabla 1.3. Sin embargo, aunque las caídas óhmicas y las potencias de

salida de los SEM mejoran al emplear electrolitos con mayor conductividad, el desempeño general del sistema suele presentar un deterioro al elevar la concentración de NaCl por encima de 300 mM ( $17.4 \text{ g L}^{-1}$ ). Esto se debe a que los microorganismos del ánodo presentan baja tolerancia a la salinidad, lo cual es de esperarse, ya que estos suelen obtenerse de ambientes de agua dulce y no están adaptados para sobrevivir en condiciones salobres extremas [24, 28, 105, 116, 117].

Una alternativa para mejorar el rendimiento de los SEM, es desarrollar bioánodos que soporten electrolitos con salinidad elevada, mediante el aprovechamiento de microorganismos adaptados naturalmente a dichas condiciones. En años recientes, se han desarrollado SEM adaptados para operar en condiciones marinas [118, 119], es decir, empleando agua de mar como electrolito, que tiene una conductividad aproximada de  $53 \text{ mS cm}^{-1}$ . Dicha conductividad se atribuye a las alta concentración de NaCl del agua de mar, que es de alrededor de  $0.6 \text{ M}$  ( $35 \text{ g L}^{-1}$ ), a la que los microorganismos marinos están bien adaptados [29]. Sin embargo, este tipo de dispositivos (CCM de sedimentos) suelen presentar bajos rendimientos energéticos debido a que emplean la materia orgánica del sedimento como fuente de carbono, caracterizada por una composición compleja y rica en compuestos recalcitrantes (ácidos húmicos y fúlvicos) [97], así como cinéticas de degradación lentas [120].

Hasta el momento, el uso de microorganismos de ambientes marinos e hiperhalinos ha sido poco estudiado. Rousseau *et al.* [27], emplearon sedimento de un marisma salino y obtuvieron densidades de corriente superiores en comparación con otros autores ( $65$  y  $85 \text{ A m}^{-2}$  con  $30$  y  $45 \text{ g L}^{-1}$  de NaCl, respectivamente). De igual forma, se reportó la producción de energía en una CCM inoculada con aguas residuales de la extracción de hidrocarburos (Barnet Shale, Texas), que poseía una salinidad de  $86 \text{ g L}^{-1}$  de NaCl. En este sistema se consiguió una densidad de corriente de  $0.071 \text{ W m}^{-2}$ , empleando  $100 \text{ g L}^{-1}$  de NaCl y la producción de electricidad se mantuvo al elevar la concentración hasta  $250 \text{ g L}^{-1}$  [26]. Estos trabajos han demostrado que los sedimentos de ambientes hiperhalinos son una muy buena alternativa para obtener biopelículas electroactivas que soporten electrolitos altamente conductivos.

**Tabla 1.3. Sistemas electroquímicos microbianos con bioánodos de carbón operados a diferentes concentraciones de sal**

Tipo de SEM e inóculo	d (cm)	Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	Salinidad (NaCl)		Densidad de corriente (A m <sup>-2</sup> )	Densidad de potencia (W m <sup>-2</sup> )	EC (%)	Ref.
			(mM)	(g L <sup>-1</sup> )				
Reactor de tres electrodos.	<1	70	517	30	65	n.r.	105	
Sedimento de marisma salino.		104	776	45	85	n.r.	16	[27]
		135	1034	60	33	n.r.	4	
CCM de cámara simple.	4	10*	100	6	2.6	0.72	45	
Agua residual doméstica		19*	200	12	4.6	1.00	50	[111]
		28*	300	17	4.9	1.20	60	
		37*	400	23	4.4	1.33	61	
CCM de cámara doble.	16	0.60*	5	0.29	n.r.	n.r.	n.r.	
<i>Enterobacter cloacae</i>		1.17*	10	0.58	0.03	0.01	n.r.	[113]
		1.72*	15	0.87	n.r.	n.r.	n.r.	
CCM de cámara doble. Agua residual doméstica	0 – 11	0*	0	0	n.r.	27 W m <sup>-3</sup>	52	
		9*	61	5	n.r.	n.r.	31	
		17*	122	10	n.r.	n.r.	37	[24]
		32*	244	20	n.r.	35 W m <sup>-3</sup>	42	
		60*	488	40	n.r.	10 W m <sup>-3</sup>	36	
CCM de cámara simple.	2	0*	0	0	n.r.	0.1440	n.r.	
Suelo de campo arrocero		5*	50	3	n.r.	0.3400	n.r.	
		10*	100	6	n.r.	0.5040	n.r.	[114]
		28*	300	17	n.r.	0.0155	n.r.	
		53*	600	35	n.r.	0.0024	n.r.	
		96*	1800	70	n.r.	0.0016	n.r.	

**Tabla 1.3. Sistemas electroquímicos microbianos con bioánodos de carbón operados a diferentes concentraciones de sal (Continuación)**

Tipo de SEM e inóculo	d (cm)	Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	Salinidad (NaCl)		Densidad de corriente (A m <sup>-2</sup> )	Densidad de potencia (W m <sup>-2</sup> )	EC (%)	Ref.
			(mM)	(g L <sup>-1</sup> )				
CCM de cámara doble.	n.r.	5	45*	3*	6 A m <sup>-2</sup>	2 W m <sup>-2</sup>	2	
Lodos de planta de tratamiento de agua residual doméstica dulce y marina.		11	113*	6*	34 A m <sup>-2</sup>	12 W m <sup>-2</sup>	15	[121]
		13	126*	7*	109 A m <sup>-2</sup>	41 W m <sup>-2</sup>	29	
		21	214*	12*	83 A m <sup>-2</sup>	35 W m <sup>-2</sup>	20	

\*Valores calculados a partir de datos en las referencias. d: distancia entre electrodos. EC: eficiencia coulombica. CCM: celda de combustible microbiana; CEM: celda de electrólisis microbiana, n.r.: no reportado. Ref.: referencia.

### 1.2.2. *Microorganismos electroquímicamente activos*

En un SEM se pueden distinguir tres comunidades microbianas de acuerdo a su localización en la celda, que son: 1) la comunidad que conforma la biopelícula anódica, caracterizada por la respiración anaerobia 2) la comunidad microbiana del cátodo (en caso de que el SEM trabaje con un biocátodo), que suele ser aerobia facultativa, y 3) la comunidad planctónica, que hace referencia a los microorganismos suspendidos en el electrolito, que se caracterizan por un metabolismo facultativo [122].

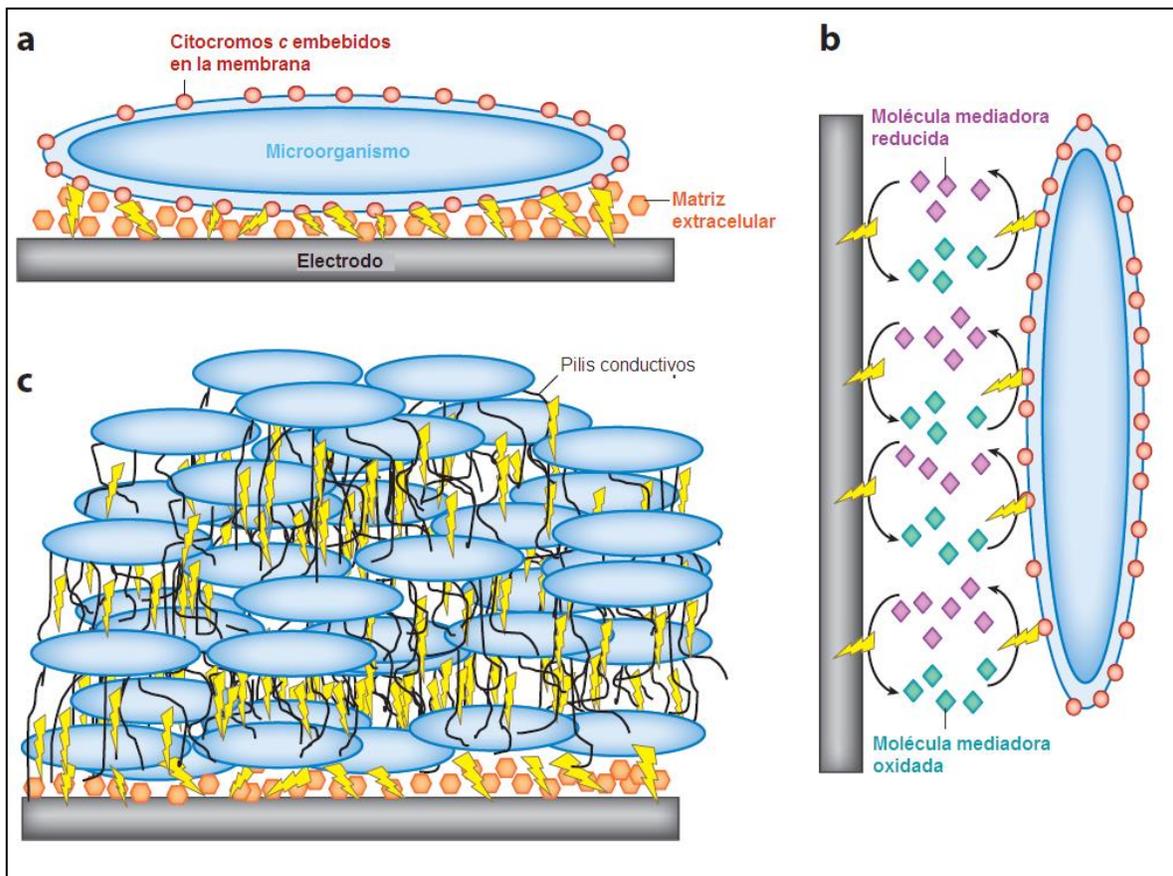
Para el caso de los SEM con cátodo abiótico, la comunidad más importante en términos de producción de electricidad y remoción de materia orgánica, donde la participación de la comunidad planctónica pudiera ser irrelevante, de acuerdo a lo reportado por Ishii y colaboradores [123]. Esto a pesar de que la comunidad planctónica puede ser más abundante en términos de biomasa, en comparación con la biomasa anódica, siendo de hasta ocho veces mayor de acuerdo a lo reportado por Shimoyama y colaboradores [122]. Lo anterior es cierto, en especial, cuando la comunidad anódica del SEM madura, enriqueciendo la población de bacterias exoelectrógenas fuertes, que suelen realizar una transferencia directa de electrones, donde el aporte de exoelectrógenas débiles (ya sean parte de la biopelícula o planctónicas) se torna despreciable [122-124]. Sin embargo, la importancia de la comunidad planctónica dependerá del sistema electroquímico microbiano en específico, según condiciones como el potencial anódico, el régimen de alimentación y agitación, la fuente de carbono, los mediadores y aceptores de electrones disponibles, así como la relación de volumen y área de la cámara anódica y el ánodo, ya que, dependiendo de las condiciones, dicha comunidad podría participar en la estabilización de la comunidad anódica mediante la remoción de oxígeno, la producción de mediadores electroactivos, o la degradación de materia orgánica compleja [124-126]. Sea cual sea el caso, las comunidades de los SEM pueden mostrar estabilidad funcional a pesar de cambios en su estructura [125], o por el contrario, cambios estructurales pequeños, pueden provocar diferencias importantes en el desempeño energético del sistema [29, 30].

Aquellos microorganismos que poseen la capacidad de donar o recibir electrones de un electrodo, se denominan electroquímicamente activos [127, 128]. En sus ambientes

naturales, estos microorganismos se caracterizan por emplear aceptores de electrones extracelulares sólidos, como el hierro, entre otros metales [127].

Cuando se trata de intercambiar electrones con un electrodo, los microorganismos pueden utilizar dos mecanismos principales, que se han reconocido ampliamente en la literatura. El primero, es la transferencia de electrones a través de mediadores (“electron shuttles”), que consisten en un par redox soluble que facilita el transporte de electrones desde el ambiente celular hasta el electrodo; dichos mediadores pueden ser artificiales, como el ferricianuro de potasio, las benzoquinonas u otros mediadores basados en fenazinas, fenotiazinas, fenoxazinas y quinonas [107, 127]. Algunos microorganismos tienen la capacidad de aprovechar mediadores disponibles en el medio circundante [107], como especies de hierro [127], azufre [128], ácidos húmicos y metales quelados. Otros, pueden producir metabolitos que funcionan como mediadores, como por ejemplo fenazinas bacterianas, piocianina y 2-amino-3-carboxy-1,4-naftaquinona (ACNQ), etc. (Figura 1.4b) [107].

El segundo, consiste en la transferencia de los electrones directamente a la superficie del ánodo, sin necesidad de mediadores. Este mecanismo se lleva a cabo en distancias cortas, cuando ocurre gracias a diversas proteínas con actividad redox que se encuentran embebidas en la membrana extracelular de los microorganismos, como los citocromos *c*; (Figura 1.4a) o en distancias largas, cuando ocurre mediante pili conductivos, denominados “nanowires” (Figura 1.4c), típicos de especies del género *Geobacter* [127, 129, 130].



**Figura 1.4.** Mecanismos de transferencia de electrones al ánodo [127].

- a) Transferencia directa de electrones mediante proteínas embebidas en la membrana celular. b) Transferencia indirecta de electrones empleando mediadores redox. c) Transferencia directa de electrones mediante nanowires.

En su mayoría, las biopelículas anódicas de los SEM suelen conformarse por microorganismos anaerobios estrictos y aerobios facultativos pertenecientes a los dominios *Archaea* y *Bacteria*, siendo el último el de mayor dominancia. Dentro del dominio *Bacteria*, los phyla Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes son los más predominantes [122, 123, 125, 131, 132]. Esta distribución es muy similar, independientemente de si el inóculo es originario de ambientes de agua dulce o marina, y de la fuente de carbono empleada [132-134]. Dependiendo del origen del inóculo, se pueden encontrar otros phyla en menor proporción, como es el caso de los Actinobacteriales [132, 135].

El phylum Proteobacteria suele ser el más abundante, destacando la clase  $\beta$ -proteobacteria, la cual es persistente en las biopelículas anódicas por su capacidad electrogénica [125, 136]. Incluye bacterias reductoras de metales por vía desasimilatoria, como por ejemplo, bacterias reductoras de hierro, manganeso y azufre [127, 137, 138]; muchas de ellas son ejemplares del orden de las Desulfuromonadales, cuyas capacidad electrogénica ha sido comprobada [133, 139, 140]. Especies del género *Geobacter* producen biopelículas y nanowires eléctricamente conductores con propiedades de transistores y supercapacitores, así como conductividades eléctricas comparables con las de algunas nanoestructuras metálicas sintéticas [141]. Este género es uno de los más estudiados y varias de sus especies están consideradas como organismos modelo. Por ejemplo, *G. sulfurreducens* posee una gran diversidad de citocromos *c*, muchos de los cuales están expuestos sobre la superficie celular; se ha sugerido que dichos citocromos participan reduciendo hierro insoluble, el cual funge como mediador de electrones. De igual forma, se ha reportado que *G. sulfurreducens* produce pili conductivos, que transportan los electrones hasta superficies insolubles con características metálicas [127, 130, 138, 142]. Esta característica se ha encontrado en otras especies de *Geobacter*, como *G. metallireducens*, y se asocia al gen Pila, que codifica la proteína estructural presente en los pili tipo IV [143], que son característicos en las bacterias gram-negativas [144].

Estudios recientes han demostrado que la conductividad de una biopelícula de *Geobacter sulfurreducens* está relacionada con la concentración de pilina, proteína constitutiva de los nanowires [141]. A su vez, se demostró que la conductividad de las biopelículas no se ve afectada al emplear agentes que desnaturalizan los citocromos *c*, así como la falta de correlación entre la concentración de proteínas OmcZ y la conductividad. De igual forma, en el mismo estudio se observó que la conductividad de las biopelículas no se ve afectada al emplear cepas mutantes carentes de los genes OmcS y OmcT. Todo lo anterior, aunado a la amplia separación espacial observada entre los citocromos (100 nm), sugiere que el transporte de electrones a largas distancias en los nanowires y biopelículas se rige por un comportamiento similar al de los conductores metálicos y no por el modelo de “salto de electrones” entre proteínas, como se había hipotetizado en el pasado [145]. Interesantemente, también se ha reportado que la adición de nanopartículas de magnetita a estos cultivos suprime la expresión de OmcS mientras

que incrementa la expresión de PilA, sin afectar la conductividad eléctrica de la biopelícula. Además, se demostró que la magnetita se incorpora a los nanowires y que puede fungir como sustituto de los citocromos OmcS para la transferencia interespecie de electrones entre dos cepas del género *Geobacter*, cosa que no ocurre al emplear mutantes con el gen PilA suprimido. Adicionalmente, en este mismo trabajo se demostró que la magnetita puede sustituir a los citocromos y restablecer la capacidad de *Geobacter* sp. para reducir el hierro extracelularmente [145, 146]. Todo esto corrobora que el transporte de electrones a largas distancias con este tipo de microorganismos tiene un comportamiento similar al de un conductor metálico, además de que comprueba que la presencia de especies metálicas incorporadas a la biopelícula contribuye a la conductividad de la misma [146].

Otras especies de  $\beta$ -proteobacteria encontradas en biopelículas electroactivas incluyen bacterias reductoras de sulfato, como por ejemplo, los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfocapsa* y *desulfobulbus* [125], y especies como *D. desulfuricans* y *D. propionicus*, que han sido identificadas como exoelectrógenas [140, 147, 148], y que además son ubicuas en los ambientes marinos [149, 150].

También, suelen encontrarse especímenes de la clase  $\gamma$ -proteobacteria, siendo el género *Shewanella* el más estudiado. Este género tiene la capacidad de reducir hierro a distancia mediante la liberación de quinonas solubles extracelulares, mecanismo que pudiese estar involucrado en la transferencia de electrones a los electrodos [144, 151]. De igual forma, el género *Pseudomonas* presenta actividad exoelectrógena [125] la cual se cree es mediada por la excreción de piocianinas [107]. Recientemente se descubrió la especie *P. guangdongensis*, que fue aislada de una biopelícula electroactiva de una CCM inoculada con lodos activados. Esta especie puede soportar concentraciones salinas de hasta 50 g L<sup>-1</sup>, pero su crecimiento es óptimo a 10 g L<sup>-1</sup> [152, 153]. Otras  $\gamma$ -proteobacteria encontradas en una biopelícula electroactiva desarrollada en condiciones marinas son *Alteromonas genovensis* [154] y *Pseudoalteromonas* sp. [135].

En menor medida, aparecen especies pertenecientes a  $\alpha$ -proteobacteria, destacando la especie *Rhodopseudomonas palustris*, una bacteria púrpura no del azufre identificada como exoelectrógena. Esta especie se ha identificado en bioánodos de agua dulce con predominancia del 30% [136, 155]. El género *Rhodopseudomonas* es ubicuo

tanto de ambientes de agua dulce como de agua salada y aguas residuales [156]. También, *Ruegeria scottomollicae*, y *Roseobacter* sp., son  $\alpha$ -proteobacterias aisladas de una biopelícula marina electroactiva en condiciones aerobias [157], por mencionar algunos ejemplos. Bacterias pertenecientes a  $\beta$ -proteobacteria y  $\epsilon$ -proteobacteria también aparecen en las biopelículas electroactivas, pero con poca incidencia [125, 136].

Al igual que la clase  $\delta$ -proteobacteria, el phylum Bacteroidetes suele persistir en las biopelículas electroactivas. Las especies de Bacteroidetes conforman una parte significativa de la comunidad microbiana en la biopelícula, a pesar de ser poco abundantes en el inóculo y comunidad planctónica. Esto sugiere que juegan un papel crítico en la generación de energía [122, 132, 136]. Algunas especies encontradas en una CCM son *Ruminofilibacter xylanolyticum*, *Cellulophaga tyrosinoxydans*, *Parabacteroides goldsteinii*, *Prolixibacter bellariivorans*, *Cytophaga fermentans* y *Cytophaga fermentans* [123, 125].

Dentro del phylum Firmicutes, es común encontrar especies de la clase Clostridia [125, 132, 136]. Dentro de esta clase existen especies con capacidad reductora de sulfato, así como metabolismo fermentativo [104, 150].

### 1.2.3. Microorganismos halófilos

Los cuerpos de agua pueden clasificarse en cuatro tipos según su salinidad: cuerpos de agua dulce, que no contienen concentraciones de NaCl importantes ( $\sim 0$  g L<sup>-1</sup>); aguas salobres, con concentraciones de NaCl de entre 0.3 y 0.5 M (17.4 – 29 g L<sup>-1</sup>); agua de mar, con alrededor de 0.6 M ( $\sim 35$  g L<sup>-1</sup>); y los lagos hiperhalinos, que presentan concentraciones promedio 1.8 M (104.4 g L<sup>-1</sup>) [104, 114], con rangos desde 0.8 a 2.6 M (50 – 150 g L<sup>-1</sup>) [158]. Adicionalmente, existen sitios con altas tasas de evaporación, donde se pueden alcanzar concentraciones salinas de hasta 5.2 M (302 g L<sup>-1</sup>) [159]. En cada uno de estos ambientes, habitan especies microbianas adaptadas a las salinidades del sitio. Con respecto a su respuesta a la salinidad, los microorganismos se pueden clasificar en 1) no halófilos, que no pueden sobrevivir en concentraciones de NaCl superiores a 0.2 M (11.6 g L<sup>-1</sup>), 2) ligeramente halófilos, que soportan concentraciones de entre 0.2 y 0.5 M (11.6 – 29 g L<sup>-1</sup>), 3) halófitos moderados, que sobreviven entre los 0.5 y

2.5 M de NaCl (29 – 145 g L<sup>-1</sup>), y 4) halófilos extremos, que toleran concentraciones desde 2.5 a 5.2 M (145 – 302 g L<sup>-1</sup>). Existen especies halófilas en los dominios *Archaea* y *Bacteria* [117], que son consistentes con las poblaciones microbianas que se pueden encontrar en los SEM, ya que, dentro de *Bacteria*, se incluyen halófitos en los phyla Firmicutes (ej. géneros *Bacillum*, *Heliobacterium* y *Clostridium*), Bacteriodetes (ej. género *Flavobacterium*) y Proteobacteria (clases  $\alpha$ -proteobacteria,  $\beta$ -proteobacteria,  $\gamma$ -proteobacteria y  $\delta$ -proteobacteria) [104, 117]. Adicionalmente, los microorganismos de ambientes hiperhalinos se caracterizan por la excreción de sustancias exopoliméricas, por lo que forman biopelículas de manera natural [116].

Es por lo anterior que el uso de inóculos provenientes de ambientes marinos e hiperhalinos en SEM es una alternativa interesante, ya que son una fuente de microorganismos halófilos moderados con posibles propiedades exoelectrogénicas. A pesar de esto, el uso de estos inóculos para la construcción de biopelículas electroactivas ha sido poco reportado en la literatura. Rousseau *et al.* [29] encontraron que las especies predominantes en una biopelícula generada a partir de sedimento de un marisma salino, pertenecen a los géneros *Desulfuromonas* y *Marinobacter*. Si bien es conocido que *Desulfuromonas* spp. poseen capacidad exoelectrogénica [133], el papel de *Marinobacter* aún no es claro [30]. Sin embargo, las cepas P4B1 y CP1 fueron secuenciadas recientemente, y ambas presentan genes putativos relacionados con la transferencia exógena de electrones [160]. Interesantemente, la cepa CP1, fue aislada de una biopelícula electroactiva desarrollada en condiciones marinas [161]. Por su parte, Monzon *et al.* [26] encontraron que *Halanaerobium* spp. representan el género dominante (>90%) en el bioánodo de una CCM operada con concentraciones de NaCl superiores a 100 g L<sup>-1</sup>. *Halanaerobium* pertenece al phylum Firmicutes, siendo este el más abundante; en menor medida se encontraron especies pertenecientes a los phyla Proteobacteria ( $\gamma$ -proteobacteria y  $\delta$ -proteobacteria) y Bacteriodetes (Flavobacteriales). Esto contrasta con la distribución de especies de los SEM de agua dulce, donde Proteobacteria es el phylum dominante, y Firmicutes y Bacteriodetes aparecen en menor proporción.

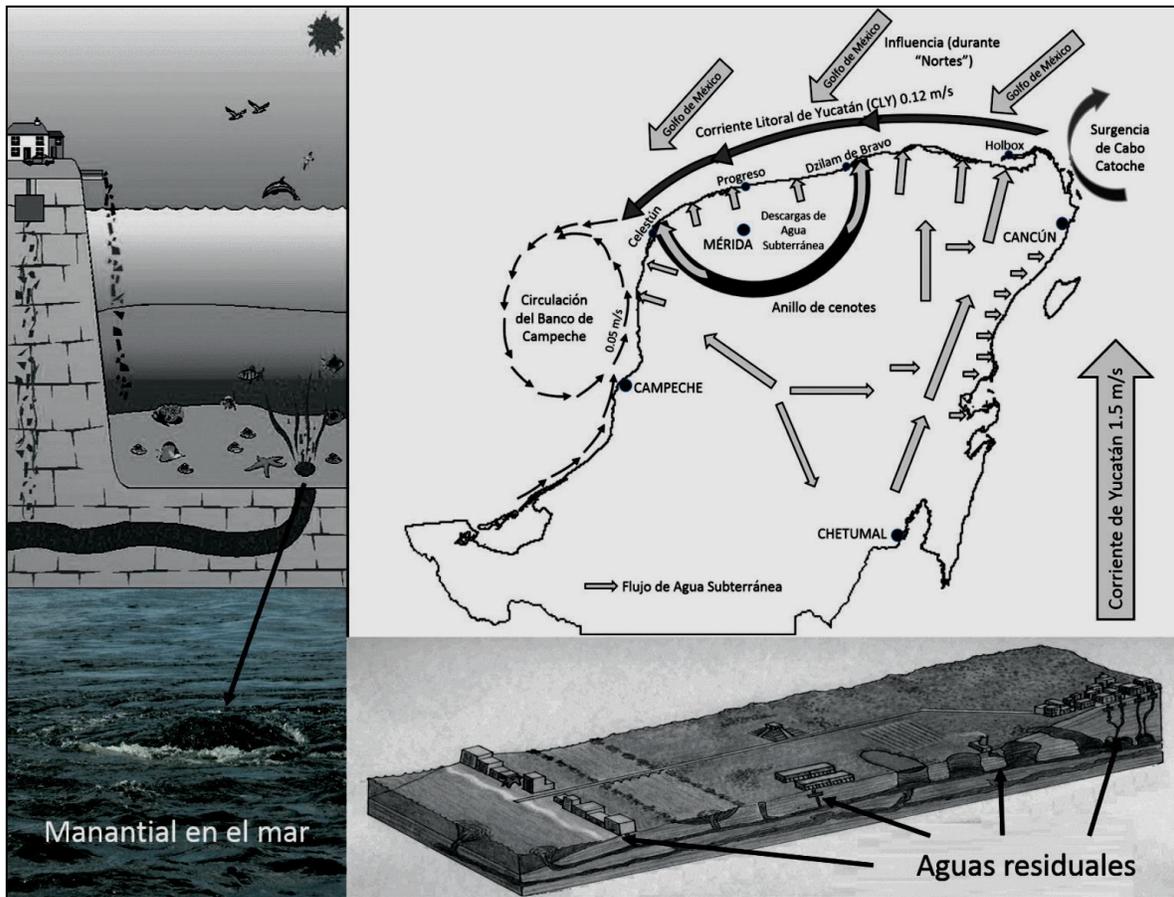
Además, cabe destacar que la operación de SEM en condiciones marinas e hiperhalinas (NaCl > 30 g L<sup>-1</sup>) propicia la inhibición de las bacterias metanogénicas. Esto resulta favorable en términos de la eficiencia coulombica de los sistemas, ya que las

bacterias metanogénicas compiten con las bacterias electroactivas por sustratos como el acetato y el hidrógeno [23, 96, 99, 100, 162, 163].

#### *1.2.4. Ambientes hiperhalinos en la península de Yucatán*

La zona costera del estado de Yucatán, ubicada al sureste del Golfo de México, presenta una gran diversidad de hábitats marinos, que incluyen costa expuesta al mar, lagunas semi-cerradas salobres e hiperhalinas, isla de barrera y manglar de franja [164]. El clima de la región consta de tres temporadas en el año, asociadas al patrón de lluvias, reconociéndose las temporadas de secas (marzo-mayo), lluvias (junio-octubre) y nortes (noviembre-febrero) [165, 166]. La zona se caracteriza por la descarga de aguas subterráneas, ya que su suelo es de naturaleza cárstica y favorece las infiltraciones; esto genera el acarreamiento de nutrientes y materia orgánica desde tierra adentro hasta la zona costera (Figura 1.5). La costa destaca por la presencia de numerosas lagunas, cada una con su respectiva importancia ecológica y económica. Las descargas de aguas residuales, la explotación de aguas subterráneas, cambios en el uso de suelo y otras actividades humanas llevadas a cabo en cada región, aunadas a las altas tasas de infiltración y escorrentía, modifican de forma particular la estructura y función de estas lagunas [164, 166].

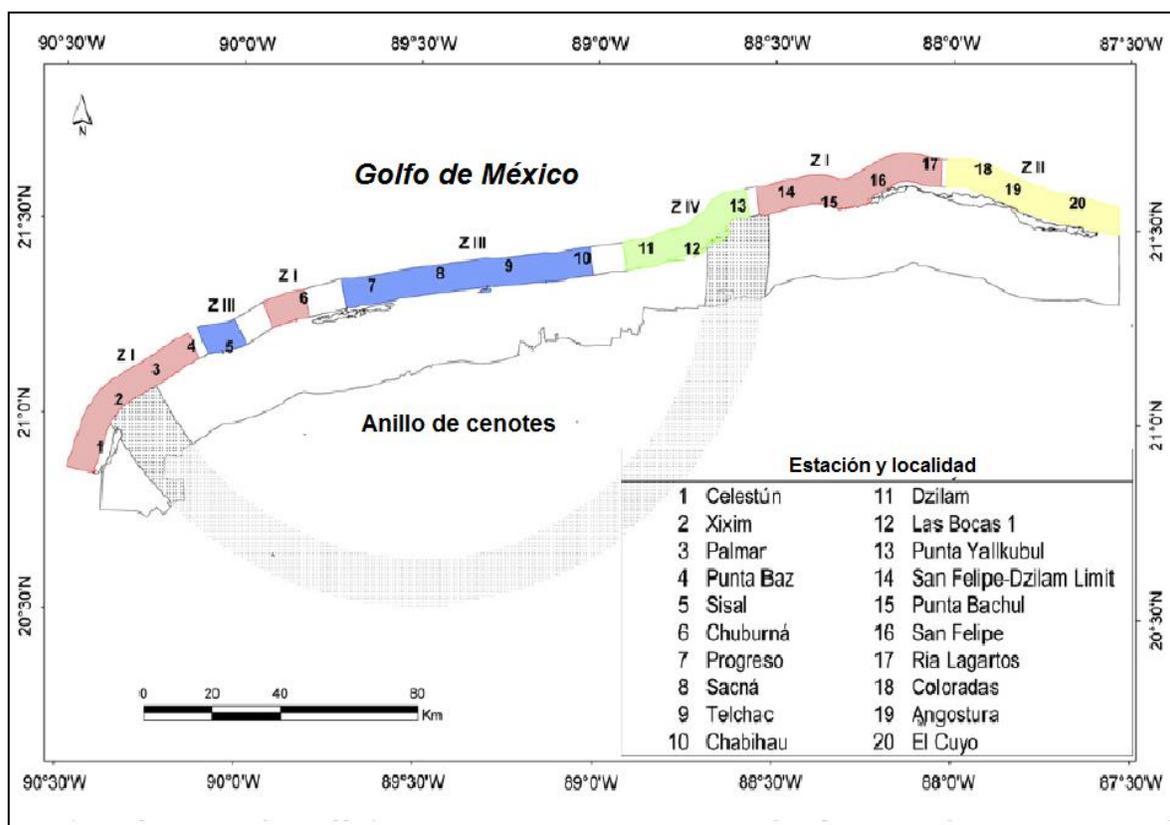
Morales-Ojeda y colaboradores [167] distinguieron cuatro zonas dentro de la costa, cada una con distintas condiciones hidroquímicas y tróficas (Figura 1.6). Las Zonas I, II son las de mayor salinidad, la III es de salinidad moderada y la IV de baja salinidad. Mientras que todas las zonas presentaron un estado trófico bueno a moderado, la zona II se clasificó como bueno a malo; esta región posee influencia del caribe y del Golfo, y se caracteriza por altas concentraciones de nutrientes, que son aportadas por escorrentía. La Zona III presenta una actividad antropogénica prominente, ya que en ella se concentran los centros portuarios del estado, existe una alta densidad poblacional así como desarrollos turísticos de alto y bajo impacto, lo que repercute en altas concentraciones de materia orgánica y de nutrientes [164].



**Figura 1.5.** Características físico-geográficas de la Península de Yucatán [164].

Como se puede ver en la Figura 1.6, existen sistemas lagunares en las Zona I (Celestún, Chuburná y Río Lagartos), la Zona II (de las Coloradas al Cuyo) y la Zona III (sistema lagunar que va desde Progreso hasta Telchac) [166, 167]. Estos están formados por entradas de agua marina protegidos por la Isla de Barrera [166].

El sistema lagunar ubicado en Celestún presenta una salinidad promedio de  $21.1 \text{ g L}^{-1}$ , una mínima de  $3.6 \text{ g L}^{-1}$  y una máxima de  $38.2 \text{ g L}^{-1}$ , que corresponde a aguas salobres y marinas. Las tasas de retención de nutrientes en este sistema es menor en comparación con los otros dos sistemas que se describen a continuación [168].



**Figura 1.6.** Zonas hidroquímicas y tróficas de la cosa Yucateca [161].

El sistema lagunar comprendido entre Progreso y Telchac, se ha registrado una salinidad promedio de  $35.4 \text{ g L}^{-1}$ , con una mínima y una máxima de  $27.5$  y  $44.5 \text{ g L}^{-1}$  hacia la zona de Chelem (lado oeste) [166]. Esto corresponde a salinidades marinas, sin embargo, hacia el puerto de Telchac, existen concentraciones superiores, de entre  $45$  y  $151 \text{ g L}^{-1}$ , con concentraciones promedio de  $94 \text{ g L}^{-1}$ . Estos datos fueron reportados por Torrentera *et al.*, [158] y fueron obtenidos en las inmediaciones de la Laguna Rosada de Telchac, cerca de la zona arqueológica de Xcambó, sitio donde existen charcas salineras de origen prehispánico para la obtención de sal artesanal. Esta zona está caracterizada por concentrar gran parte de la actividad industrial, portuaria y turística del estado [169]. Interesantemente, bacterias de los phyla Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes han sido identificadas en los tapetes microbianos que se forman naturalmente en la zona, incluyendo ejemplares de las clases  $\gamma$ -proteobacteria y  $\beta$ -proteobacteria, Clostridia, y

Sphingobacteria [170]. Adicionalmente, ya se ha reportado en la literatura el uso de microorganismos de esta zona para la producción de electricidad en una celda microbiana, trabajo donde se alcanzó una densidad de potencia de  $1.14 \text{ W m}^{-2}$  [171].

Por último, el sistema lagunar Ría Lagartos, que comprende los municipios de Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo, se caracteriza por ser hiperhalina, con una salinidad promedio de  $57.6 \text{ g L}^{-1}$ , así como una salinidad mínima y máxima de 23 y  $186 \text{ g L}^{-1}$  [166]. En la región de Las Coloradas, existen charcas salineras de origen prehispánico, explotadas para la extracción industrial de sal desde 1940 [172]; estas charcas poseen concentraciones salinas desde los 100 hasta los  $300 \text{ g L}^{-1}$  [159, 173]. El sistema Lagunar Ría Lagartos destaca por su aporte de nutrientes por las escorrentías que provienen del manglar. Cabe recalcar que la zona de actividad ganadera está concentrada tierra adentro, al sur de la laguna, lo que provoca el arrastre de nutrientes, materia orgánica y otros residuos a la laguna por infiltración subterránea (Figura 1.5) [166, 174, 175]

De esta manera, los sistemas lagunares de la costa yucateca son atractivos para la obtención de biopelículas electroactivas para su aplicación en SEM destinados a operar en ambientes marinos e hiperhalinos y/o con electrolitos altamente conductivos, ya que en estos ambientes habita una gran diversidad de microorganismos electroactivos y productores de sustancias exopoliméricas que están adaptados a altas concentraciones de sal, nutrientes y materia orgánica.

### **1.3. Sistemas electroquímicos microbianos para la recuperación de metales**

En un esfuerzo por desarrollar tecnología sustentable para la recuperación de metales de matrices acuosas diluidas, el uso de los sistemas electroquímico microbianos ha sido propuesto [4, 22, 31]. En estos sistemas se aprovecha la corriente eléctrica generada en el ánodo para generar una reacción de reducción en el cátodo, que a su vez ocasiona la recuperación de uno o varios metales. Esto puede llevarse a cabo directamente por vía electroquímica o bioelectroquímica, o de forma indirecta por el desencadenamiento de una serie de reacciones electroquímicas, químicas y/o microbiológicas que producen la recuperación del metal [8, 22, 31, 176, 177].

Se han reconocido cuatro mecanismos por los que se puede llevar a cabo la reducción de un metal de interés en los SEM [8, 9, 31]. El primero, ocurre con un cátodo abiótico, que funge como donador de electrones para la reducción del metal por vía electroquímica, el cual se deposita sobre el electrodo o se precipita en la solución; se han reportado varios SEM que operan bajo este esquema, como la recuperación de Cu(II), Cd(II), Pb(II) y Zn(II) por reducción a su forma elemental [4, 32, 177, 178]. El segundo, ocurre también con un cátodo abiótico, pero la reducción del metal se da de forma indirecta, es decir, el cátodo dona electrones para generar un agente reductor que posteriormente reduce al metal químicamente, el cual se precipita en la solución [9]; un ejemplo es la reducción química del Cr(IV) a Cr(III) por acción del peróxido generado en el cátodo, originado como producto de la reducción electroquímica del oxígeno [179]. El tercero, también implica el uso de un cátodo abiótico, que emplea al metal en su forma oxidada como aceptor de electrones [9]; el metal es reducido en el cátodo, y es reoxidado posteriormente para sustentar una segunda reacción de reducción, que puede ser química o microbiológica. Este es el caso de CCM que emplean a la pareja Fe(II)/Fe(III) para la reducción de oxígeno: en ellas, el cátodo reduce iones Fe(III) a Fe(II) en solución por vía electroquímica, los cuales son consumidos y reoxidados a Fe(III) por un cultivo de *Acidithiobacillus ferrooxidans* suspendido en el seno del electrolito, con la finalidad de impulsar la reducción de oxígeno por vía microbiológica [5, 6]. Por último, el cuarto mecanismo se realiza con un cátodo biótico o biocátodo [9]; en este, los electrones del cátodo son aprovechados por microorganismos electrótrofos que colonizan el electrodo para obtener energía [96, 127] y reducir el metal oxidado por vía bioelectroquímica [8, 9, 96, 127]. Un ejemplo es la reducción bioelectroquímica de Cr(VI) a Cr(III) en un biocátodo y su posterior precipitación en forma de hidróxidos [180, 181]. Cabe destacar también el trabajo de Huang y colaboradores [182], que con un biocátodo obtuvieron Co(II) precipitado por vía química en forma de hidróxidos; estos se obtuvieron al reaccionar el Co(II) con iones hidroxilo, generados vía bioelectroquímica por acción de los microorganismos del electrodo.

En los SEM, el límite termodinámico que define si se obtendrá de energía (CCM) o si habrá necesidad de aplicar un voltaje (CEM) está dado por la diferencia entre el potencial anódico y el catódico [98, 106]. El potencial de cada electrodo se regirá por el potencial de oxidación/reducción de la reacción dominante, la resistencia y los materiales

del sistema [82]. De esta manera, el potencial anódico suele estar determinado por el potencial de oxidación del donador de electrones (ej.  $-0.298$  V/EEH para el acetato a pH 7 o  $+0.26$  V/EEH para la citocromo *c* oxidasa a pH 7) [98, 106], y si el potencial establecido en el cátodo es superior, el potencial de la celda será positivo. Esto significa que el SEM es capaz de entregar energía [8, 31, 106] y que funcionará como una CCM [32, 177, 183-185]. En el caso contrario, es decir, si el potencial de la reacción catódica es inferior al potencial establecido en el ánodo, el potencial de la celda será negativo. Esto indica que la reacción no es termodinámicamente favorable y que se requiere de la aplicación de un potencial para que pueda llevarse a cabo [8, 31, 106]. De darse lo anterior, el SEM opera como una CEM [32, 178, 186]. Algunas reacciones catódicas empleadas para la recuperación de metales en SEM, así como sus potenciales de reducción estándar, se resumen en la Tabla 1.4 para CCM y en la Tabla 1.5 para CEM.

Si bien ya se ha investigado sobre la recuperación de metales de transición, metales del grupo 12 y metales del grupo del platino en SEM, cabe mencionar que poco se ha hecho en materia de recuperación de ETR [31]. Si bien en la literatura abundan trabajos donde el mecanismo de recuperación del metal es la reducción directa en el cátodo [4, 9], esto no es aplicable a los ETR en matrices acuosas. Esto se debe a que los potenciales de reducción de este grupo de metales a su forma elemental está alrededor de  $-2.36$  V/EEH [187], potencial que se encuentra muy por debajo del límite de estabilidad del agua, por lo que para ser susceptibles de recuperación se requiere el uso de materiales con un alto sobrepotencial para la evolución de hidrógeno, como es el caso de los electrodos de mercurio [188-190].

**Tabla 1.4. Metales recuperados en celdas de combustible microbianas.**

Reacción de reducción	Cátodo	E <sub>0</sub> (V)	E <sub>cat</sub> (V)	pH	[M <sub>ox</sub> ] (mM)	%Rec	t (h)	P (W m <sup>-2</sup> )	MII	Ref.
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0(\text{s})$	Abiótico	0.340	0.321	3	15.74	99	144	0.43	BP	[4]
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0(\text{s})$	Abiótico	0.340	-0.100 – -0.330	0	12.59	84	2	0	A	[32]
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0(\text{s})$	Abiótico	0.340	0.137 – 0.247	3	31.47	90	24	5.5	A	[177]
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0(\text{s})$	Abiótico	0.340	n.r.	2	0.82	97	36	0.08	P	[185]
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0(\text{s})$	Abiótico	0.340	n.r.	3	15.74	71	6	26*	C	[191]
$\text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag}^0(\text{s})$	Abiótico	0.799	0.995	7	9.70	95	8	4.25	A	[183]
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	Abiótico	1.330	0.619	2	0.17	98	n.r.	0.600	P	[184]
$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	Abiótico	-1.230	0.400	2	0.19	97	3	0.052	C	[179]
$\text{Cr}^{6+} + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Cr}^{3+}$		-0.744								
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$		0.695								
$2\text{HCrO}_4^- + 3\text{H}_2\text{O}_2 + 8\text{H}^+ \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 3\text{O}_2 + 8\text{H}_2\text{O}$		0.520								
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	Biótico	1.330	0.375	7	0.75	99	7	2.4*	P	[181]
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{OH}^- \rightarrow \text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$										
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 7\text{H}_2\text{O}$	Biótico	1.330	-0.300	7	0.38	94	24	6.4*	C	[180]
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{OH}^- \rightarrow \text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$										
$\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 4\text{OH}^-$	Biótico	0.401	0.110	6	0.51	85	6	1.5*	P	[182]
$\text{Co}^{2+} + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{Co}(\text{OH})_2(\text{s})$										

E<sub>0</sub>: potencial estándar. E<sub>cat</sub>: potencial catódico. Los potenciales se reportan V/EEH. [M<sub>ox</sub>]: concentración del metal oxidado. %Rec: porcentaje de recuperación. t: tiempo. MII: membrana de intercambio iónico (BP: bipolar, P: protónica, A: aniónica, C: catiónica, SM: sin membrana). Ref.: referencia. n.r.: no reportado. \*Watts por metro cúbico

**Tabla 1.5. Metales recuperados en celdas de electrólisis microbianas.**

Reacción de reducción	Cátodo	E <sub>o</sub> (V)	E <sub>cat</sub> (V)	pH	[M <sub>ox</sub> ] (mM)	% Rec	t (h)	E <sub>ap</sub> (V)	MII	Ref.
$Pb^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Pb^0(s)$	Abiótico	-0.130	-0.510	0	1.93	47	2	0.3	A	[32]
$Cd^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Cd^0(s)$	Abiótico	-0.400	-0.660	0	7.12	62	1	0.5	A	[32]
$Zn^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Zn^0(s)$	Abiótico	-0.760	-1.100	0	4.59	44	2	1.7	A	[32]
$Ni^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Ni^0(s)$	Abiótico	-0.250	-0.650	5	17.04	33	20	0.9	BP	[178]
$Ni^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Ni^0(s)$	Abiótico	-0.250	-0.600	3	9.00	87	40	1.0	BP	[186]
$Fe^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Fe^0(s)$	Abiótico	-0.440	-0.800	3	9.00	97	140	1.0	BP	[186]
$Cu^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Cu^0(s)$	Abiótico	0.340	-1.100	3	9.00	99	42	1.0	BP	[186]
$Cd^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Cd^0(s)$	Abiótico	-0.400	-0.800	7	0.14	80	48	0.4 – 1.0	SM	[34]
$2H_2O + 2e^{-} \rightarrow H_2 + 2OH^{-}$										
$Cd^{2+} + 2OH^{-} \rightarrow Cd(OH)_2$										
$Cd^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CdCO_3$										
$Co^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Co^0(s)$	Biótico	-0.280	-0.400	5	0.68	78	6	0.4	C	[191]
$AuCl^{-} + 3e^{-} \rightarrow Au^0 + 4Cl^{-}$	Biótico	0.805	0.944	2	1.01	n.r.	n.r.	0.4	SM	[110]

E<sub>o</sub>: potencial estándar. E<sub>cat</sub>: potencial catódico. Los potenciales se reportan V/EEH. [M<sub>ox</sub>]: concentración del metal oxidado. %Rec: porcentaje de recuperación. t: tiempo. MII: membrana de intercambio iónico (BP: bipolar, P: protónica, A: aniónica, C: catiónica, SM: sin membrana). Ref.: referencia. n.r.: no reportado. \*Watts por metro cúbico

Desde los años 50, se conocen metodologías para la pre-concentración y purificación de ETR basadas en la formación de amalgamas de mercurio [192]. Las primeras técnicas consistían en “piscinas” de mercurio usadas como cátodo, evolucionando hasta las técnicas más recientes que se centran en películas delgadas de mercurio soportadas en otro material [191]. Debido a los inherentes problemas de toxicidad y manejo de residuos peligrosos que implica trabajar con mercurio, la tendencia actual es encontrar técnicas que no requieran de su uso [191]. Los electrodos de carbón están siendo ampliamente utilizados debido a sus múltiples aplicaciones electroquímicas, bioelectroquímicas, y su bajo costo, bajas resistencias óhmicas y amplias ventanas de potencial, así como por ser fácilmente modificables [193, 194]. Sin embargo, estos electrodos son aplicables únicamente como sensores de ETR en solución acuosa, y en algunos casos, para su pre-concentración, ya que suelen operar con agentes quelantes que son electro-adsorbidos sobre la superficie del electrodo polarizado. Debido al principio de funcionamiento de estos electrodos, los ETR electro-adsorbidos se dispersarían en la solución al momento de desconectar el electrodo, [188-190] lo que los hace poco atractivos para la recuperación de ETR a gran escala y con fines comerciales. En la Tabla 1.6, se muestra un resumen de diversos electrodos empleados para la detección y/o pre-concentración de ETR en un medio acuoso.

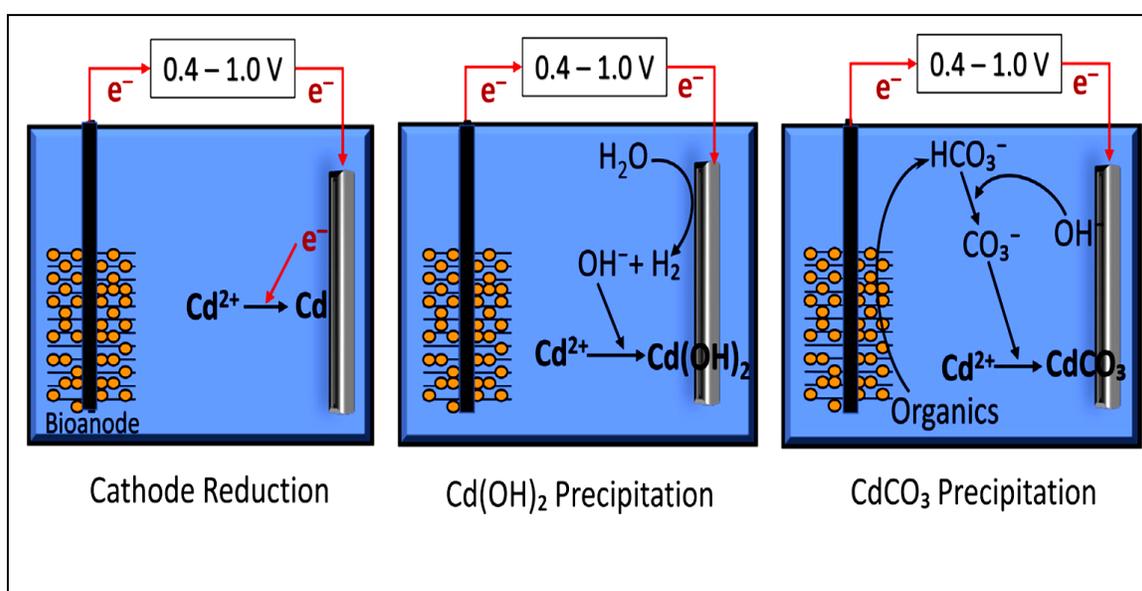
Resulta interesante el hecho de que, si bien los ETR son poco susceptibles de ser depositados electroquímicamente en su forma elemental cuando están disueltos en una matriz acuosa diluida, estos pueden ser precipitados sobre el electrodo en forma de óxidos e hidróxidos por efecto del pH. Este mecanismo ha sido reportado recientemente en SEM (Tabla 1.4 y 1.5) para la recuperación de Cr (III) [180, 181] y Co (II) [182, 195] con biocátodos. De igual forma, Colantonio y Kim [34] demostraron que más del 60% del Cd recuperado en una CEM sin membrana con cátodo abiótico se precipitó en forma de hidróxidos y carbonatos al aplicar potenciales de celda de 0.4 y 1.0 V/EEH. Así, se han reconocido tres vías para la precipitación de Cd con cátodos abióticos: 1) el depósito electroquímico a su forma elemental insoluble, ya muy reportada en la literatura e inaplicable a los ETR, 2) la precipitación en forma de hidróxidos insolubles por la formación de iones hidroxilo derivados de la evolución de hidrógeno en el cátodo, y 3) la precipitación en forma de carbonatos insolubles, formados al reaccionar el Cd(II) con los

**Tabla 1.6. Electrodo empleados como microsensors de elementos de las tierras raras en solución acuosa**

Material	Agente modificante	Condiciones	E (V)	t (s)	Metal	Ref.
PC	AHIB	LiCl, pH = 3.5	1.0 – -0.2	30	Mezcla de ETR	[189]
PC	Alazarina	Buffer de acetato y BFP, pH = 4.8	1.04 – 0.04	120	Mezcla de ETR	[196]
PC	Alazarina, CETAB	Buffer de acetato y BFP, pH = 5	1.14 – 0.14	120	Ce	[197]
PC	Alazarina	Buffer de acetato y BFP, pH = 4.7	1.00 – 0.44	120	Ce	[198]
PC	PII	pH = 1	0.24 – -0.54	-	Ce, La, Y	[199]
PC	SGNFD	Buffer de fosfatos, KNO <sub>3</sub> , pH = 7	0.4 – 0.1	600	Ce	[200]
PC	TBA, NTCPM	Buffer de acetato y agua de grifo, pH = 4	0.2 – 0.14	13	Ho	[201]
PC	NFC, NTCPM, nanosilica	Solución de acetonitrilo y sales de Ho, pH = 3 – 8	0.2 – 0.18	10	Ho	[56]
PC	HDEBH, [bmim]BF <sub>4</sub> , NTCPM, nanosilica	Buffer de acetato y agua de grifo, pH = 3.5 – 8.0	0.08	16	Tb	[56]
PC	HDEBH, [bmim]BF <sub>4</sub> , NTCPM, nanosilica	Sales de Er, pH = 3.0 – 8.0	0.4 – 0.36	16	Er	[202]
ECS	Sal-SAMMS	Buffer de acetato o NH <sub>4</sub> Cl, pH = 3.5	0.2 – -0.75	180	Er	[203]
				-		
				600		

PC: Pasta de carbón, AHIB: ácido hidroxiisobutírico, CETAB: bromuro de hexadeciltrimetilamonio, PII: polímero iónico impreso, SGNFD: silica gel nanoporosa funcionalizada con grupos dipiridilo, TBA: N-(1-tia-2-ilmetilen)-1,3-benzotiazol-2-amina, NFC: N'-(2-hidroxybenzilideno)furano-2-carbohidrazida, NTCPM: nanotubos de carbón de pared múltiple, [bmim]BF<sub>4</sub>: 1-n-butyl-3-metilimidazolio tetrafluoroborato, HDEBH: N'-(2-hidroxi-1,2-difeniletildeno) benzohidrazida, ECS: electrodo de carbón serigrafado, Sal-SAMMS: acrilamida sálica autoensamblada en silica nanoporosa. t: tiempo. E: potencial de trabajo con respecto a un EEH. Ref.: referencia.

iones carbonato en las inmediaciones del cátodo, donde la fuente de carbonatos es proporcionada por los microorganismos del bioánodo (Figura 1.7). Estos últimos dos mecanismos, son aplicables para la recuperación de ETR, razón por la cual los SEM son una oportunidad de investigación atractiva. Además, el potencial de los microorganismos electroactivos halotolerantes que pueden ser empleados en SEM para soportar electrolitos con concentraciones elevadas de sal, los convierte en una alternativa para la recuperación de ETR de ambientes marinos y salobres.



**Figura 1.7.** Mecanismos de precipitación de cadmio en una celda de electrólisis microbiana sin membrana [34].

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se propone emplear un proceso catódico para la generación de iones hidroxilo y recuperar un ETR de una matriz acuosa salobre en una CEM. El mecanismo de reacción propuesto se puede observar claramente al estudiar los Diagramas de Pourbaix de dichos elementos [204], los cuales son prácticamente idénticos entre todos los ETR. Debido a que el Ce es el ETR más abundante, este es empleado frecuentemente como modelo; su Diagrama de Pourbaix se muestra en la Figura 1.8. Como ahí se observa, la precipitación del Ce en forma de

hidróxidos se dará en presencia de iones hidroxilo en una concentración igual o superior a 3.163 ppm, es decir, un pH mayor a 8.5. Los hidróxidos formados precipitan en la solución de forma irreversible, y se oxidarán para formar óxidos de Ce al exponerse al ambiente, de acuerdo a lo reportado por Zhou y Switzer [205], que realizaron el proceso mencionado en una celda electroquímica empleando un sistema de nitratos y generando los iones hidroxilo por cronopotenciometría. Este mismo mecanismo de reacción ha sido ampliamente reportado en la literatura en la formación de nanoestructuras de CeO<sub>2</sub>, tales como nanopartículas, nanobarras o nanotubos, mediante la adición de bases como hidróxido de sodio o potasio, por mencionar algunas [206].



#### **1.4. Hipótesis**

Es posible obtener óxidos de cerio a partir de una matriz acuosa salobre mediante la generación electroquímica de bases en el cátodo de una celda de electrólisis microbiana a escala laboratorio.

#### **1.5. Objetivos**

##### *1.5.1. Objetivo general*

Obtener óxidos de cerio a partir de una matriz acuosa salobre mediante la generación electroquímica de bases en el cátodo de una celda de electrólisis microbiana a escala laboratorio.

##### *1.5.2. Objetivos particulares*

Desarrollar un bioánodo halotolerante por polarización directa a +0.380 V/EEH y -0.160 V/EEH en condiciones salobres en una celda de tres electrodos empleando sedimentos de una laguna hiperhalina como inóculo.

Recuperar óxidos de cerio por generación electroquímica de bases en una celda de tres electrodos empleando una matriz salobre como electrolito.

Recuperar óxidos de cerio por generación electroquímica de bases en el cátodo de una celda de electrólisis microbiana, empleando el bioánodo halotolerante como ánodo.

## CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Desarrollo de bioánodos halotolerantes por cronoamperometría empleando dos potenciales de polarización

#### 2.1.1. *Colecta y caracterización de sedimentos para la selección del inóculo*

Se realizó una colecta de agua y sedimento superficial (primeros 40 cm) durante la época de lluvias en el estero hiperhalino Ría Lagartos, ubicado al Noreste del estado de Yucatán. Debido a que el estero es extenso en longitud (80 Km), para realizar la colecta se designaron tres zonas de muestreo a lo largo del estero, denominadas Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo.

En cada zona de muestreo se cuantificó la profundidad de la laguna con una Ecosonda SpeedTech SM-5, así como el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto, la conductividad iónica, la salinidad y el potencial de óxido-reducción de la columna de agua mediante un Sistema Multiparámetro YSI 556. De igual forma, se registró la temperatura, el pH y el potencial redox del sedimento con dispositivos portátiles marca Extech. Estas mediciones se registraron por quintuplicado, distribuidas a lo largo de cada zona de muestreo (Figura 2.1) de la siguiente forma: una medición en el punto oeste (P1, P4 y P7), tres mediciones en el punto central (P2, P5 y P8), y una medición en el punto este (P3, P6 y P9).

En el punto central de cada zona de muestreo (P2, P5 y P8, en la Figura 2.1) se colectaron 5 L de sedimento, por triplicado, con ayuda de una draga Eckman. El sedimento se empaquetó en bolsas de plástico con cierre hermético y se trasladó al laboratorio de Química Marina del CINVESTAV-IPN (Unidad Mérida) en una nevera con hielo, donde se determinó la concentración de materia orgánica, nitrógeno total y fósforo total, así como el porcentaje de arena, limo y arcilla en el sedimento, de acuerdo a lo descrito por Strickland y Parsons [207]. De igual forma, se caracterizaron los sólidos totales, fijos y volátiles [208], en los laboratorios del CICY. Una vez caracterizadas las zonas de muestreo, se eligió una de ellas para emplear los sedimentos colectados como inóculo en el sistema electroquímico.



**Figura 2.1.** Mapa del estero Ría Lagartos

Zonas de muestreo: Río Lagartos (verde), Las Coloradas (amarillo), El Cuyo (rojo). Puntos rojos: el agua y el sedimento se colectaron por triplicado en los puntos centrales de cada zona de muestreo (P2, P5 y P8, encerrados en un recuadro).

De igual forma, en el punto central de cada zona de muestreo se colectaron 3 L de agua, por triplicado, con una botella Van Dorn de 1 L. El agua colectada se guardó en botellas de polietileno, previamente lavadas con Dextrán, ácido nítrico (5%) y abundante agua destilada desionizada. Estas se trasladaron al laboratorio dentro una nevera con hielo. Una parte se trasladó al laboratorio de Energía Renovable del CICY para cuantificar la concentración de DQO y sulfatos, mediante Kits de Laboratorio marca Hach-Lange. De igual forma, se determinó la concentración de nitrógeno amoniacal, nitratos, nitritos, fosfatos, fósforo total y silicatos en el laboratorio de Química Marina del CINVESTAV-IPN (Unidad Mérida), de acuerdo con lo descrito por Strickland y Parsons [207].

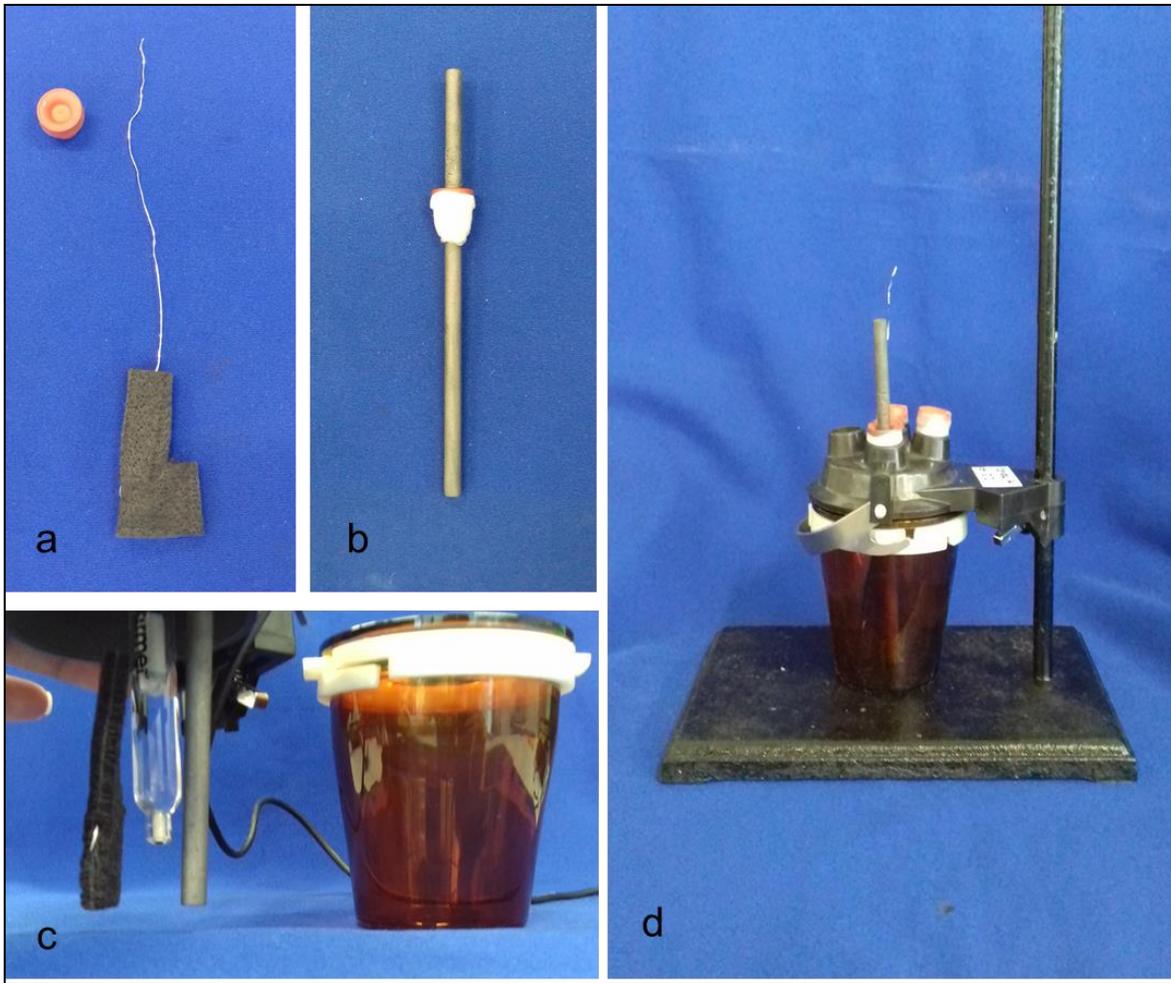
### 2.1.2. Configuración de la celda electroquímica para el desarrollo de los bioánodos halotolerantes

Se emplearon ocho celdas de cristal prefabricadas, color ámbar, con un volumen de 180 mL. En ellas se montó un sistema de tres electrodos, empleando como electrodo

de trabajo fieltro de carbón con 7 cm<sup>2</sup> de área geométrica, soportado sobre un alambre de platino. Como electrodo de referencia, se usó un electrodo cálmel saturado (+0.241 V en comparación con un electrodo estándar de hidrógeno [EEH]), y una barra de grafito como electrodo auxiliar (17.25 cm<sup>2</sup> de área geométrica). La configuración de la celda se muestra gráficamente en la Figura 2.2. La separación entre todos los electrodos fue de 3 cm. Como electrolito se empleó el medio de cultivo descrito por Rousseau *et al.* [27], el cual contiene acetato de sodio como fuente de carbono. El medio de cultivo se preparó de la siguiente forma: 2 g L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl, 0.5 g L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.6 g L<sup>-1</sup> de acetato de sodio (40 mM), 55 mg L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1 mL L<sup>-1</sup> de solución de metales traza (46 mL L<sup>-1</sup> de HCl 37%, 7 g L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1 g L<sup>-1</sup> ZnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1.2 g L<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.4 g L<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1 g L<sup>-1</sup> Mo<sub>7</sub>O<sub>2</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.05 g L<sup>-1</sup> NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O and 0.01 g L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O), and 60 mg L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O. La concentración de NaCl suplementada al medio fue igual a la concentración de sal encontrada en el sitio de colecta del inóculo seleccionado (Las coloradas, 50 g L<sup>-1</sup>).

### 2.1.3. *Inoculación y desarrollo por cronoamperometría de los bioánodos halotolerantes*

Como inóculo, se seleccionó el sedimento obtenido en Las coloradas, ya que este sitio presentó mayor cantidad de metales en el sedimento como se verá en el siguiente capítulo (Capítulo 3), lo cual está relacionado con la presencia de bacterias electroactivas de interés. De igual forma este sitio se seleccionó por presentar una salinidad superior a la salinidad marina. En la zona del cuyo, se encontró que el suelo está compuesto por tapetes microbianos; por eso se descartó, ya que el objetivo de este trabajo es trabajar con sedimentos hiperhalinos y no con biopelículas marinas. El tamaño de inóculo utilizado fue del 15% del volumen de la celda, lo que corresponde a 30,000 mg de SV L<sup>-1</sup>, dada la cantidad de sólidos volátiles presentes en el sedimento y el volumen útil de la celda electroquímica. El contenido de la celda se aireó con nitrógeno durante 20 min, para aminorar el impacto del oxígeno sobre el inóculo. Cabe destacar que la celda se operó en condiciones aerobias, esto significa que, durante el experimento, los puertos de muestreo de la celda fueron abiertos cada vez que fue necesario, sin volver a aplicar aireación con



**Figura 2.2.** Configuración de la celda electroquímica de tres electrodos para la obtención de bioánodos por polarización directa a  $+0.380$  V/EEH y  $-0.160$  V/EEH.

a) Ánodo de fieltro de carbón con hilo de Pt como colector, b) cátodo de grafito, c) configuración de los electrodos, d) vista de lateral de la celda.

nitrógeno; esto fue posible ya que una vez que se desarrolla la comunidad planctónica en el sistema]. Dicha comunidad consume el oxígeno, protegiendo a las bacterias anódicas [122, 125], razón por la que no fue necesario airear con nitrógeno nuevamente, una vez iniciado el experimento. Inmediatamente después de la inoculación, se estableció un potencial constante de  $+0.340$  V/EEH y  $-0.160$  V/EEH sobre el electrodo de trabajo por cronoamperometría con un potenciostato BioLogic durante 21 días, que es el tiempo estándar en el que un cultivo anaerobio suele alcanzar la fase estacionaria [104]. Dichos

potenciales se reportan en la literatura para el establecimiento de biopelículas electroactivas de marismas salinos y biopelículas enriquecidas en *Geobacter* sp. [30, 209]. La fuente de carbono se repuso constantemente (cada 3 o 5 días), sin permitir que esta se agote por completo [27-30]. El pH inicial del medio se ajustó al pH del sitio donde se colectó el inóculo, que fue de 7.9 unidades.

#### *2.1.4. Monitoreo de la composición fisicoquímica del electrolito*

Se monitoreó periódicamente el pH, la temperatura, la conductividad eléctrica y la concentración de oxígeno disuelto, con electrodos marca Hach. También, se registró el consumo de la fuente de carbono en forma de demanda química de oxígeno (DQO) mediante un Kit marca Hach (DQO bajo rango, 5 a 120 ppm).

#### *2.1.5. Caracterización electroquímica de los bioánodos halotolerantes y del electrolito*

El sistema se evaluó por voltamperometría cíclica en condiciones abióticas antes de realizar la selección de organismos electroactivos por polarización directa mediante cronoamperometría, con la finalidad de evaluar la contribución que la fuente de carbono, el sedimento y su interacción, sobre la producción de corriente. Para ello se evaluó el sistema empleando como electrolito medio de cultivo en ausencia de acetato de sodio (control A), medio de cultivo con acetato de sodio (control B), medio de cultivo sin acetato de sodio en presencia de sedimento biológicamente inactivo (control C) y medio de cultivo sin acetato de sodio en presencia de sedimento biológicamente inactivo (control D). La inactivación del sedimento se realizó mediante esterilización en autoclave a 121°C a 1.2 atm, durante 1 h.

Una vez analizado el sistema en condiciones abióticas, se caracterizó por voltamperometría cíclica después de inocular el sistema con sedimento biológicamente activo, justo antes de iniciar la polarización directa por cronoamperometría. La voltamperometría se repitió a los 5 y 10 días de haber aplicado la polarización por cronoamperometría y al finalizar el periodo de polarización (21 días), cuando la producción de corriente alcanzó el estado estacionario. Al final los experimentos se midió

el potencial a circuito abierto ( $E_o$ ) de cada bioánodo. Los parámetros de operación para cada técnica electroquímica se describen en la Tabla 2.1.

#### 2.1.6. Cálculo de parámetros energéticos

Se calculó la eficiencia coulombica con base en la cantidad de DQO consumida y la densidad de corriente registrada durante las cronoamperometrías, de acuerdo a lo sugerido por Logan [98], y siguiendo la ecuación 4.1.

$$E_c = \frac{M_s \int_0^t I dt}{F b_{es} v_{an} \Delta DQO} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

Donde,  $E_c$  es la eficiencia coulombica,  $M_s$  es la masa molar del sustrato ( $32 \text{ g mol}^{-1}$  para el  $\text{O}_2$ ),  $I$  es la corriente registrada por cronoamperometría en un tiempo  $t$ ,  $F$  es la constante de Faraday ( $96,485.22 \text{ s A mol}^{-1}$ ),  $b_{es}$  es el número de electrones transferidos por mol de sustrato (4 electrones por mol de  $\text{O}_2$ ),  $v_{an}$  es el volumen de la cámara anódica en litros y  $\Delta DQO$  representa la cantidad de DQO consumida en el tiempo  $t$ .

La densidad de potencia se calculará normalizando la potencia con respecto al área geométrica del ánodo. La potencia ( $P$ ), se calculará con base en la corriente obtenida por cronoamperometría ( $I$ ) y el potencial a circuito abierto del bioánodo ( $E_{ca}$ ), de acuerdo a lo sugerido por Logan [98], y siguiendo la ecuación 4.2.

$$P = I E_{ca} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

**Tabla 2.1. Descripción de las técnicas electroquímicas empleadas para caracterizar los bioánodos halotolerantes**

<b>Técnica electroquímica</b>	<b>Momento de su aplicación</b>	<b>Objetivo de estudio</b>	<b>Parámetros de operación</b>
Cronoamperometría	Durante todo el experimento, hasta alcanzar el estado estacionario.	Seleccionar microorganismos electroactivos para el desarrollo de la biopelícula. Cuantificar la corriente entregada por la biopelícula en el tiempo. Calcular la cantidad de carga entregada por la biopelícula para posteriormente calcular la eficiencia coulombica.	Se establecerá un potencial de +0.341 y -0.160 V/EEH hasta que la producción de corriente se encuentre en estado estacionario (alrededor de 21 días). La corriente promedio se registró cada 60 minutos durante los 21 días.
Voltamperometría cíclica	a) Sistema en condiciones abióticas. b) Sistema recién inoculado (Día 1) c) A los 5 y 10 días de polarización. d) Al finalizar el periodo de polarización (Día 21).	Obtener información acerca de las especies electroactivas que se encuentran naturalmente en el sedimento. Descartar la oxidación de acetato en condiciones abióticas. Corroborar que la corriente de oxidación aumenta en el tiempo, conforme se desarrolla la biopelícula.	E <sub>0</sub> : Se partió del potencial a circuito abierto para las voltamperometrías a y b. Las voltamperometrías descritas en los incisos c y d se iniciaron a partir del potencial de polarización aplicado en la cronoamperometría (-0.160 V/EEH o +0.341 V/EEH). E <sub>1</sub> : el barrido se inició hacia el potencial de oxidación, fijado en 0.740 V/EEH. E <sub>2</sub> : El potencial de reducción se fijó en -0.359 V/EEH. Las voltamperometrías finalizaron en el potencial de polarización (b y c) o en el potencial a circuito abierto (a y d). En todos los casos, se empleó una velocidad de barrido de 1 mV s <sup>-1</sup> durante 3 ciclos.



## 2.2. Recuperación de cerio por generación electroquímica de bases en una celda de tres electrodos en condiciones salobres

### 2.2.1. Configuración de la celda electroquímica para la recuperación de cerio por generación electroquímica de bases (mediante cronopotenciometría) en condiciones salobres

Se empleó una celda electroquímica en configuración de tres electrodos para comprobar que el Cerio puede recuperarse en forma de óxidos bajo condiciones salobres mediante la generación electroquímica de bases. Como electrodo de trabajo se empleó una placa de acero inoxidable 304 con un área de  $4 \text{ cm}^2$ . Como electrodo auxiliar se utilizó un electrodo de malla DSA (DeNora, EC110) con un área geométrica de  $8 \text{ cm}^2$ . Como electrodo de referencia se empleó un electrodo cálmel saturado (+0.241V/EHH). La separación entre electrodos fue de 3 cm. En cuanto al electrolito se utilizó NaCl en la misma concentración empleada durante el desarrollo de la biopelícula ( $50 \text{ g L}^{-1}$ ). Como fuente de ETR se usó  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  empleando dos concentraciones iniciales distintas de Ce, ya sea  $4.20 \text{ g L}^{-1}$  (30 mM) o  $0.42 \text{ g L}^{-1}$  (3 mM).

Para recuperar el Cerio, se aplicó una cronopotenciometría con ayuda de un potenciostato marca BioLogic. La densidad de corriente mínima reportada en la literatura para el depósito de Ce por generación electroquímica de bases es de  $5 \text{ A m}^{-2}$  [205]. En este experimento, se aplicó durante 48 h una densidad de corriente menor,  $2.5 \text{ A m}^{-2}$ , valor que se eligió con base en la caracterización electroquímica de los bioánodos halotolerantes desarrollados en este trabajo. La cronoamperometría se realizó por triplicado para la concentración inicial de Ce de  $4.20 \text{ g L}^{-1}$  (30 mM) (Reacción A, B y C), y por duplicado para la concentración inicial de Ce de  $0.42 \text{ g L}^{-1}$  (3 mM) (Reacción D y E).

### 2.2.2. Caracterización del depósito electroquímico de cerio en condiciones salobres

Para caracterizar el depósito electroquímico se pesó la placa de acero antes de iniciar la cronopotenciometría. Al finalizar, la placa se secó en oscuridad a temperatura ambiente por 48 h. Pasado dicho periodo, se pesó la placa, y posteriormente se

desprendió el material depositado con una espátula de acero inoxidable. Se pesó el polvo desprendido [205, 210]. Éste se analizó mediante difracción de rayos X (DRX) para identificar la naturaleza de los depósitos, al menos por duplicado para las dos concentraciones iniciales de cerio (30 y 3 mM). Las partículas suspendidas que se generaron durante la cronopotenciometría también se analizaron por DRX, las cuales se recuperaron mediante la evaporación del electrolito a 105°C. Los difractogramas de Rayos X de las diferentes muestras se obtuvieron empleando en un intervalo de 10 a 100° de (2θ) mediante un barrido por pasos de tamaño 0.02° (2θ), utilizando un difractómetro Bruker D-8. La radiación utilizada fue Cu-Kα.

### **2.3. Implementación de una celda de electrólisis microbiana para la recuperación de cerio por generación bioelectroquímica de bases en condiciones salobres**

#### *2.3.1. Configuración de la celda de electrólisis microbiana para la recuperación de cerio en condiciones salobres*

Se fabricó una celda de electrólisis microbiana (CEM) en acrílico, con un diseño basado en un trabajo previamente realizado en el laboratorio de bioenergía de la Unidad de Energía Renovable del CICY [136]. La celda se muestra gráficamente en la Figura 2.3. Las cámaras anódica y catódica, se construyeron de forma circular (9.5 cm de diámetro y 5.5 cm de altura) con una capacidad de 450 mL. La cámara anódica se llenó con 445 mL de medio de cultivo descrito en el apartado 2.1.2., mientras que la cámara catódica se llenó con 445 mL del electrolito y analito descrito en el apartado 2.2.1 (NaCl 50 g L<sup>-1</sup> y Ce 0.4204 g L<sup>-1</sup> en forma de CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O). Una membrana de intercambio de protones (Nafion® 117) fue colocada entre las dos cámaras, para mantener los iones de cerio en el compartimento catódico. El sistema cuenta con orificios en la parte superior de cada cámara, para ser usados como puertos de muestreo y alimentación, así como para colocar los electrodos. Como electrodo de trabajo (cátodo) se empleó una placa de acero inoxidable 304 con un área geométrica de 2 cm<sup>2</sup>, que se colocó en la cámara catódica. Como electrodo auxiliar (ánodo), se empleó un bioánodo halotolerante soportado en fieltro de carbón de 7 cm<sup>2</sup> con hilo de platino como colector (apartado 2.1.2), que se colocó en la

cámara anódica. La separación entre dichos electrodos fue de 8 cm. Como electrodo de referencia se utilizó un electrodo cálmel saturado (+0.241 V/EEH), el cual fue colocado en la cámara catódica a una distancia menor a 2 cm del electrodo de trabajo.

### *2.3.2. Inoculación y desarrollo del bioánodo halotolerante para la celda de electrólisis microbiana*

El bioánodo para la CEM se desarrolló empleando la metodología descrita en el apartado 2.1.3, con un potencial de polarización de  $-0.160$  V/EEH. Adicionalmente, se enriqueció el inóculo agregando una muestra de  $1\text{ cm}^2$  de uno de los bioánodos previamente desarrollados mediante polarización directa a  $-0.160$  V/EEH. El sistema se caracterizó fisicoquímicamente de acuerdo al apartado 2.1.4. De igual forma, el bioánodo se caracterizó electroquímicamente, mediante las técnicas descritas en la Tabla 2.1.

### *2.3.3. Adaptación del bioánodo halotolerante a la celda de electrólisis microbiana*

Una vez concluido el periodo de desarrollo de la biopelícula (apartado 2.3.2), el bioánodo, y todo el contenido de la celda (electrolito empleado durante su desarrollo, sedimento y muestra del bioánodo usados como inóculo), fueron transferidos a la cámara anódica del sistema electroquímico microbiano (170 mL). Adicionalmente, se agregaron 210 mL de medio de cultivo (ver apartado 2.1.2), para completar el volumen de la cámara. En esta, el bioánodo se colocó como electrodo de trabajo ( $7\text{ cm}^2$ ), como electrodo auxiliar se empleó la misma barra de grafito ( $17.25\text{ cm}^2$ ) utilizada durante el desarrollo del bioánodo, y como electrodo de referencia se colocó un electrodo cálmel saturado (+0.241 V/EEH). La separación entre los tres electrodos fue menor a 1 cm. La cámara catódica se llenó completamente con una solución de NaCl ( $50\text{ g L}^{-1}$ , pH = 7.9) y permaneció deshabilitada durante esta fase. El bioánodo se sometió a tres lotes de alimentación con acetato de sodio mientras se polarizó a  $-0.160$  V/EEH por cronoamperometría.

#### *2.3.4. Recuperación de depósitos de Cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres en una celda de electrólisis microbiana*

Concluida la adaptación del bioánodo a la celda de electrólisis microbiana, se habilitó la cámara catódica, adoptando la configuración descrita en el apartado 2.3.1. Para realizar el depósito de Ce se realizó una cronopotenciometría (potenciostato BioLogic SAS VSP 400) aplicando una corriente catódica de 0.5 mA sobre el electrodo de trabajo (placa de acero), lo que equivale a una densidad de corriente de  $2.5 \text{ A m}^{-2}$  con respecto al área catódica, durante 48 horas. El bioánodo fue alimentado con acetato de sodio antes de iniciar la cronopotenciometría. El voltaje aplicado por el potenciostato se monitoreó con un multímetro Fluke 179. El pH de la cámara catódica se midió a las 0, 24 y 48 h, mientras que el de la cámara anódica se midió antes y después de realizar la cronopotenciometría. De igual forma, el potencial a circuito abierto ( $E_o$ ) del ánodo fue registrado antes y después de realizar cada experimento. Los experimentos se realizaron por triplicado (Reacción F, G y H). El depósito de Ce se caracterizó por difracción de rayos X, como ya se explicó en el apartado 2.2.2, con la diferencia de que las partículas suspendidas en el electrolito se depositaron en el fondo de la cámara catódica, lo que hizo posible recuperarlas por decantación y posterior centrifugación a 8,000 rpm, para después ser secadas en una estufa a  $105^\circ\text{C}$  durante 5 días [211, 212].

#### **2.4. Análisis estadístico**

Los juegos de datos fueron sometidos a una prueba de normalidad y los datos paramétricos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANAVA) y a la prueba de comparación de promedios de Tukey, cuando hubo diferencias significativas. Los datos no paramétricos fueron sometidos al análisis de comparación de medianas de Kruskal-Wallis y cuando hubo diferencias significativas se analizaron todas parejas de datos por la prueba de Mann-Whitney. Todos los análisis se realizarán con el programa Minitab17 con un intervalo de confianza de 0.05.

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Obtención y caracterización de biopelículas electroactivas

#### 3.1.1. Caracterización *in situ* de sedimento y agua del estero Ría Lagartos

Inicialmente, se tomaron parámetros *in situ* con dispositivos portátiles en Ría Lagartos en las zonas de muestreo definidas como Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo, en cada uno de los puntos de muestreo de la Figura 3.1. Los resultados obtenidos en cada zona de muestreo se muestran en las Tablas 3.1, 3.2 y 3.3, respectivamente. Los promedios para todo el estero y por zona de muestreo se presentan en la Tabla 3.4., junto con los resultados de los análisis de varianza y medianas realizados.

**Tabla 3.1. Caracterización de sedimento y agua en Río Lagartos por punto de muestreo**

Punto de muestreo	Punto 1		Punto 2		Punto 3
Repeticiones	única	1	2	3	única
Clave	RLO	RLC1	RLC2	RLC3	RLE
Coordenadas	21°36.313'N 88°08.291'O	21°36.671'N 88°07.083'O	21°36.701'N 88°07.089'O	21°36.816'N 88°07.092'O	21°36.062'N 88°05.394'O
<i>Sedimento</i>					
Temperatura (°C)	27.70	28.50	28.80	30.10	27.60
pH	7.08	7.05	7.01	7.43	7.89
Potencial redox (V)	-0.325	-0.296	-0.315	-0.249	-0.186
<i>Agua</i>					
Temperatura (°C)	31.08	30.08	30.94	32.51	31.21
pH	7.34	7.48	7.49	7.81	7.48
Potencial redox (V)	0.354	0.302	0.314	0.214	0.267
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	54.86	54.48	54.30	54.63	54.73
Salinidad (psu)	36.15	35.88	35.74	35.93	36.04
Oxígeno a saturación (%)	35.70	27.40	33.20	74.80	33.00

RLO: Río Lagartos Oeste; RLC: Río Lagartos Centro; RLE: Río Lagartos Este.

**Tabla 3.1. Caracterización de sedimento y agua en Río Lagartos por punto de muestreo (Cont.)**

Clave	RLO	RLC1	RLC2	RLC3	RLE
<i>Agua</i>					
Oxígeno disuelto (ppm)	2.17	1.69	2.04	4.45	2.01
Profundidad (m)	1.00	2.00	1.50	2.90	0.60
Turbidez (m)	1.00	2.00	1.50	0.50	0.60

RLO: Río Lagartos Oeste; RLC: Río Lagartos Centro; RLE: Río Lagartos Este. Cont.: Continuación

**Tabla 3.2. Caracterización de sedimento y agua en Las Coloradas por punto de muestreo**

Punto de muestreo	Punto 4		Punto 5		Punto 6
Repeticiones	única	1	2	3	única
Clave	LCE	LCC1	LCC2	LCC3	LCO
Coordenadas	21°35.015'N	21°34.634'N	21°34.601'N	21°34.618'N	21°34.312'N
	88°00.101'O	87°57.226'O	87°57.230'O	87°57.237'O	87°53.976'O
<i>Sedimento</i>					
Temperatura (°C)	30.40	28.40	32.60	29.50	30.70
pH	7.21	6.86	6.68	6.79	7.20
Potencial redox (V)	-0.294	-0.356	-0.351	-0.314	-0.292
<i>Agua</i>					
Temperatura (°C)	32.48	30.92	31.43	31.57	32.08
pH	8.08	7.93	7.92	7.80	7.86
Potencial redox (V)	0.251	0.246	0.268	0.279	0.241
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	71.42	69.70	74.24	72.90	78.51
Salinidad (psu)	49.27	47.46	51.05	49.98	54.44
Oxígeno a saturación (%)	87.60	93.70	85.10	85.70	63.10
Oxígeno disuelto (ppm)	5.30	5.33	4.76	4.82	3.41
Profundidad (m)	0.90	1.00	0.90	1.10	1.10
Turbidez (m)	0.80	0.90	0.60	0.60	1.10

LCO: Las Coloradas Oeste; LCC: Las Coloradas Centro; LCE: Las Coloradas Este.

**Tabla 3.3. Caracterización de sedimento y agua en El Cuyo por punto de muestreo**

Punto de muestreo	Punto 4		Punto 5		Punto 6
Repeticiones	única	1	2	3	única
Clave	ECO	ECC1	ECC2	ECC3	ECE
Coordenadas	21°31.940'N 87°48.108'O	21°31.180'N 87°46.124'O	21°31.178'N 87°46.119'O	21°31.175'N 87°46.112'O	21°30.514'N 87°42.988'O
<i>Sedimento</i>					
Temperatura (°C)	28.3	27.3	27.6	26.2	27.9
pH	7.25	7.23	7.37	7.46	7.54
Potencial redox (V)	-0.257	-0.202	-0.175	-0.208	-0.223
<i>Agua</i>					
Temperatura (°C)	28.2	29.15	29.25	29.34	29.09
pH	7.43	7.39	7.41	7.70	7.48
Potencial redox (V)	0.337	0.341	0.333	0.328	0.315
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	85.48	87.70	87.45	87.27	86.03
Salinidad (psu)	60.27	62.08	61.88	61.72	60.00
Oxígeno a saturación (%)	73.90	67.50	66.80	83.50	75.10
Oxígeno disuelto (ppm)	4.12	3.66	3.67	4.54	4.09
Profundidad (m)	1.50	1.50	1.80	1.50	1.10
Turbidez (m)	0.50	0.25	0.25	0.50	0.50

ECO: El Cuyo Oeste; ECC: El Cuyo Centro; ECE: El Cuyo Este.

**Tabla 3.4. Caracterización del agua y sedimento del estero Ría Lagartos (global y por zona de muestreo)**

Zona de Muestreo	Río Lagartos	Las Coloradas	El Cuyo	Ría Lagartos
<i>Sedimento</i>				
Temperatura (°C)	28.54 ± 1.01 <sup>ab</sup>	30.32 ± 1.56 <sup>a</sup>	26.46 ± 0.80 <sup>b</sup>	28.77 ± 1.44
pH	7.29 ± 0.37 <sup>a</sup>	6.95 ± 0.24 <sup>a</sup>	7.37 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.20 ± 0.22
Potencial redox (V)	-0.274 ± 0.057 <sup>a</sup>	-0.321 ± 0.031 <sup>a</sup>	-0.196 ± 0.049 <sup>b</sup>	-0.263 ± 0.065
<i>Agua</i>				
Temperatura (°C)	31.16 ± 0.87 <sup>a</sup>	31.70 ± 0.60 <sup>a</sup>	29.01 ± 0.46 <sup>b</sup>	30.62 ± 1.42
pH	7.52 ± 0.17 <sup>a</sup>	7.92 ± 0.10 <sup>b</sup>	7.48 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.64 ± 0.24
Potencial redox (V)	0.291 ± 0.053 <sup>ab</sup>	0.277 ± 0.016 <sup>a</sup>	0.331 ± 0.010 <sup>b</sup>	0.293 ± 0.037
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	54.60 ± 0.22 <sup>a</sup>	73.35 ± 3.34 <sup>b</sup>	86.79 ± 0.97 <sup>c</sup>	71.58 ± 16.17
Salinidad (psu)	35.95 ± 0.16 <sup>a</sup>	50.44 ± 2.59 <sup>b</sup>	61.19 ± 0.98 <sup>c</sup>	49.19 ± 12.67
Oxígeno a saturación (%)	40.82 ± 19.24 <sup>a</sup>	83.04 ± 11.65 <sup>b</sup>	73.36 ± 6.77 <sup>b</sup>	65.74 ± 22.12
Oxígeno disuelto (ppm)	2.47 ± 1.12 <sup>a</sup>	4.72 ± 0.72 <sup>b</sup>	4.02 ± 0.37 <sup>b</sup>	3.74 ± 1.15
Profundidad (m)	1.60 ± 0.90 <sup>a</sup>	1.00 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.32
Turbidez (m)	1.12 ± 0.63 <sup>ab</sup>	0.80 ± 0.21 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.36

Las letras iguales indican que los tratamientos no presentan diferencias estadísticas significativas entre sí para un intervalo de confianza de 0.05.

La temperatura de los sedimentos colectados se encontró entre 26.20 y 32.60°C (Tablas 3.1, 3.2 y 3.3), con promedio de  $28.54 \pm 1.01^{\circ}\text{C}^{\text{ab}}$  en Río Lagartos,  $30.32 \pm 1.56^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$  en Las Coloradas y  $26.46 \pm 0.80^{\circ}\text{C}^{\text{b}}$  en El Cuyo, siendo esta última significativamente menor en comparación con Las Coloradas (Tabla 3.4). Los valores registrados se encuentran dentro de lo esperado, ya que el 23.2% de los sedimentos marinos tiene temperaturas de entre 20 y 40°C y más del 73% se encuentra en las costas [1].

En cuanto a la columna de agua, se registró una temperatura promedio de  $31.16 \pm 0.87^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$  en Río Lagartos,  $31.70 \pm 0.60^{\circ}\text{C}^{\text{a}}$  en Las Coloradas y  $29.01 \pm 0.46^{\circ}\text{C}^{\text{b}}$  en El Cuyo. De igual forma que con el sedimento, los valores encontrados fueron similares a los reportados por May-Ku y colaboradores en la Laguna costera de Yalahau, ubicada 50 Km al este de Río Lagartos [213], así como por otros autores en las zonas de Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo [159, 175, 214]. Similar a lo encontrado en el sedimento, la temperatura de la columna de agua fue significativamente menor en El Cuyo. Esto último se debe a que, en dicha zona, el día de la colecta se observaron nubosidades y lloviznas aisladas, las cuales influyen la temperatura del agua [215]; en contraste, el día de la colecta en Río Lagartos y Las Coloradas, el cielo se observó despejado y no se presentaron lluvias.

Al comparar el sedimento con la columna de agua, se encontró que la última fue mayor, esto en todos los puntos de muestreo excepto en LCC2 (Tabla 3.2). Esto es de esperarse debido a las altas cantidades de radiación solar que se reciben en la zona, que es de baja profundidad [159]. La diferencia de temperatura fue de entre 1 y 2.5°C, aproximadamente. Dicha diferencia fue mayor en Río Lagartos y El Cuyo en comparación con Las Coloradas, lo que puede deberse a que este último sitio presenta la menor profundidad de los tres, favoreciendo el intercambio de calor. Como ya se ha reportado en la literatura, la profundidad del sedimento, el tipo de clima, la estación del año y régimen hidrológico, así como la tasa de escorrentías subterráneas, precipitación y tipo de actividad antropogénica tiene influencia sobre la temperatura del agua [216-218].

El pH del sedimento fue de  $7.29 \pm 0.37^{\text{a}}$ ,  $6.95 \pm 0.24^{\text{a}}$  y  $7.37 \pm 0.13^{\text{a}}$  en Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo, respectivamente, sin diferencias significativas. En cuanto al pH del agua, este fue ligeramente más alcalino en Las Coloradas ( $7.92 \pm 0.10^{\text{b}}$ ) comparado con Río Lagartos ( $7.52 \pm 0.17^{\text{a}}$ ) y El Cuyo ( $7.48 \pm 0.13^{\text{a}}$ ), Lo anterior es

característico de la zona de Las Coloradas, que aunado a la temperatura, es un indicador de altas tasas de actividad proteolítica microbiana [159]. Los valores de pH encontrados, incluyendo los valores más alcalinos en Las Coloradas, se asimilan a los anteriormente reportados en la literatura [159, 175, 219]. Los valores alcalinos aquí encontrados eran de esperarse, ya que dichos valores de pH están correlacionados con la presencia de sulfatos y carbonatos en solución, que son característicos de la zona [219, 220].

En cuanto al potencial redox del agua, los valores menos oxidantes se encontraron en Las Coloradas ( $+0.277 \pm 0.016^a$  V/EEH), seguidas de Río Lagartos ( $+0.291 \pm 0.053^{ab}$  V/EEH) y El Cuyo ( $+0.331 \pm 0.010^b$  V/EEH). El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre Las Coloradas y El Cuyo, siendo el potencial del primero más reductor en comparación del segundo. A pesar de las diferencias, el potencial redox del agua se encontró dentro de valores normales para ambientes acuosos saturados de oxígeno, el cual se espera esté alrededor de los  $+0.300$  V/EEH y  $+0.500$  V/EEH, mientras que los estados anóxicos se caracterizan con valores menores a  $+0.100$  V/EEH [221].

En el sedimento los potenciales fueron anóxicos, encontrando los valores más reductores en Río Lagartos ( $-0.274 \pm 0.057^a$  V/EEH) y Las Coloradas ( $-0.321 \pm 0.031^a$  V/EEH), mientras que en El Cuyo, el potencial fue significativamente más oxidante ( $-0.196 \pm 0.049^b$  V/EEH) (Tabla 3.4). Estas diferencias pueden ser ocasionadas directamente por la actividad microbiana del sedimento [222], así como por las especies químicas redox presentes [221, 223]; los potenciales hallados en Las Coloradas y El Cuyo se asemejan más a valores de potencial asociados con actividad reductora de sulfatos ( $-0.250$  a  $-0.350$  V/EEH) con posibilidad de actividad metanogénica ( $-0.350$  a  $-0.450$  V/EEH), mientras que el valor encontrado en el Cuyo se asemeja más al potencial asociado con actividad reductora de Fe y Mn, así como desnitrificadora [224, 225]. Valdés-Lozano y colaboradores [219] reportaron, en 2004, un potencial redox promedio de  $-0.167 \pm 0.46$  V/EEH en el sedimento de Ría Lagartos, valor que se asemeja al encontrado en El Cuyo. Como era de esperarse, el potencial redox del sedimento fue menor que el de la columna de agua, debido al gradiente de oxígeno que existe desde la parte superior de la columna agua hasta varios centímetros de profundidad en el sedimento, donde se dan condiciones anaerobias, debido a la actividad microbiana [226]. Los potenciales registrados en el sedimento fueron similares a los reportados previamente en la zona por Valdés-Lozano y colaboradores [219].

En cuanto a la concentración de oxígeno encontrada en el agua de cada sitio, estas fueron de  $2.47 \pm 1.12^a$  ppm en Río Lagartos,  $4.72 \pm 0.72^b$  ppm en Las Coloradas y  $4.02 \pm 0.37^b$  ppm en El Cuyo, valores similares a los reportados en Ría Lagartos y Yalahau y Celestún [175, 213, 219, 227, 228]. La concentración de oxígeno registrada no muestra relación aparente con los valores de potencial redox encontrados en agua y sedimento, sugiriendo que este último está gobernado por otras especies químicas, tales como sulfatos, silicatos y metales, así como por la actividad microbiana del sitio [223]. Cabe mencionar también que la concentración de oxígeno registrada en Río Lagartos es menor que la reportada anteriormente por Veja-Cendejas y colaboradores [175], mientras que los valores de Las Coloradas y El Cuyo fueron similares. Esto pudo verse influenciado por la turbidez, que fue significativamente mayor en Río Lagartos. Por otro lado, Valdés y colaboradores [219] han reportado un rango de concentración de oxígeno variable, que va desde 8.57 a 168.09%.

En cuanto a la conductividad iónica y a la salinidad, se detectaron marcadas diferencias entre las tres zonas de muestreo. En Río Lagartos se encontró que la conductividad y la salinidad fueron de  $54.60 \pm 0.22^a$  mS  $\text{cm}^{-1}$  y  $35.95 \pm 0.16^a$  psu, mientras que en Las Coloradas y El Cuyo fueron de  $73.35 \pm 3.34^b$  mS  $\text{cm}^{-1}$  y  $50.44 \pm 2.59^b$  psu, y  $86.79 \pm 0.97^c$  mS  $\text{cm}^{-1}$  y  $61.19 \pm 0.98^c$  psu, respectivamente, con diferencias significativas entre sí (Tabla 3.4). Esto coincide con lo reportado anteriormente en la zona [219]. Acorde a lo ya reportado en la literatura, se observó un gradiente de conductividad y salinidad a lo largo del estero; la menor concentración se encontró en la parte oeste del estero, donde se encuentran las entradas de agua marina, y el gradiente aumenta paulatinamente hacia la porción este del estero, donde se ha reportado una mayor evaporación y donde las lluvias y las escorrentías subterráneas representan el único aporte de agua al estero, debido a que en esta zona no existen entradas de agua de mar [159, 166, 175, 219].

### 3.1.2. Caracterización *in vitro* del sedimento y agua colectados en el estero Ría Lagartos

Después de realizar la caracterización de sedimentos y agua en el sitio de muestreo, las muestras colectadas se analizaron en el laboratorio. En las Tablas 3.5, 3.6 y 3.7 se muestran los resultados correspondientes a las muestras colectadas en Río Lagartos, Las Coloradas y el Cuyo, respectivamente. Los promedios para cada zona de

muestreo, así como el resultado del análisis estadístico para cada una de ellas se muestran en la Tabla 3.8.

**Tabla 3.5. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo Río Lagartos**

Clave	RLC1	RLC2	RLC3	RLC
<i>Sedimento</i>				
Nitrógeno total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	183.40	179.98	276.91	213.43 $\pm$ 55.00
Materia orgánica (%)	4.92	5.58	9.27	6.59 $\pm$ 2.34
Azufre total (%)	0.46	0.54	0.61	0.54 $\pm$ 0.07
Fósforo total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	4.57	5.23	5.14	4.98 $\pm$ 0.36
Arena (%)	68.30	64.20	56.51	63.00 $\pm$ 5.99
Limo (%)	22.35	34.40	27.40	24.72 $\pm$ 2.54
Arcilla (%)	9.35	11.40	16.09	12.28 $\pm$ 3.46
Humedad (%)	47.47	71.42	71.62	63.50 $\pm$ 13.89
Sólidos totales (%)	52.53	28.58	28.38	36.50 $\pm$ 13.89
Sólidos volátiles (%)	12.95	14.00	15.98	14.31 $\pm$ 1.54
Sólidos fijos (%)	87.05	86.00	84.02	85.70 $\pm$ 1.54
<i>Agua</i>				
Nitratos ( $\mu\text{M}$ )	1.92	2.64	1.86	2.14 $\pm$ 0.43
Nitritos ( $\mu\text{M}$ )	0.07	0.06	0.08	0.07 $\pm$ 0.01
Nitrógeno amoniacal ( $\mu\text{M}$ )	0.83	0.94	1.33	1.03 $\pm$ 0.26
Nitrógeno total ( $\mu\text{M}$ )	5.07	20.55	20.29	15.30 $\pm$ 8.86
Sulfatos (mM)	21.67	20.08	18.75	20.17 $\pm$ 1.46
Fosfatos ( $\mu\text{M}$ )	0.27	0.32	0.31	0.30 $\pm$ 0.03
Fósforo total ( $\mu\text{M}$ )	0.23	0.52	0.91	0.55 $\pm$ 0.34
Silicatos ( $\mu\text{M}$ )	22.75	21.13	20.76	21.55 $\pm$ 1.06

RLC: Río Lagartos Centro; los números indican la repetición; si no presenta número, hace referencia al promedio de las tres repeticiones.

**Tabla 3.6. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo Las Coloradas**

Clave	LCC1	LCC2	LCC3	LCC
<i>Sedimento</i>				
Nitrógeno total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	177.42	161.62	111.24	150.09 $\pm$ 34.56
Materia orgánica (%)	4.63	4.12	4.03	4.26 $\pm$ 0.32
Azufre total (%)	0.54	0.51	0.53	0.53 $\pm$ 0.01
Fósforo total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	4.05	3.97	4.24	4.09 $\pm$ 0.13
Arena (%)	76.20	72.35	72.15	73.57 $\pm$ 2.28
Limo (%)	14.60	16.40	20.50	17.17 $\pm$ 3.02
Arcilla (%)	9.20	11.25	7.35	9.27 $\pm$ 1.95
Humedad (%)	61.85	49.89	55.26	55.67 $\pm$ 5.99
Sólidos totales (%)	38.14	50.10	44.74	44.33 $\pm$ 5.99
Sólidos volátiles (%)	11.85	9.54	9.69	10.36 $\pm$ 1.29
Sólidos fijos (%)	88.14	90.45	90.31	89.64 $\pm$ 1.29
<i>Agua</i>				
Nitratos ( $\mu\text{M}$ )	1.38	16.37	2.06	6.60 $\pm$ 8.46
Nitritos ( $\mu\text{M}$ )	0.19	0.23	0.25	0.22 $\pm$ 0.03
Nitrógeno amoniacal ( $\mu\text{M}$ )	1.95	2.55	1.88	2.13 $\pm$ 0.37
Nitrógeno total ( $\mu\text{M}$ )	94.48	125.17	103.95	107.73 $\pm$ 15.77
Sulfatos (mM)	30.21	35.42	29.17	31.60 $\pm$ 3.35
Fosfatos ( $\mu\text{M}$ )	0.65	0.48	0.37	0.50 $\pm$ 0.14
Fósforo total ( $\mu\text{M}$ )	1.48	1.22	0.59	1.10 $\pm$ 0.46
Silicatos ( $\mu\text{M}$ )	45.17	50.93	46.86	47.65 $\pm$ 2.96

LCC: Las Coloradas Centro; los números indican la repetición; si no presenta número, hace referencia al promedio de las tres repeticiones.

**Tabla 3.7. Caracterización del agua y los sedimentos colectados en el punto central de la zona de muestreo El Cuyo**

Clave	ECC1	ECC2	ECC3	ECC
<i>Sedimento</i>				
Nitrógeno total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	264.96	200.26	271.15	245.46 $\pm$ 39.26
Materia orgánica (%)	3.98	5.17	6.01	5.05 $\pm$ 1.02
Azufre total (%)	0.71	0.75	0.76	0.74 $\pm$ 0.03
Fósforo total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	3.60	3.10	3.16	3.29 $\pm$ 0.27
Arena (%)	69.60	67.70	65.70	67.67 $\pm$ 1.95
Limo (%)	16.26	18.35	18.25	17.62 $\pm$ 1.18
Arcilla (%)	14.15	13.95	16.05	14.72 $\pm$ 1.16
Humedad (%)	53.06	58.15	60.94	57.38 $\pm$ 3.99
Sólidos totales (%)	46.94	41.85	39.06	42.61 $\pm$ 3.99
Sólidos volátiles (%)	8.88	10.54	14.20	11.21 $\pm$ 2.72
Sólidos fijos (%)	91.12	89.46	85.80	88.80 $\pm$ 2.72
<i>Agua</i>				
Nitratos ( $\mu\text{M}$ )	31.42	43.45	22.64	32.50 $\pm$ 10.45
Nitritos ( $\mu\text{M}$ )	1.53	1.37	1.37	1.42 $\pm$ 0.09
Nitrógeno amoniacal ( $\mu\text{M}$ )	9.25	8.64	6.24	8.05 $\pm$ 1.59
Nitrógeno total ( $\mu\text{M}$ )	306.38	330.40	254.87	297.22 $\pm$ 38.59
Sulfatos (mM)	55.17	46.85	37.48	46.50 $\pm$ 8.85
Fosfatos ( $\mu\text{M}$ )	0.53	0.74	0.70	0.66 $\pm$ 0.11
Fósforo total ( $\mu\text{M}$ )	1.76	1.16	1.22	1.38 $\pm$ 0.33
Silicatos ( $\mu\text{M}$ )	82.62	81.46	83.08	82.39 $\pm$ 0.84

ECC: El Cuyo Centro; los números indican la repetición; si no presenta número, hace referencia al promedio de las tres repeticiones.

**Tabla 3.8. Caracterización del agua y los sedimentos colectados por zona de muestreo en el estero Ría Lagartos**

Zona de muestreo	Río Lagartos	Las Coloradas	El Cuyo	Ría Lagartos
<i>Sedimento</i>				
Nitrógeno total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	213.43 $\pm$ 55.00 <sup>a</sup>	150.09 $\pm$ 34.56 <sup>a</sup>	245.46 $\pm$ 39.26 <sup>a</sup>	202.99 $\pm$ 56.63
Materia orgánica (%)	6.59 $\pm$ 2.34 <sup>a</sup>	4.26 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	5.05 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>	5.30 $\pm$ 1.65
Azufre total (%)	0.54 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.74 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.60 $\pm$ 0.11
Fósforo total ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )	4.98 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	4.09 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	3.29 $\pm$ 0.27 <sup>c</sup>	4.12 $\pm$ 0.77
Arena (%)	63.00 $\pm$ 5.99 <sup>a</sup>	73.57 $\pm$ 2.28 <sup>b</sup>	67.67 $\pm$ 1.95 <sup>ab</sup>	68.08 $\pm$ 5.68
Limo (%)	24.72 $\pm$ 2.54 <sup>a</sup>	17.17 $\pm$ 3.02 <sup>b</sup>	17.62 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>	20.95 $\pm$ 6.34
Arcilla (%)	12.28 $\pm$ 3.46 <sup>a</sup>	9.27 $\pm$ 1.95 <sup>a</sup>	14.72 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>	12.09 $\pm$ 3.14
Humedad (%)	63.50 $\pm$ 13.89 <sup>a</sup>	55.67 $\pm$ 5.99 <sup>a</sup>	57.38 $\pm$ 3.99 <sup>a</sup>	58.85 $\pm$ 8.60
Sólidos totales (%)	36.50 $\pm$ 13.89 <sup>a</sup>	44.33 $\pm$ 5.99 <sup>a</sup>	42.61 $\pm$ 3.99 <sup>a</sup>	41.15 $\pm$ 8.60
Sólidos volátiles (%)	14.31 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>	10.36 $\pm$ 1.29 <sup>b</sup>	11.21 $\pm$ 2.72 <sup>a</sup>	11.96 $\pm$ 2.47
Sólidos fijos (%)	85.70 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>	89.64 $\pm$ 1.29 <sup>a</sup>	88.80 $\pm$ 2.72 <sup>a</sup>	88.04 $\pm$ 2.47
<i>Agua</i>				
Nitratos ( $\mu\text{M}$ )	2.14 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	6.60 $\pm$ 8.46 <sup>a</sup>	32.50 $\pm$ 10.45 <sup>b</sup>	13.75 $\pm$ 15.71
Nitritos ( $\mu\text{M}$ )	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.42 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	0.57 $\pm$ 0.64
Nitrógeno amoniacal ( $\mu\text{M}$ )	1.03 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	2.13 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	8.05 $\pm$ 1.59 <sup>b</sup>	3.73 $\pm$ 3.37
Nitrógeno total ( $\mu\text{M}$ )	15.30 $\pm$ 8.86 <sup>a</sup>	107.73 $\pm$ 15.77 <sup>b</sup>	297.22 $\pm$ 38.59 <sup>c</sup>	140.13 $\pm$ 126.26
Sulfatos (mM)	20.17 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>	31.60 $\pm$ 3.35 <sup>b</sup>	46.50 $\pm$ 8.85 <sup>c</sup>	32.76 $\pm$ 12.40
Fosfatos ( $\mu\text{M}$ )	0.30 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>	0.66 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.18
Fósforo total ( $\mu\text{M}$ )	0.55 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	1.10 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	1.38 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	1.01 $\pm$ 0.49
Silicatos ( $\mu\text{M}$ )	21.55 $\pm$ 1.06 <sup>a</sup>	47.65 $\pm$ 2.96 <sup>b</sup>	82.39 $\pm$ 0.84 <sup>c</sup>	50.53 $\pm$ 26.48

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos para un nivel de confianza de 0.05.

Se encontró una concentración de nitrógeno total en el sedimento de  $213.43 \pm 55.00^a \mu\text{mol g}^{-1}$  en Río Lagartos,  $150.09 \pm 34.56^a \mu\text{mol g}^{-1}$  en Las Coloradas y  $245.46 \pm 39.26^a \mu\text{mol g}^{-1}$  en El Cuyo, sin diferencias significativas (Tabla 3.8). Estos valores son similares a los reportados en Río Lagartos y en la laguna costera de Nichupté (Quintana-Roo) por Valdés-Lozano, May-Kú y colaboradores [213, 219], donde la concentración de nitrógeno total fue de entre  $93$  y  $230 \mu\text{mol g}^{-1}$ . Las concentraciones aquí reportadas coinciden con los valores registrados en las lagunas costeras de la Península de Yucatán, tales como Celestún ( $233.50 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), Chelem ( $166.00 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), Rosada ( $102.00 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), Ría Lagartos ( $99.00 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) y Nichupté ( $109.60 \mu\text{mol g}^{-1}$ ).

Por otro lado, los porcentajes de materia orgánica en el sedimento fueron de  $6.59 \pm 2.34^{\text{a}\%}$  en Río Lagartos,  $4.26 \pm 0.32^{\text{a}\%}$  en Las Coloradas y  $5.05 \pm 1.02^{\text{a}\%}$  en El Cuyo, sin diferencias significativas; dichos valores coinciden con los reportados en sedimentos estuarinos y lagunares de la Península de Yucatán, cuyo promedio es de  $2.96 \pm 2.99\%$  y sus valores mínimo y máximo son de  $0.25\%$  y  $12.18\%$ , respectivamente [229], y son muy similares a los reportados previamente en la laguna de Nichupté ( $3.15 \pm 1.55\%$ ) [230] y Ría Lagartos ( $3.73 \pm 1.65\%$ ) [219].

El porcentaje de azufre total en el sedimento fue de  $0.54 \pm 0.07^{\text{a}\%}$  en Río Lagartos,  $0.53 \pm 0.01^{\text{a}\%}$  en Las Coloradas y de  $0.74 \pm 0.03^{\text{b}\%}$  en El Cuyo, siendo esta última significativamente mayor a las dos primeras. Esto es de esperarse ya que en la zona del Cuyo existe mayor tasa de evaporación y mayor salinidad [219] y los marismas salinos suelen presentar mayores concentraciones de azufre en comparación con los ambientes marinos [231]. Los valores aquí reportados son inferiores a los reportados en sedimentos de marismas salinos localizados en California y Massachusetts (EUA), que fueron de  $1.09$  y  $1.60\%$ , respectivamente [231].

En cuanto a la concentración de fósforo total en el sedimento, esta fue de  $4.98 \pm 0.36^a \mu\text{mol g}^{-1}$  en Río Lagartos,  $4.09 \pm 0.13^b \mu\text{mol g}^{-1}$  en Las coloradas y  $3.29 \pm 0.27^c \mu\text{mol g}^{-1}$  en El Cuyo, con diferencias significativas entre las tres zonas de muestreo. Se observó una disminución en la concentración de fósforo que se relaciona de forma inversa con el gradiente de salinidad, lo cual es característico del estero [219], donde el gradiente de concentración de fósforo reportado decrece desde casi  $9 \mu\text{mol g}^{-1}$  en la zona de San Felipe, localizada en la parte oeste de la laguna, hasta poco más de  $1 \mu\text{mol g}^{-1}$  en El Cuyo, que se encuentra en la parte este.

Por otra parte, se encontró que el suelo de Las Coloradas es más arenoso, en comparación con el de Río Lagartos, que fue significativamente más limoso. De forma interesante, no se encontraron diferencias para el contenido de arcilla (Tabla 3.8). Los valores encontrados se encuentran dentro de los valores normales reportados en la literatura [219, 230], siendo la arena el componente de mayor concentración (alrededor del 60 y 70%, con la diferencia de que en este trabajo, la cantidad de limo fue superior a la de arcilla en comparación con las lagunas salares vecinas del Mar Caribe [230]. Con respecto al perfil de sólidos, no se encontraron diferencias entre el contenido de humedad y sólidos totales en Río Lagartos y Las Coloradas. Sin embargo, la fracción de sólidos volátiles en el sedimento de Las Coloradas fue significativamente menor en comparación con Río Lagartos (Tabla 3.8).

En cuanto a la caracterización de agua, no se encontraron diferencias en la concentración de nitratos entre Río Lagartos ( $2.14 \pm 0.43^a$   $\mu\text{M}$ ) y Las Coloradas ( $6.60 \pm 8.46^a$   $\mu\text{M}$ ), mientras que la concentración en El Cuyo fue significativamente mayor ( $32.50 \pm 10.45^b$ ). Con respecto a la concentración de nitritos, se encontraron diferencias significativas entre las tres zonas de muestreo, las cuales fueron de  $0.07 \pm 0.01^a$   $\mu\text{M}$ ,  $0.22 \pm 0.03^b$   $\mu\text{M}$  y  $1.42 \pm 0.09^c$   $\mu\text{M}$ , en Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo. La concentración de nitratos y nitritos en Río Lagartos suele ser menor a 1  $\mu\text{M}$ , sin embargo, en zonas con manantiales e infiltraciones subterráneas, se han reportado concentraciones de entre 7  $\mu\text{M}$  y 70  $\mu\text{M}$  [219], lo cual corresponde con los resultados aquí encontrados. Las concentraciones de nitrógeno amoniacal en las tres zonas coinciden con los valores reportados en la literatura [219], que fueron de  $1.03 \pm 0.26^a$   $\mu\text{M}$ ,  $2.13 \pm 0.37^a$   $\mu\text{M}$  y  $8.05 \pm 1.59^b$   $\mu\text{M}$ , siendo la última (El Cuyo) significativamente mayor. En cuanto al nitrógeno total, la concentración hallada en el agua fue de  $15.30 \pm 8.86^a$   $\mu\text{M}$  en Río Lagartos,  $107.73 \pm 15.77^b$   $\mu\text{M}$  en Las Coloradas y de  $297.22 \pm 38.59^c$   $\mu\text{M}$  en El Cuyo, con diferencias estadísticas entre las tres zonas que comprende este estudio. Estos valores son similares a los reportados por Valdés-Lozano y colaboradores [219], donde hacia la zona este de la laguna se encontraron concentraciones superiores a 200  $\mu\text{M}$ , las cuales contrastan con las concentraciones más modestas hacia Río Lagartos y San Felipe [219]. De forma general, se puede observar que existe un gradiente en la concentración de especies nitrogenadas en el agua, el cual se correlaciona de forma directa con el gradiente de salinidad del

estero, es decir, aumenta gradualmente desde la parte oeste (Río Lagartos) hasta la parte este (El Cuyo) [219].

Cabe destacar que existe gran diferencia entre la concentración de nitrógeno total y nitrógeno inorgánico. A pesar de que este comportamiento es inusual, resultados similares fueron anteriormente reportados en Ría Lagartos [219]. La diferencia entre la sumatoria de nitratos, nitritos y amonio, y el nitrógeno total, fue de  $12.05 \pm 8.50^a$ ,  $98.78 \pm 7.55^b$   $\mu\text{M}$  y  $255.25 \pm 27.28^c$  en Río Lagartos, Las Coloradas y El Cuyo, respectivamente, fue similar a lo ya reportado en la literatura [219]. Dicha diferencia se explica con la presencia de urea o proteínas en solución. Como se discutió en la introducción, las escorrentías subterráneas representan un aporte importante de nutrientes al estero, así como de contaminantes que provienen de la zona ganadera ubicada tierra adentro [164]; esto, aunado a la actividad de los asentamientos urbanos aledaños [172] y la presencia de peces y otros animales en el estero [175] podría explicar la presencia de urea, en especial en la zona de Río Lagartos. Por otro lado, diversos trabajos realizados en la zona de Las Coloradas han demostrado que el nivel de salinidad favorece la proliferación de microorganismos con capacidad de secretar proteínas extracelulares [159, 173], cuya presencia podría explicar las elevadas concentraciones de nitrógeno total encontradas en la zona.

Con respecto a la concentración de sulfatos, se encontraron diferencias marginales entre las tres zonas de muestreo; la concentración fue menor en Río Lagartos ( $20.17 \pm 1.46^a$  mM), seguida de Las Coloradas ( $31.60 \pm 3.35^b$  mM) y El Cuyo ( $46.50 \pm 8.85^c$  mM). La concentración promedio de sulfatos en el estero fue de  $32.76 \pm 13.20$  mM. De igual forma que con las especies nitrogenadas existe un gradiente en la concentración de sulfatos el cual incrementa desde la parte oeste hacia la parte este. Esto es de esperarse ya que la concentración de sulfatos se correlaciona directamente con la salinidad [220].

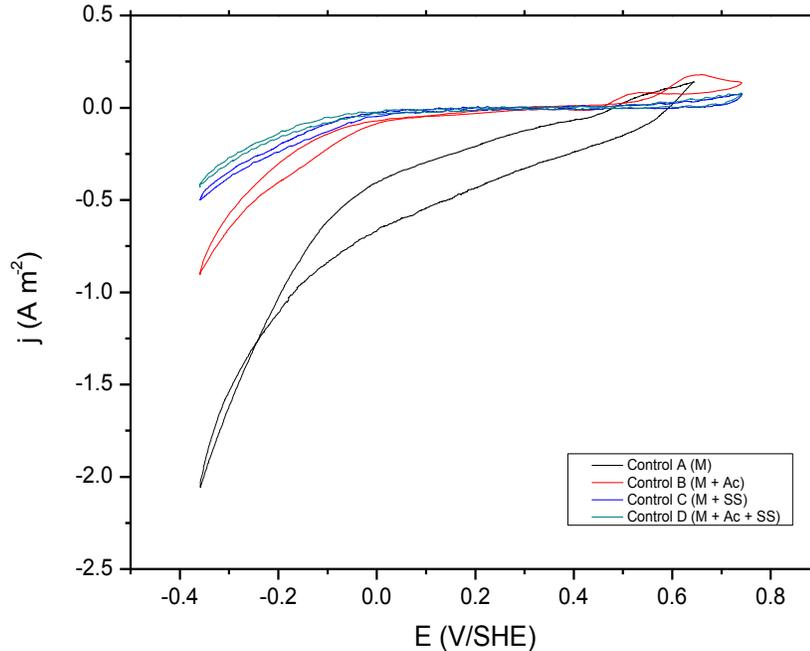
Se observó un comportamiento similar para la concentración de fosfatos, ya que se obtuvieron valores significativamente más elevados en la porción este del estero (El Cuyo,  $0.66 \pm 0.11^b$   $\mu\text{M}$ ) en comparación con la zona oeste (Río Lagartos,  $0.30 \pm 0.03^a$   $\mu\text{M}$ ); la zona central (Las Coloradas,  $0.50 \pm 0.14^{ab}$   $\mu\text{M}$ ), presentó una concentración intermedia, sin diferencias significativas en comparación con El Cuyo y Río Lagartos. Estas concentraciones se asemejan a las ya reportadas ( $0 - 1.4$   $\mu\text{M}$ ), y se correlacionan directamente con el gradiente de salinidad [219]. En cuanto al fósforo total, no se

encontraron diferencias estadísticas entre las tres zonas de muestreo, que presentaron concentraciones promedio de  $0.55 \pm 0.34^a$   $\mu\text{M}$  en Río Lagartos,  $1.10 \pm 0.46^a$   $\mu\text{M}$  en Las Coloradas y  $1.38 \pm 0.33^a$  en El Cuyo. Con respecto a la concentración de silicatos, se observó la misma tendencia, con valores significativamente más elevados en El Cuyo, seguido de Las Coloradas  $47.65 \pm 2.96^b$   $\mu\text{M}$  y  $21.55 \pm 1.06^a$   $\mu\text{M}$  Río Lagartos. Las altas concentraciones de silicatos se deben a las aportaciones de manantiales y escorrentías subterráneas que suelen tener concentraciones de silicatos de entre 43 y 145  $\mu\text{M}$ , además de que su concentración se correlaciona positivamente con la salinidad [219].

Los resultados discutidos anteriormente ponen de manifiesto que existe una tendencia hacia la acumulación de sales, nutrientes y materia orgánica hacia la porción este del estero, debido a las mayores tasas de evaporación y a la ausencia de canales de comunicación con el mar, esto aunado a los aportes de manantiales y escorrentías subterráneas hacia la parte interna del estero Ría Lagartos [219].

### 3.1.3. Caracterización electroquímica del sistema en condiciones abióticas

Inicialmente se caracterizó el sistema en condiciones abióticas para observar la contribución del electrolito, la fuente de carbono y el sedimento sin actividad biológica. Los voltamogramas se muestran en la Figura 3.1. Como ahí se observa, se encontraron corrientes oxidantes por debajo de los  $0.25 \text{ A m}^{-2}$  para los cuatro controles (A, B, C y D) hacia los potenciales correspondientes a la evolución de oxígeno. Al agregar acetato al sedimento (control B) se observó un segundo pico de oxidación ( $+0.55 \text{ V/EEH}$ ), el cual desaparece al agregar sedimento biológicamente inactivo al sistema (control D). En cuanto a la corriente reductora, se observó un incremento pronunciado por debajo de los  $0.000 \text{ V/EEH}$ , lo que presumiblemente corresponde a la evolución de hidrógeno, de acuerdo a la forma característica del voltamograma y a los potenciales a los cuales se observa el pico [98-100]. Dicha corriente fue mayor para el control A (hasta  $-2 \text{ A m}^{-2}$ ) y fue decreciendo conforme se agregaron elementos al sistema, alcanzando cerca de  $-1 \text{ A m}^{-2}$  en el control B,  $-0.5 \text{ A m}^{-2}$  en el control C y  $-0.4 \text{ A m}^{-2}$  en el control D. En este último control, la aparición de corriente reductora se hizo notoria apenas empezó el barrido hacia el potencial negativo, efecto que se observó aparentemente al interaccionar el sedimento con el acetato.

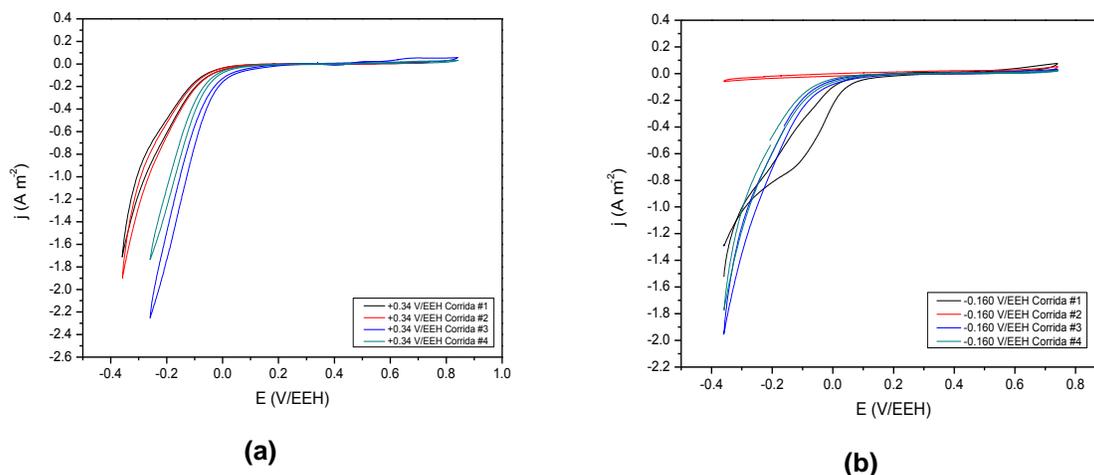


**Figura 3.1.** Voltamperometrías cíclicas ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) de los controles abióticos del sistema. Control A (M): medio de cultivo. Control B (M + Ac): medio de cultivo y acetato de sodio 40 mM. Control C (M + SS): medio de cultivo y sedimento estéril 15% v/v. Control D (M + Ac + SS): medio de cultivo, acetato de sodio 40 mM y sedimento estéril 15% v/v.

#### 3.1.4. Caracterización del estado inicial del sistema

Recién realizada la inoculación de las celdas, se realizó una voltamperometría cíclica para saber si el sedimento con actividad biológica puede realizar una contribución a la producción de corriente anódica en su estado natural. Los resultados se presentan en la Figura 3.2, donde se observa que la respuesta de corriente en condiciones bióticas fue muy similar a la respuesta en condiciones abióticas (Control D), cuando se empleó sedimento inactivado por esterilización. Como se observa en las Figuras 3.1 y 3.2, la adición del sedimento, ya sea activo o inactivo biológicamente, provoca que la evolución de hidrógeno se dé a potenciales más positivos. Esto puede explicarse debido a que los sedimentos son ricos en óxidos metálicos [232, 233], que pueden catalizar dicha evolución [234, 235]. Adicionalmente, los grupos funcionales localizados en la pared celular de los microorganismos [9] podrían tener efectos catalíticos. La densidad de

corriente encontrada fue menor a los  $0.100 \text{ A m}^{-2}$  para las ocho réplicas, y la corriente de reducción correspondiente a la evolución de hidrógeno se hizo notoria al disminuir el potencial por debajo de  $-0.200 \text{ V/EEH}$ .



**Figura 3.2.** Voltamperometrías cíclicas ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizadas en el día 1, después de inocular el sistema y antes de empezar la polarización por cronoamperometría a (a)  $+0.340 \text{ V/EEH}$  y (b)  $-0.160 \text{ V/EEH}$ .

### 3.1.5. Establecimiento de biopelículas por cronoamperometría

Los resultados obtenidos para la polarización por cronoamperometría para los ocho bioánodos se presentan en la Figura 3.3. Las fases de adaptación de las ocho corridas tuvo una duración normal (de hasta 5 días), de acuerdo con el tiempo estándar de adaptación de bacterias [104, 236]. La producción de corriente se observó primero en los bioánodos polarizados a  $-0.160 \text{ V/EEH}$ , alrededor del día 2 o 3 (excepto para la corrida #4, que presentó una fase de adaptación de 5 días), en comparación con los bioánodos polarizados a  $+0.340 \text{ V/EEH}$ , donde la producción de corriente en las cuatro corridas se hizo notoria hasta transcurridos 5 días de polarización. Lo anterior sugiere que la comunidad electroactiva se desarrolló más rápido cuando se polarizó negativamente con respecto a un EEH, ya que se encontraron diferencias significativas en la densidad de corriente mediante el análisis de varianza, al comparar las corridas de ambos potenciales. Esto concuerda con lo reportado por Torres *et al.* [209], donde la producción de corriente

se observa primero cuando el bioánodo se polariza a potenciales negativos en comparación con potenciales positivos, al emplear sedimentos marinos como fuente de microorganismos. Sin embargo, el resultado aquí observado difiere de otros reportes donde los potenciales positivos promovieron una rápida producción de corriente en contraste con los potenciales negativos en cultivos axénicos de *Shewanella oneidensis* [237] y una comunidad microbiana mixta proveniente de aguas residuales domésticas [238]. Interesantemente, en este trabajo y en los reportes anteriormente citados, la densidad de corriente alcanzada en estado estacionario fue muy similar a pesar de aplicar potenciales distintos, sin importar si la duración de la fase de adaptación fue diferente entre tratamientos. Debido a que la densidad de corriente encontrada dentro de los primeros dos días de polarización a  $-0.160$  V/EEH, y dentro de los primeros 5 días para la polarización a  $+0.340$  V/EEH fue menor a  $0.1 \text{ A m}^{-2}$ , se puede inferir que la comunidad microbiana contenida en el sedimento original no tiene la capacidad para entregar electrones al electrodo de manera inmediata, por lo que la selección y crecimiento de microorganismos electroactivos sobre la superficie del electrodo, y/o la producción de mediadores redox en la fracción líquida durante la fase de adaptación fue necesaria para producir corriente en el sistema [239].

Después de 10 días de polarización, y hasta el final del experimento, la densidad de corriente promedio de las cuatro corridas no presentó diferencias significativas para los potenciales aplicados, sin embargo, es importante destacar que la desviación estándar observada fue grande para ambos tratamientos, lo que se debe a la naturaleza heterogénea en la composición química y biológica del sedimento [27, 29]. Durante el periodo mencionado, la densidad de corriente promedio fue de  $1.09 \pm 0.59^a$  y  $1.06 \pm 0.61^a$  para la polarización a  $+0.340$  V/EEH y  $-0.160$  V/EEH, respectivamente. La densidad de corriente máxima encontrada fue de  $2.56 \text{ A m}^{-2}$  a  $+0.340$  V/EEH en la corrida #1 y de  $2.64 \text{ A m}^{-2}$  a  $-0.160$  en la corrida #4 (Tabla 3.9). No se encontraron diferencias significativas para la densidad de corriente máxima entre tratamientos. De igual forma, no se observaron diferencias significativas para la cantidad de carga producida durante los 21 días de polarización entre los potenciales aplicados, que fue de  $346.25 \pm 130.94^a$  C y de  $476.44 \pm 300.74^a$  C, para las polarizaciones a  $+0.340$  V/EEH y  $-0.160$  V/EEH, respectivamente. Esto es consistente con lo reportado por Zhu *et al.* [240], que encontraron que aunque cada unidad experimental mostró diferencias en la densidad de corriente, al final, la cantidad de coulombs entregada por cada bioánodo a lo largo del experimento fue la misma, sin importar el potencial aplicado durante el desarrollo de las

biopelículas electroactivas. Sin embargo, la cantidad de coulombs aportada por los bioánodos polarizados a  $-0.160$  V/EEH pudo ser mayor, debido a que la biopelícula microbiana suele comportarse como un capacitor, y puede acumular mayor cantidad de carga cuando se le polariza a potenciales inferiores [241].

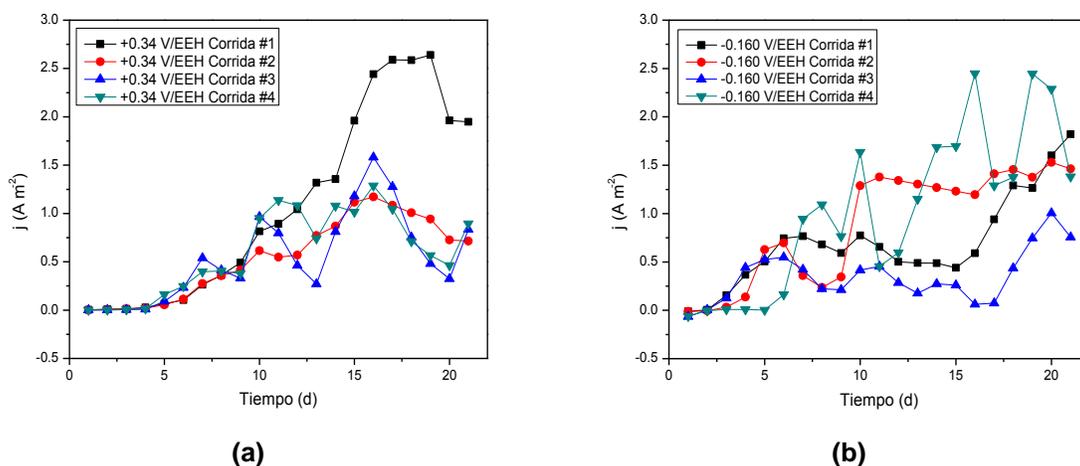


Figura 3.3. Polarización por cronoamperometría (a)  $+0.340$  V/EEH y (b)  $-0.160$  V/EEH.

Tabla 3.9. Densidad máxima de corriente obtenida por cronoamperometría a  $+0.340$  V/EEH y  $-0.160$  V/EEH.

Potencial de polarización	Densidad de corriente máxima ( $A m^{-2}$ )				
	Corrida #1	Corrida #2	Corrida #3	Corrida #4	Promedio
$+0.34$ V/SHE	2.64 (día 19)	1.17 (día 16)	1.58 (día 16)	1.29 (día 16)	$1.67 \pm 0.67^a$
$-0.16$ V/SHE	1.82 (día 21)	1.53 (día 20)	1.07 (día 20)	2.45 (día 16)	$1.72 \pm 0.58^a$

Por otro lado, el potencial a circuito abierto encontrado cuando se polarizó negativamente presentó mayor variación ( $-0.243$  V/EEH,  $-0.246$  V/EEH,  $-0.273$  V/EEH y  $-0.292$  V/EEH para las corridas #1, #2, #3 y #4, respectivamente) en comparación con el potencial positivo ( $-0.287$  V/EEH,  $-0.292$  V/EEH,  $-0.275$  V/EEH y  $-0.294$  V/EEH para las corridas #1, #2, #3 y #4, respectivamente). Los valores promedio registrados fueron de  $-0.264 \pm 0.023^a$  V/EEH y de  $-0.287 \pm 0.008^a$  V/EEH para el potencial de  $+0.340$  V/EEH y

-0.160 V/EEH, sin presentar diferencias significativas entre sí. Los resultados observados indican que el potencial a circuito abierto se encuentra gobernado por la fuente de carbono, acetato en este caso, el cual tiene un potencial de reducción estándar de -0.298 V/EEH ( $\text{pH} = 7$ ,  $50 \text{ mM CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 7\text{H}^+ + 8\text{e}^-$ ) [187], coincidiendo con lo reportado por TerHeijne *et al.*, [4]. En cuanto a la densidad de potencia, los valores máximos se observaron a los 19 y 16 días de polarización a +0.340 V/EEH y -0.160 V/EEH, los cuales fueron de  $1.39 \text{ W m}^{-2}$  (corrida #1) y  $1.27 \text{ W m}^{-2}$  (corrida #4), respectivamente (Tabla 3.10).

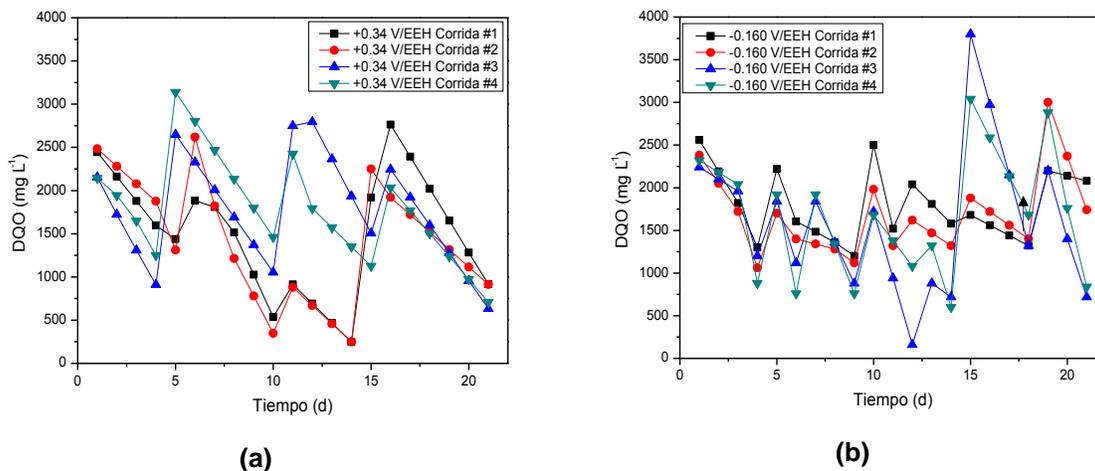
**Tabla 3.10. Densidad de potencia máxima obtenida por cronoamperometría a +0.34 V/SHE y -0.16 V/SHE.**

Potencial de polarización	Densidad de potencia máxima ( $\text{W m}^{-2}$ )				
	Corrida #1	Corrida #2	Corrida #3	Corrida #4	Promedio
+0.34 V/SHE	1.39 (día 19)	0.62 (día 16)	0.77 (día 16)	0.64 (día 16)	$0.85 \pm 0.36^a$
-0.16 V/SHE	0.88 (día 21)	0.77 (día 20)	0.55 (día 20)	1.27 (día 16)	$0.88 \pm 0.30^a$

La eficiencia coulombica alcanzada al final del experimento presentó valores entre 7 y 16% para el potencial positivo y entre 4 y 10% para el potencial negativo. Los valores promedio alcanzados fueron de  $9.06 \pm 2.22^a$  a -0.160 V/EEH y de  $10.56 \pm 4.41^b\%$  a +0.340 V/EEH, pero sin diferencias significativas. La eficiencia coulombica encontrada en las corridas individuales de este trabajo fueron de 16.01%, 11.69%, 6.76% y 7.78% para las corridas #1, #2, #3 y #4, respectivamente, al emplear el potencial de polarización positivo (+0.340 V/EEH), y de 10.02%, 8.22%, 4.04% y 7.19% para las corridas #1, #2, #3 y #4, respectivamente al emplear el potencial de polarización negativo (-0.160 V/EEH). Estos valores son similares a los reportados por Rousseau *et al.*, [27] (entre 2 y 25%), quienes utilizaron condiciones muy similares a las aquí reportadas (materiales de electrodos, fuente de carbono, composición del electrolito y conductividad), incluyendo el uso de sedimentos de un marisma salino como inóculo. Sin embargo, la eficiencia coulombica de este tipo de inóculo es menor en comparación con lo reportado en celdas de combustible microbianas que emplean aguas residuales domésticas como tal. Este es

el caso del trabajo reportado por Lefebvre *et al* [23, 24]., y Liu *et al* [111]., quienes reportan eficiencias coulombicas de entre un 20 y 60% con dichos inóculos y concentraciones de NaCl entre los 5 y 40 g L<sup>-1</sup> [23, 24, 111]. Si bien Lefebvre *et al.* [24] reportaron mayores eficiencias coulombicas (34, 28 y 22% empleando 10, 20 y 40 g L<sup>-1</sup> de NaCl, respectivamente) al utilizar inóculos de agua dulce, la densidad de corriente máxima obtenida fue de alrededor de 0.97 A m<sup>-2</sup> por curva de polarización; dicho valor es 5 veces menor en comparación con la densidad de corriente promedio encontrada por voltamperometría en este trabajo (ver apartado 3.1.7), que fue de 5.27 ± 3.38<sup>a</sup> para el potencial positivo y de 4.99 ± 1.60<sup>a</sup> A m<sup>-2</sup> para el potencial negativo, mientras que la máxima fue de 10.12 A m<sup>-2</sup> y 6.91 A m<sup>-2</sup> para dichos potenciales. La mayor densidad de corriente encontrada en este trabajo en comparación con el trabajo de Lefebvre y colaboradores [24] se debe a que la concentración de NaCl en el electrolito aquí empleado fue superior (50 g L<sup>-1</sup>) [27]. Por otro lado, Liu *et al.* [111] reportan una densidad de corriente máxima de 4.4 A m<sup>-2</sup>, valor inferior a las densidades de corriente máxima obtenidas por voltamperometría en este trabajo. Dichos autores reportan sistemas de alimentación continua, mientras que en este trabajo se operó por lotes.

La remoción de DQO alcanzada durante el último lote de alimentación (Figura 3.4.) fue mayor cuando los bioánodos se sometieron a la polarización a +0.340 V/EEH, registrándose entre un 55 y 74%, en comparación a los sometidos a -0.160 V/EEH, que presentaron porcentajes de remoción de DQO entre 36 y 56%. El porcentaje de remoción de DQO promedio fue de 66.12 ± 8.03<sup>a</sup>% y 46.66 ± 9.10<sup>b</sup>% en el día 21, respectivamente, con diferencias significativas entre sí. La mayor remoción de DQO alcanzada por los bioánodos desarrollados a +0.340 V/EEH pudo ser provocada por una comunidad microbiana más diversa, ya que dicho potencial de polarización permite el desarrollo de bioánodos con mayor riqueza bacteriana en comparación con los potenciales negativos [209, 242], facilitando la presencia de especies que empleen aceptores finales de electrones distintos del electrodo, tales como sulfatos u oxígeno [209, 243-245].



**Figura 3.4.** Concentración de la demanda química de oxígeno registrada en el electrolito durante los 21 días de cronoamperometría a (a) +0.340 V/EEH y (b) -0.160 V/EEH.

Con respecto a la conductividad del electrolito, esta se mantuvo entre los 63 y 74  $\text{mS cm}^{-1}$  durante todo el experimento. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo por debajo de los  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  en todas las corridas, mientras que el pH registrado estuvo entre las 7.2 y 8.2 unidades. Se observó que el sistema presenta una buena capacidad buffer, ya que el pH decreció ligeramente después de cada adición de acetato al sistema, pero este se restableció en menos de 24 h a valores ligeramente alcalinos (alrededor de 7.8), antes de que se detectara el consumo del acetato adicionado. Esto se explica debido al gran volumen de inóculo empleado (15% v/v) y la alta concentración de carbonato presente en el sedimento, característica típica del sitio de colecta de los sedimentos debido a la naturaleza calcárea del suelo [238].

Las tendencias observadas en las cronoamperometrías durante todo el experimento, así como las densidades de corriente alcanzadas fueron similares a lo reportado por Domínguez-Benetton *et al.*, [246], quienes evaluaron una biopelícula marina soportado sobre fieltro de carbón ( $25 \text{ cm}^2$  de área geométrica) en una celda de tres electrodos con polarización a +0.340 V/EEH y empleando agua de mar sintética con una conductividad de  $49 \text{ mS cm}^{-1}$ . Al igual que en este estudio, la corriente promedio alcanzada fue de 1 a  $2 \text{ A m}^{-2}$ . Sin embargo, los picos máximos de corriente fueron superiores (hasta  $3.5 \text{ A m}^{-2}$ ) a los obtenidos en este trabajo, a pesar de que la conductividad aquí empleada fue 1.4 veces superior ( $67.12 \pm 2.84 \text{ mS cm}^{-1}$ ). El mismo

inóculo reportado por Domínguez–Benetton *et al.*, [246] fue previamente evaluado por Erable y Bergel [247], donde se reportaron hasta  $4 \text{ A m}^{-2}$  por oxidación de acetato (10 mM) a  $+0.140 \text{ V/EEH}$ , al emplear tela de carbón como electrodo de trabajo. Sin embargo, densidades de corriente más modestas fueron observadas en las réplicas (máx. 1.1, 1.2, 2.2 y  $3.1 \text{ A m}^{-2}$ ), mostrando variabilidad amplia, al igual que en el presente reporte. Cabe destacar que dichas densidades de corriente fueron normalizadas con respecto al área catódica, que fue de 0.8 veces el área anódica. Valores superiores fueron reportados por Erable y Bergel [247] cuando el material del electrodo de trabajo fue sustituido por un disco de grafito ( $5.9 \text{ A m}^{-2}$ ) o una malla de acero inoxidable ( $8.2 \text{ A m}^{-2}$ ), indicando que a pesar de la alta variabilidad entre réplicas, el material del colector seleccionado es crucial para mejorar las corrientes de salida. A pesar de que las densidades de corriente máxima encontradas aquí fueron menores a las reportadas en el trabajo citado, la tendencia observada durante la cronoamperometría fue muy similar. Debido a lo anterior, resultaría interesante evaluar si la densidad de corriente aumenta si se sustituyera el fieltro de carbón por acero inoxidable, tal y como reportan Erable y Bergel [247], ya que la comunidad microbiana empleada en este trabajo parece comportarse de forma muy similar a la comunidad microbiana reportada por dichos autores.

Por otro lado, Rousseau *et al.* [27], emplearon sedimentos de un marisma salino ( $76 - 123 \text{ mS cm}^{-1}$ ) como inóculo, en un arreglo de tres electrodos empleando fieltro de carbón como material de soporte ( $2 \text{ cm}^2$ ) con polarización a  $+0.340 \text{ V/EEH}$ . A pesar de que el tipo de inóculo, la configuración de la celda, el potencial de polarización, los materiales y el electrolito aquí empleados fueron prácticamente idénticos, la densidad máxima de corriente fue menos significativa ( $2.64 \text{ A m}^{-2}$ ) en comparación con los 16.000, 50 y  $65 \text{ A m}^{-2}$  reportados por Rousseau *et al.*, [27]. Esto se explica debido a que la proporción entre el volumen del electrolito y el área del electrodo de trabajo fue nueve veces mayor en el reporte citado, ya que dichas condiciones evitan el agotamiento del acetato en las inmediaciones de la superficie electroquímicamente activa. Es importante notar que las elevadas densidades de corriente reportadas por Rousseau *et al.*, [27] no fueron del todo reproducibles en un trabajo posterior [30], conducido bajo diversos potenciales de polarización; a pesar de que la conductividad empleada fue mayor ( $104 \text{ mS cm}^{-1}$ ) y de que se conservó la relación del área del electrodo de trabajo con respecto al volumen del electrolito. Dichas densidades de corriente máximas fueron de 1, 2, 2.500, 5 y  $8 \text{ A m}^{-2}$  para una polarización a  $-0.160 \text{ V/EEH}$ ; 5, 7, 8, 12 y  $31 \text{ A m}^{-2}$  para una polarización a  $+0.340 \text{ V/EEH}$ ; además de 7, 8, 24, 26 y  $39 \text{ A m}^{-2}$  a  $+0.440 \text{ V/EEH}$ . Estos

valores fueron mucho más modestos que los reportados anteriormente [27] y más similares a los reportados en este trabajo.

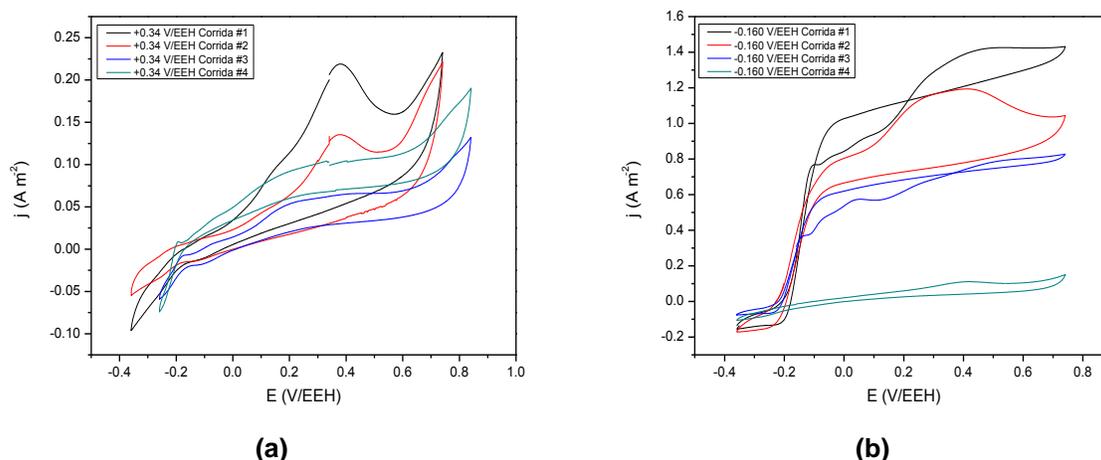
De acuerdo con la literatura [27-30], la alta variabilidad observada entre réplicas se debe a las grandes cantidades de inóculo empleadas es de esperarse, ya que existe una heterogeneidad en la composición química que es inherente a los sedimentos [248]. Esto ocasiona una variabilidad en las especies químicas y su concentración en el sedimento inoculado en cada celda. El sulfato es un ion común en los sedimentos marinos y lagunares halinos el cual contribuye a la actividad reductora de sulfato y la producción de sulfuro en el sistema [219], lo cual impacta directamente sobre la producción de corriente [249]. De igual manera, las bajas y variables eficiencias coulombicas observadas en este trabajo presentan concordancia con otros reportes donde se emplean sedimentos provenientes de marismas salinos como inóculo en grandes proporciones [27, 30], las cuales pueden explicarse por la variabilidad en la actividad reductora de sulfato en las réplicas, ya que 6 de 8 electrones empleados para la reducción del sulfato hasta sulfuro por vía microbiológica son desperdiciados, puesto que la oxidación electroquímica del sulfuro rinde solo dos electrones por mol de acetato en vez de los 8 electrones por mol de acetato entregados por conversión exoelectrogénica directa [137, 150, 239]. Debido a esto, la relación entre la eficiencia coulombica, la concentración de sulfatos y la actividad reductora de los mismos por vía microbiológica debe ser abordada en trabajos futuros si se emplean grandes cantidades de inóculo. Adicionalmente, el hierro, que es un aceptor de electrones sólido de la cadena respiratoria de diversas bacterias exoelectrogénicas como *Geobacteraceae* [137], es también común en los sedimentos marinos y lagunares [46, 50], el cuál puede competir con la entrega de electrones al ánodo por parte de las bacterias exoelectrógenas en el sistema, lo cual explicaría también las bajas eficiencias coulombicas aquí reportadas, así como en la variabilidad observada en la eficiencia coulombica y la densidad de corriente entre réplicas.

En un trabajo similar, Doyle *et al.* [250] emplearon sedimentos provenientes de un sistema hídrico artificial con altas concentraciones salinas ( $100 - 750 \text{ mS cm}^{-1}$ ) para el desarrollo de bioánodos a potenciales de polarización de  $+0.400$  y  $+0.600 \text{ V/EEH}$ , produciendo una densidad de corriente máxima de  $5.200$  y  $4.800 \text{ A m}^{-2}$ , respectivamente. Estos valores fueron menores a los reportados por Rousseau *et al.*, [27] y más similares a los encontrados en este trabajo. Dicha diferencia podría explicarse a que especies del tipo *Geobacter* (características de agua dulce) dominaron en el bioánodo reportado por Doyle

*et al.* [51], mientras que Rousseau *et al.*, [27-30] obtuvieron bioánodos dominados por *Desulfuromonas* spp. y *Marinobacter* spp., donde las primeras son encontradas con mayor frecuencia cuando se emplean inóculos de ambientes marinos, mientras que las segundas fueron reportadas por primera vez en un SEM. Por consiguiente, para poder entender mejor la variabilidad entre réplicas al emplear grandes cantidades de inóculo, es necesario soportar los estudios mediante la caracterización de la comunidad microbiana que predomina en los sistemas electroquímicos mediante el gen RNAr 16S.

### 3.1.6. Monitoreo del desarrollo de la biopelícula por voltamperometría cíclica

Después de 5 días de polarización, se realizó una segunda voltamperometría al sistema, cuyos resultados se muestran en la Figura 3.5. Los resultados difieren de los resultados obtenidos en el día 1 (Figura 3.1), lo cual era de esperarse ya que a los 5 días de polarización ya se registraba corriente de respuesta en la cronoamperometría (Figura 3.2). Las corrientes oxidativas fueron mayores para los bioánodos polarizados a  $-0.160$  V/EEH, lo que concuerda con lo observado en la cronoamperometría, donde la fase de adaptación fue menor en comparación con el potencial positivo ( $+0.340$  V/EEH). Interesantemente, los bioánodos polarizados a  $-0.160$  V/EEH presentaron una respuesta más rápida y mucho mayor durante el barrido oxidativo desde los  $-0.200$  a los  $0.000$  V/EEH, excepto para la corrida #4, llegando cerca de los valores máximos de corriente dentro de dicho intervalo de potencial, mientras que los bioánodos polarizados a  $+0.340$  V/EEH presentaron un incremento más pronunciado al realizar el barrido hacia potenciales mayores a  $0.000$  V/EEH.

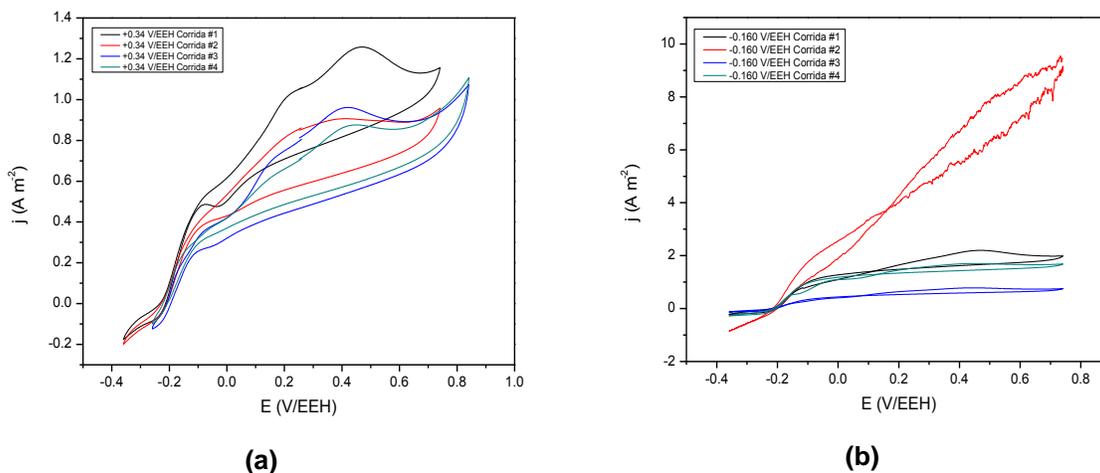


**Figura 3.5.** Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 5 días de polarización por cronoamperometría a (a)  $+0.340 \text{ V/EEH}$  y (b)  $-0.160 \text{ V/EEH}$ .

Se encontró un pico oxidativo importante a  $+0.400 \text{ V/EEH}$  en las corridas #1 y #2 polarizadas a  $+0.340 \text{ V/EEH}$ , y para la #1, #2 y la #4 polarizadas a  $-0.160 \text{ V/EEH}$ . Los cuatro bioánodos polarizados positivamente mostraron un pico de oxidación cerca de los  $+0.200 \text{ V/EEH}$ , el cuál no fue notorio para los bioánodos polarizados negativamente, excepto para la corrida #3. En contraste, los bioánodos polarizados negativamente mostraron un poco de oxidación marcado a potenciales negativos (Figura 3.5b), alrededor de los  $-0.100 \text{ V/EEH}$ , el cuál apenas logra distinguirse en los bioánodos polarizados a potenciales positivos (Figura 3.5a). Cabe destacar que este último grupo presenta dos picos de oxidación durante el barrido oxidante a potenciales menores a cero, uno a  $-0.200 \text{ V/EEH}$  y el otro, ya mencionado, a  $-0.100 \text{ V/EEH}$ . Sin embargo, los valores de corriente para dichos picos son menores en comparación con los valores de corriente obtenidos a  $-0.100 \text{ V/EEH}$  con los bioánodos desarrollados por polarización a  $-0.160 \text{ V/EEH}$ . Si bien es complicado identificar las especies redox que generan los picos de oxidación y reducción debido a la heterogeneidad en la composición química y microbiológica del sedimento [29, 30], los picos de oxidación encontrados para los bioánodos polarizados negativamente (Figura 3.5b) a potenciales reductores son de esperarse. Se piensa que al emplearse un potencial de polarización menor ( $-0.160 \text{ V/EEH}$ ), se restringe la capacidad para completar la cadena respiratoria (cadena de transporte de electrones) de los microorganismos [209], lo que favorece la proliferación y translocación de los citocromos c a la membrana externa en *Geobacter* sp., los cuales

actúan como reservorio de electrones en ausencia de un aceptor final de electrones en la cadena de transporte [251], y que, al aplicar el barrido de potencial durante una voltamperometría cíclica, pueden generar los mencionados picos de oxidación a bajos potenciales, en un rango de 0.300 V alrededor de los  $-0.200$  V/EEH [251, 252]. En contraste, los bioánodos polarizados positivamente ( $+0.340$  V/EEH) permiten un mayor rango de reacciones de oxidación para completar la cadena respiratoria [209], de acuerdo a la torre de potenciales de la respiración microbiana y los diferentes aceptores de electrones presentes [104, 224, 253-255], por lo que la sobreexpresión y translocación de los citocromos no sería imperante para la proliferación de los microorganismos anódicos.

A los 10 días de polarización se realizó otra voltamperometría (Figura 3.6), donde las corrientes entregadas por los bioánodos polarizados a potencial positivo (Figura 3.6a) mostraron corrientes más similares a las mostradas por los bioánodos polarizados a potencial negativo (Figura 3.6b). Esto coincide con lo observado durante la cronoamperometría, donde a los 5 días los bioánodos polarizados con un potencial negativo presentaron mayor corriente de respuesta en comparación con los polarizados positivamente, pero a los 10 días de polarización la corriente entregada por los ocho bioánodos fue similar (entre los  $0.209$  y  $0.857$  A  $m^{-2}$ ). Esto confirma que el potencial de polarización a  $-0.160$  V/EEH conlleva a un menor periodo de adaptación en comparación con la polarización a  $+0.340$  V/EEH. En cuanto al pico de  $+0.400$  V/EEH observado en el día 5, este parece trasladarse a potenciales más positivos después de 10 días, apareciendo entre los  $+0.400$  V/EEH y  $+0.450$  V/EEH. Este fenómeno ya ha sido reportado en el pasado, donde se ha visto que el potencial medio de oxidación de acetato por voltamperometría aumenta con el envejecimiento de las biopelículas electroactivas polarizadas a un potencial fijo [256].



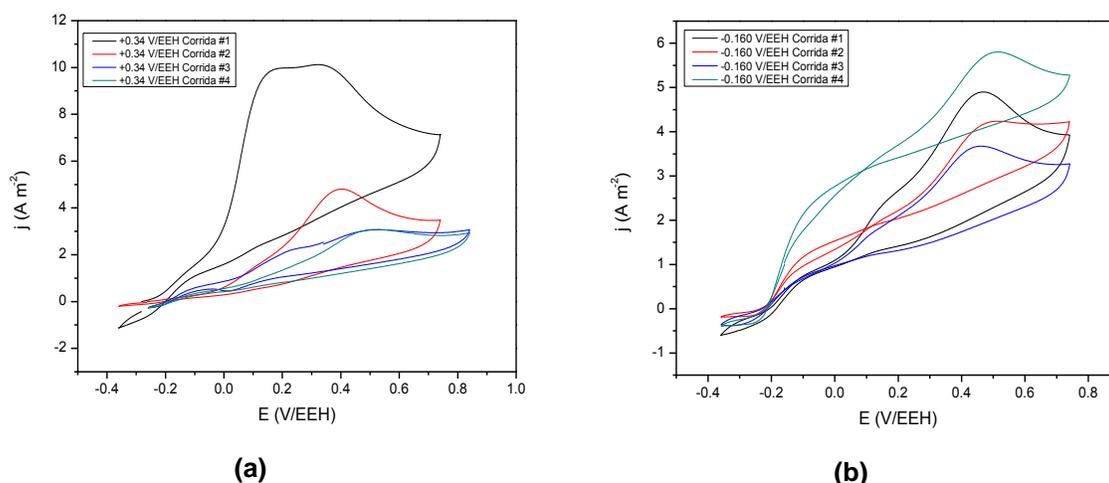
**Figura 3.6.** Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 10 días de polarización por cronoamperometría a (a)  $+0.340 \text{ V/EEH}$  y (b)  $-0.160 \text{ V/EEH}$ .

La corrida #3 polarizada a  $-0.160 \text{ V/EEH}$  mostró una respuesta de corriente anormal a partir de los  $+0.100 \text{ V/EEH}$ , debido a que el caimán empleado para realizar la conexión del electrodo de trabajo se encontraba corroído, probablemente por la alta concentración de sal empleada en el medio de cultivo ( $50 \text{ g L}^{-1}$ ) y a que debe de haberse humedecido por error al momento de tomar muestra de la celda correspondiente. El caimán se cambió ese mismo día (día 10) y se reanudó la polarización por cronoamperometría. Se evitó repetir la voltamperometría para no someter a las biopelículas a estrés. Dicho voltamograma no será tomado en cuenta para la discusión de resultados.

En el día 10 de la cronoamperometría, la respuesta de corriente oxidante a potenciales menores a cero se hizo más pronunciada en los bioánodos polarizados positivamente (Figura 3.6a), pero dicho incremento continuó siendo más pronunciado en los bioánodos polarizados negativamente (Figura 3.6b). Las densidades de corriente obtenidas se incrementaron con respecto a la voltamperometría realizada el día 5 (Figura 3.5), confirmando el desarrollo de comunidades electroactivas en los ocho experimentos [251]. En este punto, la respuesta de corriente fue variable y no se observaron diferencias regidas por el potencial aplicado por cronoamperometría, ya que todos los valores fueron similares, por debajo de  $2 \text{ A m}^{-2}$ .

Finalmente, se corrieron voltamperometrías transcurridos los 21 días de polarización por cronoamperometría, y los voltamogramas se muestran en la Figura 3.7. Como ahí se observa, las formas obtenidas en el día 10 prácticamente se conservaron, pero la densidad de corriente fue mayor, mostrando un aumento paulatino con el tiempo en los ocho experimentos, lo cual es una consecuencia del crecimiento de bacterias electroactivas sobre la superficie del electrodo [251, 257]. Al analizar las voltamperometrías realizadas en el tiempo, se aprecia como los picos de oxidación aumentan en cuanto a la densidad de corriente entregada conforme la biopelícula electroactiva del bioánodo madura, debido probablemente a la proliferación de los microorganismos y las proteínas relacionadas con la transferencia de electrones por unidad de área [251, 257, 258].

La corriente de respuesta a potenciales menores a cero continuó siendo mayor, y su aumento más pronunciado, en los cuatro bioánodos sometidos a la polarización de  $-0.160$  V/EEH, en comparación con aquellos polarizados a  $+0.340$  V/EEH, indicando que la polarización a potencial negativo propicia mejores propiedades cinéticas a potenciales menores a cero. En general, la densidad de corriente mostró una marcada variación entre réplicas, haciéndose más pronunciada con el tiempo, tal y como se observó en las diferentes densidades de corriente obtenidas por cronoamperometría (Figura 3.1). Sin embargo, todos los valores fueron similares sin importar el potencial de polarización aplicado durante el desarrollo de la comunidad electroactiva, a excepción de la corrida #1 de la polarización a  $+0.340$  V/EEH, que presentó una densidad de corriente máxima notablemente alta (poco más de  $10 \text{ A m}^{-2}$ ), en comparación con las demás corridas (aproximadamente.  $4.5$ ,  $2.5$  y  $2.5 \text{ A m}^{-2}$  en las corridas #2, #3 y #4 a  $+0.340$  V/EEH, y  $5.7$ ,  $4.8$ ,  $4.3$  y  $3.6 \text{ A m}^{-2}$  en las corridas #1, #2, #3 y #4 a  $-0.160$  V/EEH). Desde luego, la entrega de corriente en la corrida #1 (a  $+0.340$  V/EEH) no se puede atribuir al potencial de polarización aplicado por cronoamperometría.



**Figura 3.7.** Voltamperometría cíclica ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) realizada a los 21 días de polarización por cronoamperometría a (a)  $+0.340 \text{ V/EEH}$  y (b)  $-0.160 \text{ V/EEH}$ .

Por otro lado, el pico de oxidación entre  $+0.400 \text{ V/EEH}$  y  $+0.450 \text{ V/EEH}$  se encontró presente en los ocho bioánodos, independientemente del potencial de polarización aplicado por cronoamperometría. Picos oxidativos por voltamperometría a dichos potenciales han sido reportados previamente en *Pseudomonas aeruginosa* [259, 260]. El pico correspondiente a los  $+0.200 \text{ V/EEH}$  fue más marcado en todos los casos, pero en especial en los bioánodos polarizados positivamente ( $+0.340 \text{ V/EEH}$ ). En cuanto a los picos durante el barrido oxidante a potenciales menores a cero, todos los bioánodos presentaron un pico alrededor de los  $-0.120 \text{ V/EEH}$ , independientemente del potencial aplicado. Los picos de oxidación aquí encontrados difieren de los reportados por Marsilli y colaboradores [257] en electrodos colonizados con *Geobacter sulfurreducens*, donde un pico mayor apareció a  $-0.150 \text{ V/EEH}$  y dos picos menores en  $-0.220 \text{ V/EEH}$  y  $-0.020 \text{ V/EEH}$ , con una densidad de corriente máxima igual a  $6 \text{ A m}^{-2}$ . Los picos de oxidación reportados en este trabajo son más positivos que los encontrados en la literatura para las proteínas donadoras de electrones características de *G. sulfurreducens*, como es el caso del citocromo c periplasmático PpcA purificado ( $-0.170 \text{ V/EEH}$ ) o expresado en *E. coli* ( $-0.140 \text{ V/EEH}$ ), OmcB purificado ( $-0.199 \text{ V/EEH}$ ) y OmcZ purificado ( $-0.220 \text{ V/EEH}$ ) [54, 58]. Sin embargo, los picos de oxidación de la Figura 3.7 presentan similitud con los reportados por Torres y colaboradores [209], que estudiaron bioánodos polarizados negativamente a  $-0.150 \text{ V/EEH}$  y  $-0.090 \text{ V/EEH}$  y que presentaron picos de oxidación por voltamperometría a  $-0.100 \text{ V/EEH}$ , dominando *G. sulfurreducens*; así como bioánodos

polarizados positivamente (+0.020 V/EEH y +0.370 V/EEH), que presentaron picos de oxidación menores a -0.100 V/EEH y picos mayores a +0.180 V/EEH, con una mayor diversidad microbiana perteneciendo a los clados  $\gamma$ -proteobacteria y  $\delta$ -proteobacteria (*G. sulfurreducens*, *Pseudomonadales*), Actinobacteriales, Firmicutes, Clostridiales y Bacteriodetes, esto debido a que precisamente las polarizaciones a potenciales positivos permiten un mayor rango de reacciones para la respiración microbiana, favoreciendo la riqueza de especies [104, 209].

Por otro lado, cabe mencionar el comportamiento observado en la corriente reductora de las voltamperometrías obtenidas con los bioánodos polarizados negativamente (-0.160 V/EEH), la cual se cruza sobre la corriente oxidante, fenómeno no observado en los bioánodos polarizados positivamente (+0.340 V/EEH). Esto puede deberse a que, en los últimos (+0.340 V/EEH), se espera que exista una mayor diversidad microbiana [209], siendo más probable la proliferación de proteínas redox asociadas a diferentes mediadores solubles, como los sideróforos, especies de hierro, manganeso, nitrógeno y/o azufre, flavinas, picocianinas, quinolonas, etc. [126, 209, 242, 261, 262], los cuales son susceptibles de reducirse electroquímicamente en el electrodo; mientras que, en los bioánodos polarizados negativamente (-0.160 V/EEH), se espera la proliferación de especies que realicen una transferencia de electrones directa [209], como podría ser la transferencia mediante citocromos c extracelulares, los cuales se reducen mediante las vías catabólicas microbianas irreversibles, acopladas a la cadena de transporte de electrones [209, 252]. De esta manera, se explicaría porque los bioánodos polarizados negativamente muestran un comportamiento que parece distar de ser irreversible [263]. Desde luego, para poder dilucidar este fenómeno sería necesario caracterizar genéticamente las poblaciones microbianas de los bioánodos así como modelar las voltamperometrías cíclicas, es especial, tratándose de bioánodos halotolerantes inoculados con sedimentos lagunares hiperhalinos, ya que estos han sido poco estudiados [27-30], y las poblaciones microbianas de los bioánodos aquí reportados podrían variar con respecto a la literatura, debido a la naturaleza del inóculo.

Cabe destacar que se ha reportado que la presencia de pilis y sus proteínas asociadas en *Geobacter* sp. se relaciona con las propiedades pseudo-capacitivas de las biopelículas electroactivas, que muestran gran reversibilidad redox por voltamperometría cíclica, ruta que es independiente a la de los citocromos c extracelulares [141, 145, 264]. Es por lo anterior que es poco probable que en los bioánodos aquí estudiados exista

entrega de electrones mediada por pilis [141, 145, 264], ya que en la Figura 3.7 se observan reacciones redox de naturaleza irreversible [263].

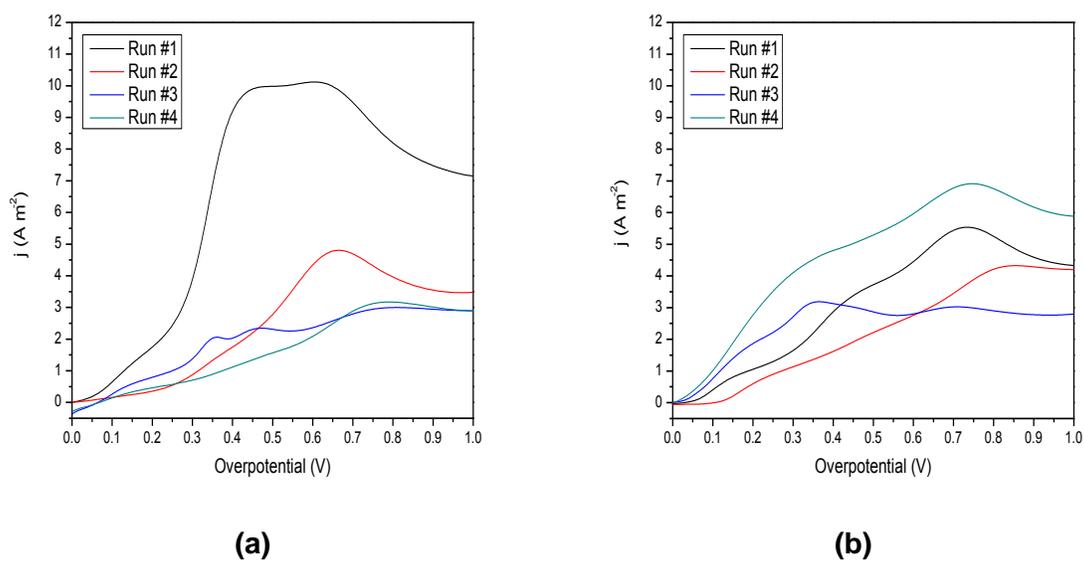
### 3.1.7. Caracterización de la biopelícula por voltamperometría lineal

Después de 21 días de polarización, se paró la polarización por cronoamperometría y se realizó una voltamperometría lineal una vez estabilizado el potencial a circuito abierto. Los resultados de cada corrida se presentan en la Figura 3.8. La contribución de las especies químicas con actividad redox acarreadas en el sedimento fue descartada, ya que las corrientes oxidantes obtenidas durante las voltamperometrías realizadas el día cero se encontraron por debajo de los  $0.100 \text{ A m}^{-2}$ . Como se observa en la Figura 3.3, el *onset* de corriente se presentó a sobrepotenciales menores en los bioánodos desarrollados a  $-0.160 \text{ V/EEH}$ , donde tres de cuatro corridas presentaron corrientes oxidativas apenas se aplicó sobrepotencial, entre los 0 y  $0.050 \text{ V}$ ; únicamente la corrida #2 presentó el *onset* de corriente a un sobrepotencial de  $0.100 \text{ V}$ . En lo que concierne a los bioánodos desarrollados a  $+0.340 \text{ V/EEH}$ , todas las corridas presentaron corriente oxidante a partir de  $0.050 \text{ V}$  de sobrepotencial aplicado.

De igual forma que en la cronoamperometría, se encontró una variación importante en la densidad de corriente entre las cuatro corridas a cada potencial de polarización aplicado durante el crecimiento de la biopelícula electroactiva. Igualmente, se encontraron variaciones en los picos de corriente oxidativa en cada corrida, lo que sugiere que diferentes procesos de oxidación ocurren a pesar de haber aplicado un mismo tiempo y potencial de polarización para la selección de microorganismos electroactivos. Lo anterior significa que las especies de microorganismos que colonizaron los bioánodos, o que al menos la expresión de las proteínas redox en cada corrida fueron independientes de potencial aplicado durante el desarrollo de las biopelículas electroactivas. Esto se hace evidente en la Figura 3.3, donde la corrida #1, #2 y #4 para ambos potenciales presentan perfiles de oxidación similares, mientras que los perfiles encontrados para la corrida #3 bajo polarización positiva y negativa fueron similares entre sí, pero distintas al grupo anteriormente mencionado (corridas #1, #2 y #4). Debido a que cada corrida se realizó por separado, las similitudes o disimilitudes entre los ocho perfiles oxidativos no se deben a un error experimental. En la Figura 3.8, se destaca que la densidad de corriente máxima fue alcanzada por encima de un sobrepotencial de  $0.600 \text{ V}$  en todas las corridas, a

excepción de la corrida #3 polarizada a  $-0.160$  V/EEH donde la densidad de corriente máxima fue observada a un sobrepotencial de  $0.300$  V. Estos valores se presentan en la Tabla 3.11, que fueron sustancialmente superiores a la corriente máxima obtenida durante al cronoamperometría (Tabla 3.9).

A pesar de haber encontrado corrientes superiores a bajos sobrepotenciales en los bioánodos desarrollados a  $-0.160$  V/EEH, finalmente, no se encontraron diferencias estadísticas significativas en la densidad de corriente máxima en comparación con los bioánodos desarrollados a  $+0.340$  V/EEH. Es importante mencionar que la densidad de corriente observada a sobrepotenciales bajos puede cambiar con el tiempo, según lo reportado por Lewis *et al.* [53], quienes reportaron un cambio importante en el potencial medio (*midpoint potential*) entre dos bioánodos desarrollados a  $+0.200$  V/EEH y  $-0.200$  V/EEH, pero dicho efecto fue notorio después de tres meses.



**Figura 3.8.** Voltamperometría lineal ( $1\text{mV s}^{-1}$ ) a los 21 días de polarización por cronoamperometría a  $+0.34$  V/EEH and  $-0.16$  V/EEH.

**Tabla 3.11. Densidad de corriente máxima obtenida por voltamperometría lineal ( $1\text{mV s}^{-1}$ ) a los 21 días de polarización por cronoamperometría a  $+0.34\text{ V/EEH}$  and  $-0.16\text{ V/EEH}$ .**

Potencial de polarización	Densidad de corriente máxima ( $\text{A m}^{-2}$ )				
	Corrida #1	Corrida #2	Corrida #3	Corrida #4	Promedio
$+0.34\text{ V/SHE}$	10.12	4.80	3.00	3.17	$5.27 \pm 3.38^{\text{a}}$
$-0.16\text{ V/SHE}$	5.54	4.32	3.18	6.91	$4.99 \pm 1.60^{\text{a}}$

### 3.1.8. Implicaciones del potencial de polarización sobre la producción de corriente

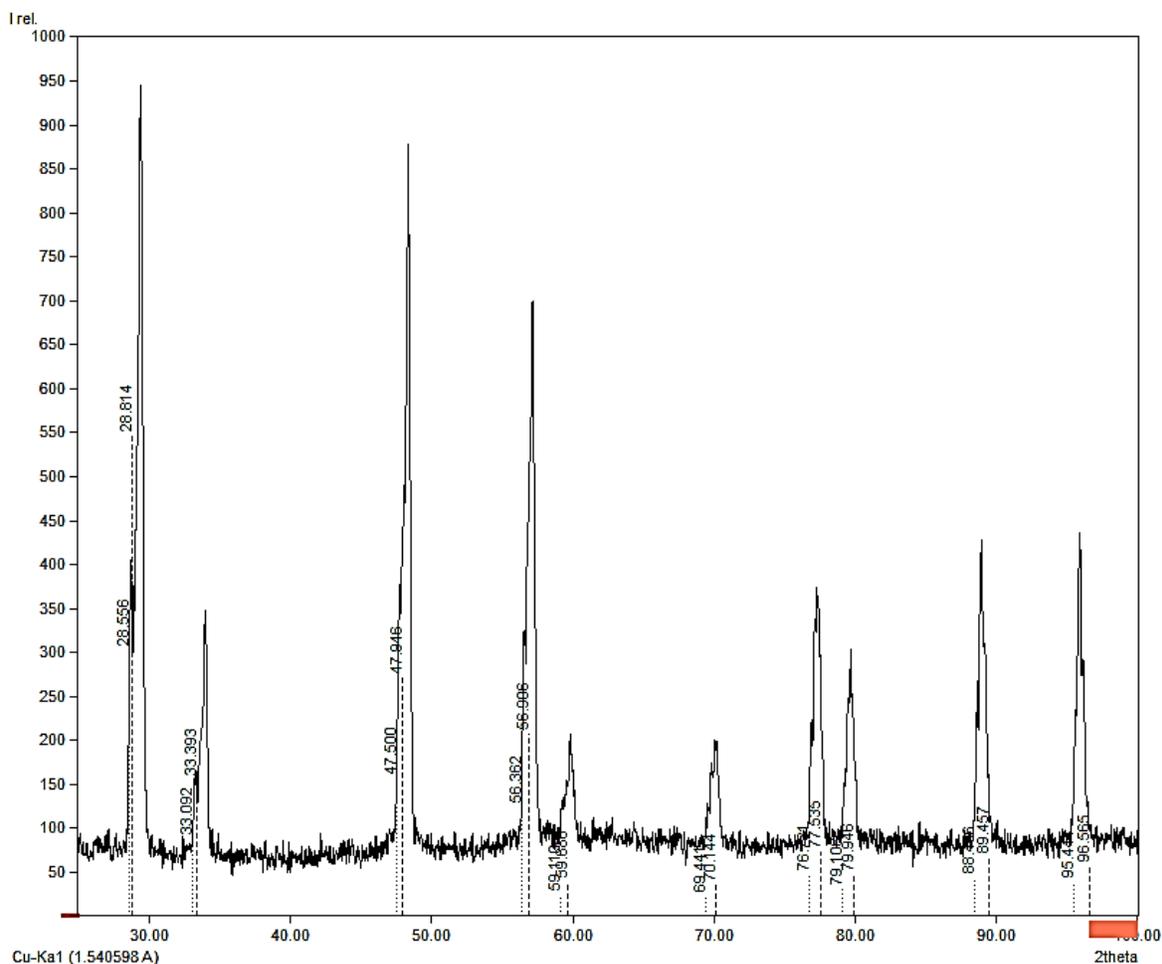
Como ya se ha demostrado en reportes anteriores, incluyendo éste, una alta variabilidad en la densidad de corriente es usualmente observada cuando se emplean sedimentos marinos y lagunares halinos en gran volumen como inóculo (de 10 a 50%) [27-30, 239, 246, 247, 250, 265]. Este es un factor importante a tomar en cuenta al sacar conclusiones sobre el efecto del potencial de polarización empleado para el desarrollo de los bioánodos sobre la densidad de corriente de salida, ya que muchos reportes no incluyen el estudio de varias réplicas ni el análisis estadístico de las mismas [209, 250, 265, 266]. En este trabajo se observó que el uso de un potencial de polarización positivo ( $+0.340\text{ V/EEH}$ ) puede ofrecer varias ventajas, como lo es una mayor remoción de materia orgánica del electrolito. Sin embargo, el potencial positivo no parece mejorar las salidas de corriente en comparación con el potencial de polarización negativo ( $-0.160\text{ V/EEH}$ ), al menos para el inóculo y condiciones de operación del SEM aquí empleado. Por lo tanto, la corriente de salida obtenida debe de estar en función de otros factores distintos al potencial de polarización [240, 267]. Esto puede ser cierto de acuerdo a reportes previos [30, 209], donde las especies que colonizan los electrodos no cambian con el potencial aplicado, pero sí su abundancia. Es por esto que el análisis de la comunidad microbiana que colonizó los bioánodos será necesario en el futuro. Interesantemente, el desarrollo de los bioánodos bajo una polarización negativa ( $-0.160\text{ V/EEH}$ ) mejora el desempeño electroquímico de los microorganismos (Figura 3.3 y 3.8), reduciendo el tiempo de la fase de adaptación de las bacterias exoelectrogénicas y generando una mayor velocidad de entrega de corriente a bajos potenciales durante la voltamperometría, en comparación con los bioánodos desarrollados bajo el potencial

positivo (+0.340 V/EEH). Cabe mencionar que las diferencias en los diseños experimentales deben ser consideradas a la hora de comparar los resultados con la literatura y de sacar conclusiones acerca del efecto del potencial sobre la estructura de la comunidad anódica establecida, y su efecto sobre el desempeño energético. Torres *et al.*, [209] encontraron que un potencial negativo (-0.150 V/EEH) permite la producción de una densidad de corriente superior debido a la marcada selección de *Geobacter* spp. sobre el electrodo (97% de abundancia), en comparación con potenciales superiores (-0.090 V/EEH, +0.020 V/EEH y +0.370 V/EEH); sin embargo, todos los electrodos estaban contenidos en el mismo recipiente, compartiendo el electrolito, operando el sistema como una CEM y empleando lodos activados de un digestor anaerobio como inóculo. Por el contrario, Rousseau *et al.*, [30] encontraron que el potencial positivo favorece la salida de densidades de corriente más altas, sin importar si los electrodos se encuentran en el mismo compartimento o si las corridas se realizan por separado resultando en una selección específica de dos géneros, *Desulfuromonas* y *Marinobacter*, variando ligeramente su proporción para los cuatro potenciales aplicados (-0.060 V/EEH, +0.140 V/EEH, +0.240 V/EEH y +0.440 V/EEH). Las dos principales diferencias entre ambos reportes fue la fuente y tamaño de inóculo (agua residual y lodo activado en un 2% y sedimentos de un marisma salino al 10%), el medio de cultivo empleado (agua dulce contra un electrolito altamente salino), el régimen de alimentación (flujo continuo contra batch sin agitación sin permitir la depleción de acetato), el material y porosidad del electrodo de trabajo (disco de grafito contra fieltro de carbón), indicando que una o varias de dichas características juegan un papel importante en la selección de los microorganismos y el desempeño energético del sistema bajo distintos potenciales, tal y como fue mencionado por Commault *et al.*, [243, 244]. Otra diferencia importante es la longitud de los experimentos, donde en la mayoría de los reportes, el sistema se mantiene polarizado mucho tiempo después de alcanzar el pico de corriente máxima, mientras que en este trabajo y en los trabajos reportados por Rousseau *et al.*, [27-30] el tiempo de los experimentos apenas superó este punto. Este aspecto está directamente relacionado con la variabilidad de la diversidad microbiana y la estructura de la comunidad, la cual, después del pico de corriente (ya colonizado el electrodo), depende de las condiciones geoquímicas y fisicoquímicas del ambiente [268]. Los resultados aquí encontrados indican que el potencial de polarización aplicado no tuvo efecto sobre las salidas de densidad de corriente y potencia del sistema, ya que se encontraron comportamientos similares independientemente de si los bioánodos se desarrollaron bajo el potencial positivo

(+0.340 V/EEH) o el negativo (-0.160 V/EEH). Como se observa en los voltamogramas aquí reportados, se encontraron picos de oxidación a bajos sobrepotenciales que parecen ser característicos de la entrega de electrones por parte de especies tipo *Geobacter* (-0.150 V/EEH), y picos de oxidación a sobrepotenciales oxidantes, que son característicos de especies como *Pseudomonadales* (+0.370 V/EEH) [209, 242], independientemente del potencial de polarización aplicado durante el crecimiento de los bioánodos. Esto indica que ambos potenciales de polarización permitieron la adaptación de comunidades microbianas similares después de polarizar durante 21 días. Sin embargo, para confirmar esto será necesario realizar una caracterización de la comunidad a través de la secuenciación del gen para el ARNr 16S y un análisis de la primera derivada de las voltamperometrías cíclicas realizadas. También es importante reconocer que tiempos de polarización más prolongados y un régimen de alimentación en continuo, emplear otro material como electrodo de soporte, así como utilizar técnicas para la remoción de la comunidad planctónica de sistema podría incrementar el rendimiento energético de los bioánodos. Como producto derivado de esta discusión, se publicó un artículo en la revista *Energies*, cuya copia se encuentra en el Anexo.

### **3.2. Obtención y caracterización de depósitos de Cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres.**

Antes de iniciar la obtención de depósitos de cerio por generación electroquímica de bases, se realizó un análisis de difracción de rayos X a una muestra de óxido de cerio (IV) de alta pureza (Sigma-Aldrich), para ser usado como referencia. El difractograma obtenido se encuentra en la Figura 3.9. Se detectaron 10 picos distintivos, que tuvieron concordancia con el perfil para  $\text{CeO}_2$  [COD-Inorg 96-434-3162] reportado por Artini y colaboradores [269] y [COD-Inorg 96-721-7888] reportado por Vanpoucke y colaboradores [270].



**Figura 3.9.** Difractograma de rayos X realizada a una muestra de  $\text{CeO}_2$  empleada como control. Línea de puntos: patrón de difracción de  $\text{CeO}_2$  [COD-Inorg 96-434-3162]. Línea de guiones: patrón de difracción de  $\text{CeO}_2$  [COD-Inorg 96-721-7888].

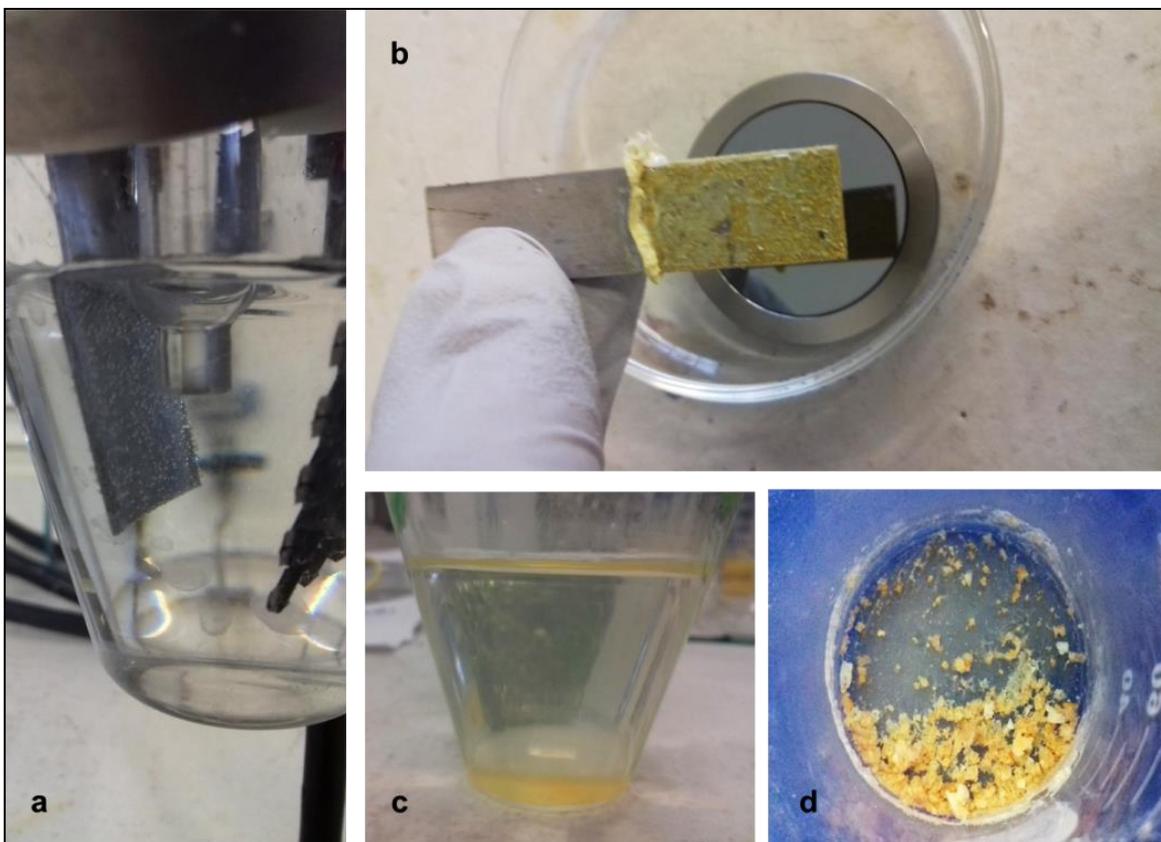
### 3.2.1. Obtención y caracterización de depósitos de cerio empleando una concentración inicial de Ce 30 mM

Se procedió a realizar el depósito de cerio mediante la generación electroquímica de bases de acuerdo a lo descrito en el apartado 3.2. Esta corriente es acorde los valores de densidad de corriente entregada por las biopelículas caracterizadas en el apartado 3.1.5 y 3.1.7. El pH inicial y final del electrolito, los potenciales registrados sobre el electrodo de trabajo y la cantidad de producto recuperado sobre la placa se resumen en la Tabla 3.12.

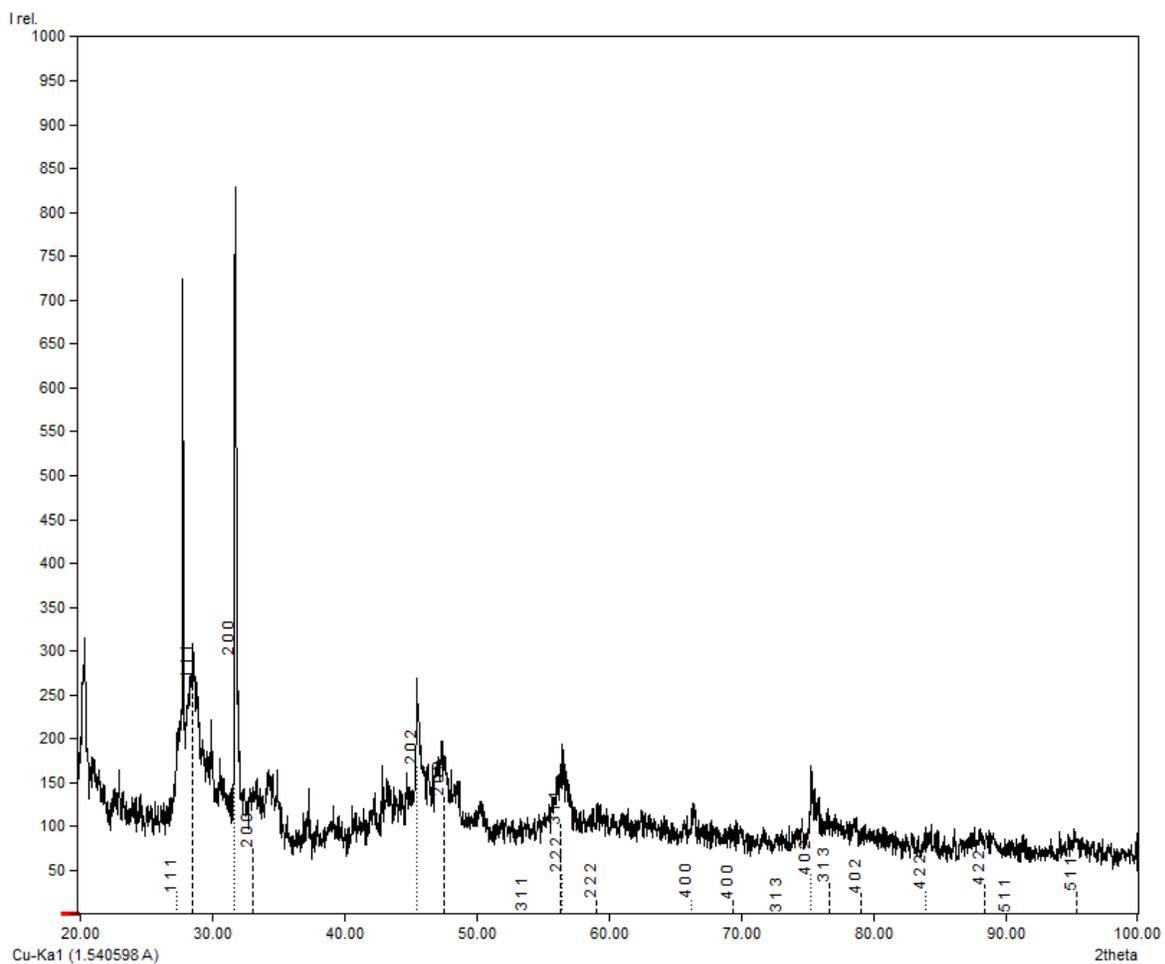
**Tabla 3.12. pH, potencial y cantidad de depósitos recuperados durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría (Ce 30 mM).**

Reacción	pH inicial	pH final	E (V/EEH)	Masa depositada (mg)
A	3.67	3.62	-0.769	32.50
B	4.26	4.17	-0.811	20.00
C	3.76	3.60	-0.778	37.90
Promedio	3.90±0.32	3.80±0.32	-0.786±0.022	30.13±9.18

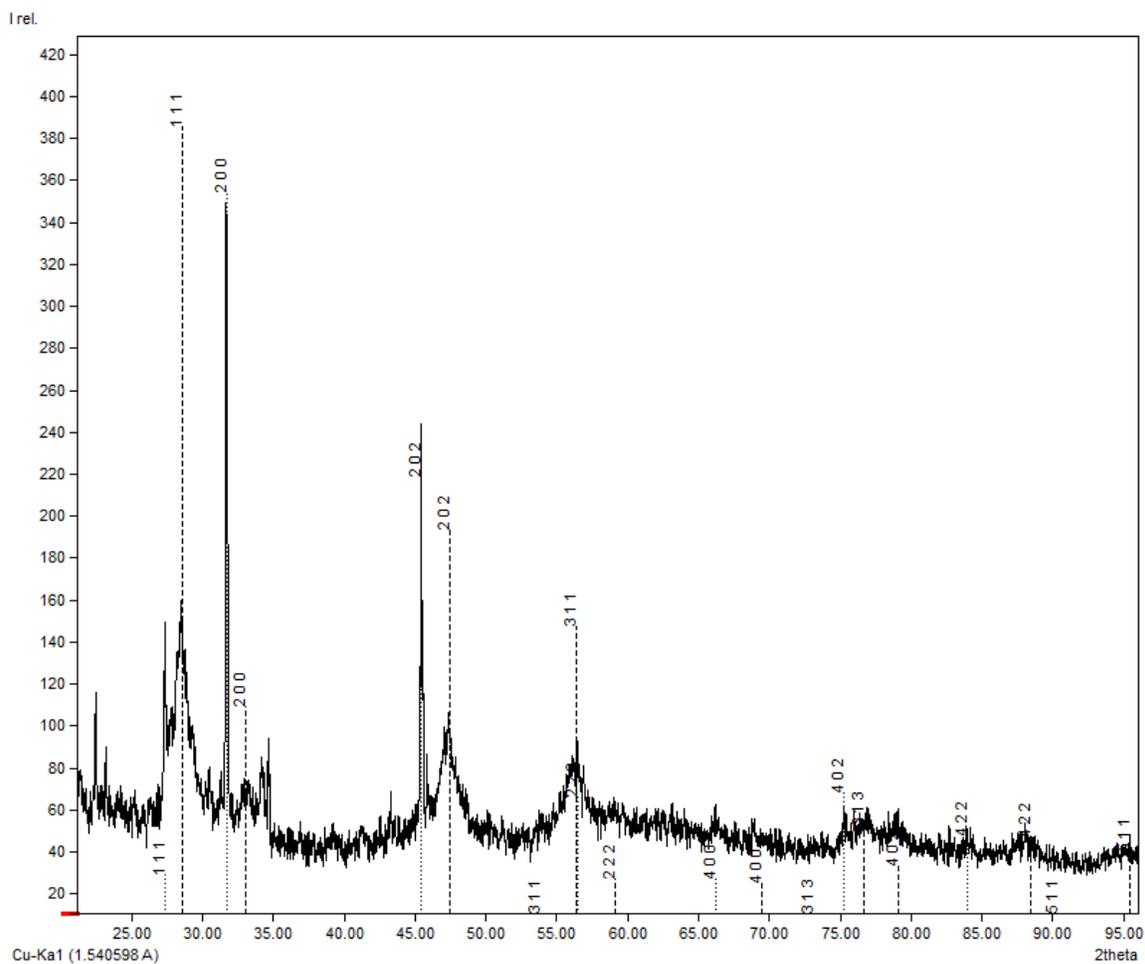
Al finalizar la reacción, después de la aplicación de corriente catódica durante 48 h, se observó un precipitado amarillento, con matices rojo parduzco, colores característicos de los óxidos de cerio [271], depositado sobre la superficie del electrodo. Dicho precipitado se observó también en la solución, sedimentado principalmente en el fondo de la celda electroquímica. El depósito recuperado sobre la placa de acero se muestra en la Figura 3.10 y el cambio de color en el electrolito se ilustra en la misma Figura (Figura 3.10a y 3.10c). Se encontró por diferencia de peso que la cantidad de material recuperado sobre el electrodo fue de 30.13±9.18 mg. Dicho material fue desprendido del electrodo con ayuda de una espátula y fue sometido a DRX. Como se observa en los difractogramas obtenidos (Figuras 3.11, 3.12 y 3.13), el perfil encontrado resultó positivo para CeO<sub>2</sub> (ceranita [COD-Inorg 96-900-9009]), el cual presenta una estructura cristalina cúbica tipo fluorita, de acuerdo con lo reportado por Wyckoff [272]. Esta estructura es característica de los óxidos de los elementos de las tierras raras obtenidos a partir del tratamiento térmico de sus hidróxidos, cuya forma cristalina está relacionada con la fluorita pero con un cuarto de los aniones removidos, de tal forma que el número de coordinación del metal se reduce de 8 a 6, sin presentar estructura octaédrica [271]. De igual manera, se encontró presencia de halita (NaCl [COD-Inorg 96-434-3162]) [273] en el depósito, que posee un perfil similar al CeO<sub>2</sub>, ya que ambos materiales presentan una estructura cristalina cúbica. La presencia de NaCl es de esperarse debido a que el electrolito posee una concentración de 50 g L<sup>-1</sup>. Los perfiles de difracción fueron muy similares entre las tres reacciones, confirmando la repetitividad del experimento.



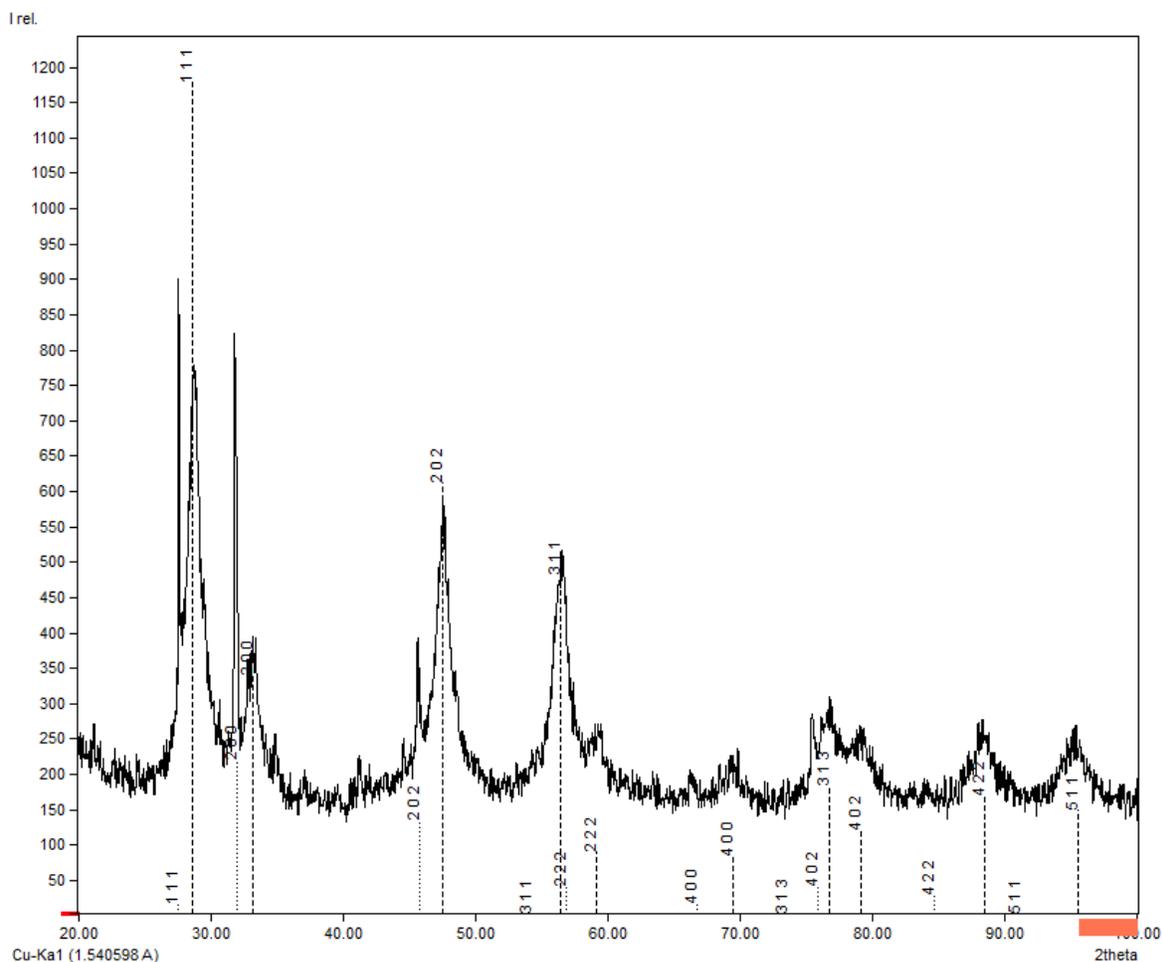
**Figura 3.10.** Formación de depósitos de cerio por generación electroquímica de bases en condiciones salobres ( $\text{NaCl } 50 \text{ g L}^{-1}$ ). a) Electrolito, electrodo de trabajo y evolución de gases durante los primeros segundos de reacción, b) electrodo con depósitos de cerio después de 48 h de reacción, c) electrolito después de 48 h de reacción, d) producto cristalizado después de evaporar el electrolito.



**Figura 3.11.** Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción A. Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].

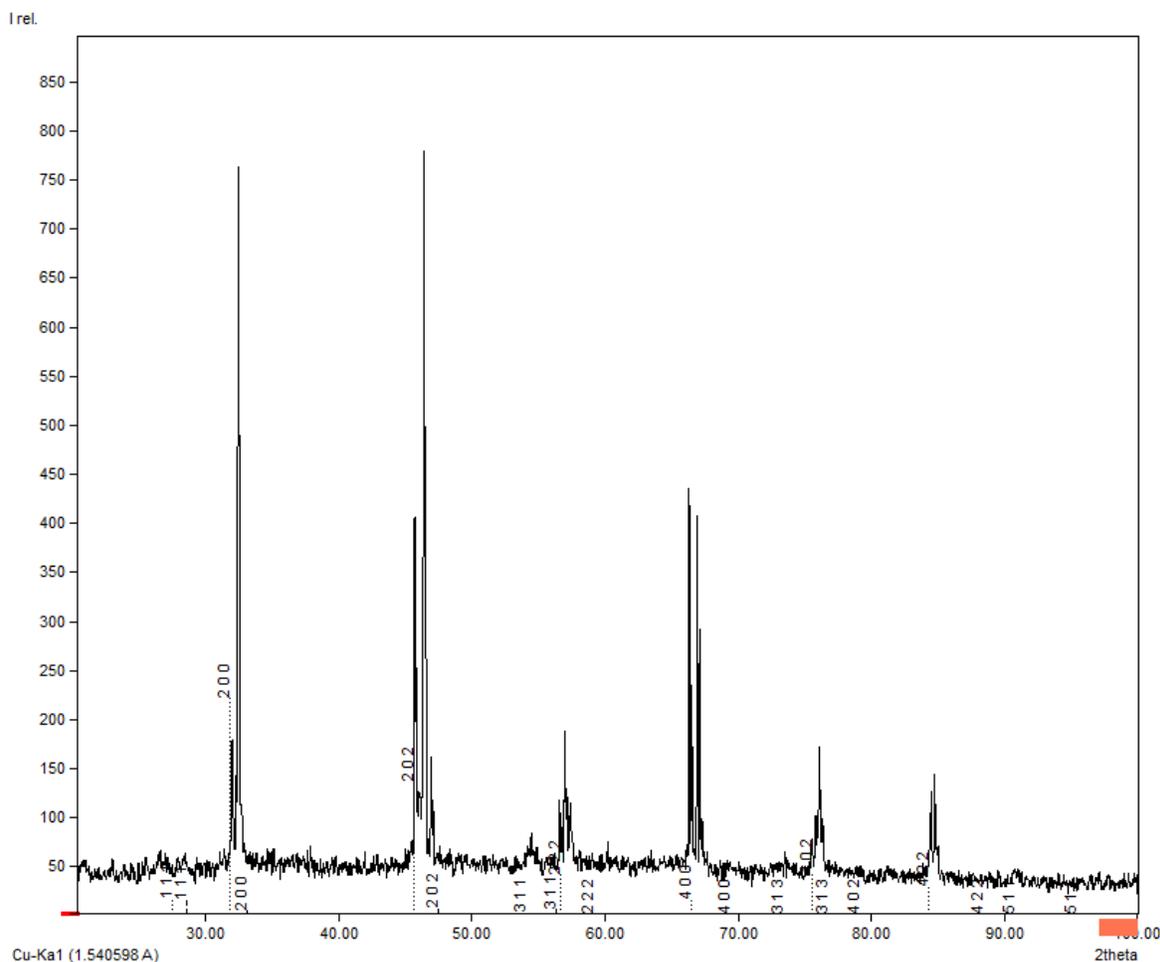


**Figura 3.12.** Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción B. Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].



**Figura 3.13.** Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción C. Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].

El electrolito obtenido después de realizar las tres reacciones, A, B y C, fue concentrado en un cristalizador e incubado a 105°C durante 5 días para cristalizar el producto disuelto y/o suspendido, el cual se puede observar en la Figura 3.10d. El producto cristalizado se sometió a difracción de rayos X (Figura 3.14), donde se encontró un perfil similar al encontrado en el material depositado sobre el electrodo, con la diferencia de que presentó una intensidad menor de CeO<sub>2</sub> y mayor de NaCl, lo cual era de esperarse debido a la naturaleza del electrolito. No se detectó señal de CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O, compuesto empleado como fuente de Ce<sup>+3</sup>.



**Figura 3.14.** Difracción de rayos X del electrolito evaporado después de realizar las reacciones A, B y C. Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].

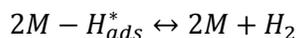
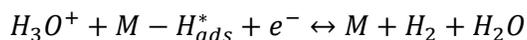
Todos los difractogramas obtenidos fueron consistentes con los reportados por Zhou *et al.*, [205, 210], quienes obtuvieron 1.5 g h<sup>-1</sup> de producto, CeO<sub>2</sub> en su mayoría, depositado sobre un electrodo de platino (área no especificada) aplicando una densidad de corriente de 10 A m<sup>-2</sup> por tiempo no reportado, equivalente a 6000 C, en una celda electroquímica con NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.5 M como electrolito y Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 0.5 M como analito. Desde luego, las cantidades recuperadas son superiores a las encontradas en el presente trabajo, debido a la diferencia en la densidad de corriente, material y área del cátodo, la cual suele ser de varios cm<sup>2</sup> en los procesos electroquímicos típicos. Cabe mencionar que el reporte publicado por Zhou *et al.*, [210] es el único reporte encontrado en la literatura

que menciona el rendimiento de óxidos de cerio obtenidos mediante la generación electroquímica de bases en un sistema acuoso.

Por otro lado, al comparar los difractogramas del depósito obtenido sobre el electrodo con los de los cristales obtenidos por evaporación del electrolito, se observa que este último presenta mayor cristalinidad (picos más definidos y línea base menor), lo cual es de esperarse debido a que la deshidratación del último se llevó a cabo aplicando temperatura (105°C) durante varios días, a diferencia del depósito obtenido sobre el electrodo, que se secó a temperatura ambiente (26°C) [205, 210, 274].

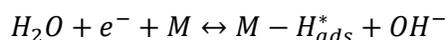
En general, todos los difractogramas obtenidos coinciden con los perfiles de nanopartículas de CeO<sub>2</sub> reportadas en la literatura, ya sea sintetizadas por vía térmica [69] o por precipitación química, además de la electroquímica [205, 210]

En cuanto al potencial registrado sobre el electrodo de trabajo, el potencial en el sistema antes del inicio de la reacción fue de +0.099±0.042, el cual decreció abruptamente alrededor de 0.800 V durante los primeros 20 segundos transcurridos y se estabilizó en -0.786±0.022 V/EEH después de 5 min de reacción, manteniéndose estable durante el resto del experimento. La evolución de gases se hizo evidente en el electrodo de trabajo, después de 15 minutos de reacción, sin aparición de precipitados. Debido al pH inicial del electrolito, se espera que el paso inicial de las reacciones de electrólisis al aplicar un potencial menor a 0 V/EEH sea el paso de Volmer, definido como la descarga de iones hidronio para formar un intermediario reactivo adsorbido sobre la superficie metálica del electrodo, seguido ya sea por el paso de Heyrovsky o por el paso de recombinación de Tafel; los tres pasos se muestran a continuación, donde M representa la especie metálica presente en el electrodo [275].

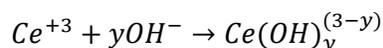


Como es evidente en las reacciones anteriores, el consumo de iones hidronio sobre la superficie del electrodo provocará un aumento localizado del pH, momento en el que las condiciones de evolución de hidrógeno ocurrirán por la vía alcalina, esto quiere

decir que, la adsorción del hidrógeno sobre la especie metálica se dará mediante la descarga de agua y no de iones hidronio, generando iones hidroxilo como producto [275].



Son precisamente dichos iones hidroxilo, los que reaccionan con el cerio disuelto en el electrolito para formar hidróxidos [205, 274].



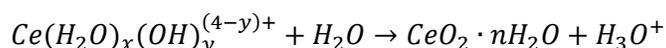
Lo anteriormente expuesto, explica por qué la evolución de gases se observó antes que la formación de precipitados en el sistema.

Por otro lado, la generación de iones hidroxilo también puede llevarse a cabo por vía catódica mediante reacciones de reducción de oxígeno molecular, a partir de la siguiente reacción [187]:



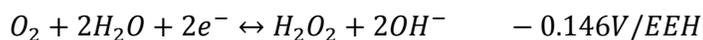
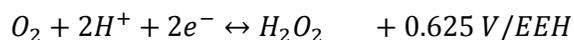
Con base en lo anterior, se esperaba un aumento de pH en el electrolito, debido al consumo de iones hidronio y producción de hidroxilos por la vía electroquímica. Durante los experimentos se encontró que no existió un cambio de pH significativo entre el estado inicial y final de la reacción, que fue de  $3.90 \pm 0.32^a$  y  $3.80 \pm 0.32^a$ , respectivamente. Se realizó una reacción bajo las mismas condiciones y se midió el pH antes de iniciar la cronopotenciometría y así como después de 2 min y de 1 hora de la aplicación de corriente, encontrando que el pH aumentó de 4.73 a 4.90 transcurridos un par de minutos y posteriormente, después de una hora, el pH registrado fue 5.23, indicando que la generación de alcalinidad por vía catódica se estaba llevando a cabo. Al finalizar la reacción el pH volvió a su valor original (pH = 4.81), de la misma manera que en las reacciones A, B y C (Tabla 3.12). Estos resultados concuerdan con lo observado por Zhou y Switzer [205], quienes monitorearon el pH en función de la cantidad de carga aplicada por cronopotenciometría empleando una densidad de corriente catódica de entre 5 y 30 A m<sup>-2</sup> sobre un electrodo de acero inoxidable en un sistema de nitratos empleando Ce<sup>+3</sup> como analito. En dicho trabajo, se reportó un aumento inmediato de pH desde 4.5 hasta 7.3, momento en el que la precipitación de cerio se hizo evidente; el pH se mantuvo entre las 7.3 y 7.8 unidades hasta los 3000 C aplicados, momento en el que decreció hasta 4.2 y cesó la precipitación de especies de cerio. Este efecto se debe a la competencia entre la

generación catódica de iones hidroxilo y la generación de iones hidronio derivada de la formación óxidos de cerio, según la siguiente ecuación:



De esta manera, el aumento de pH producido por efecto de la corriente catódica se amortigua mediante el consumo de hidroxilos durante la precipitación de cerio en forma de hidróxidos y la subsecuente formación de óxidos de cerio con producción concomitante de iones hidronio, explicando por qué el pH retorna a valores ácidos cuando finaliza la aplicación de corriente y cesa la formación de óxidos. Zhou *et al.*, [210] demostraron que, en ausencia de especies de cerio, y solo empleando  $NH_4NO_3$  0.5 M como electrolito, el pH aumentó paulatinamente de 5 a 8 al aplicar de 0 a 3000 C por cronopotenciometría, estabilizándose en 9.5 unidades después de aplicar 6000 C. En contraste, en presencia de  $Ce(NO_3)_3$  0.5 M, el pH aumenta de 5 a 6.8 después de aplicar 3000 C, y bajando a 4.2 después de aplicar 6000 C.

Cabe destacar que, la formación de óxidos metálicos también puede llevarse a cabo debido a la transformación de los hidróxidos obtenidos al reaccionar con peróxido de hidrógeno [274], el cual es susceptible de formarse electroquímicamente a partir de la reducción de oxígeno molecular bajo el potencial alcanzado sobre el electrodo de trabajo [187]:



Adicionalmente, como se observa en la reacción anterior, en condiciones alcalinas se producen también iones hidroxilo, además del peróxido de hidrógeno. Se ha demostrado que la formación de hidróxidos y óxidos metálicos ocurre por la vía electrolítica a temperatura ambiente para especies metálicas tales como Nb, Ti, Zr y Ru, produciendo sus óxidos respectivos y propiciando la formación de estructuras cristalinas a baja temperatura (20 a 30°C) [274]. Si bien, como menciona Zhitomirsky [274], se espera que la formación de óxidos metálicos a temperatura ambiente por precipitación alcalina genere materiales amorfos, su precipitación en presencia de peróxido de hidrógeno aumenta el grado de cristalinidad, lo que es acorde a los resultados aquí obtenidos. Cabe mencionar que, los óxidos de cerio depositados sobre el electrodo pueden contribuir a la formación de peróxidos mediante la reducción de oxígeno, ya que se ha comprobado que

funge como catalizador de dicha reacción en medios alcalinos, tal y como reportan Xu *et al.*, [69], que emplearon un cátodo de óxidos de cerio soportados sobre nanotubos de carbón en una celda de combustible para la producción de peróxido. En dicho trabajo se observa que la presencia del  $\text{CeO}_2$  en el cátodo provocó un aumento del 30% en el pico de corriente característico de la reducción de oxígeno, así como un aumento del potencial de reducción de oxígeno, pasando de  $-0.569$  a  $-0.539$  V/EEH, mientras que la producción de peróxido aumento hasta en un 267%.

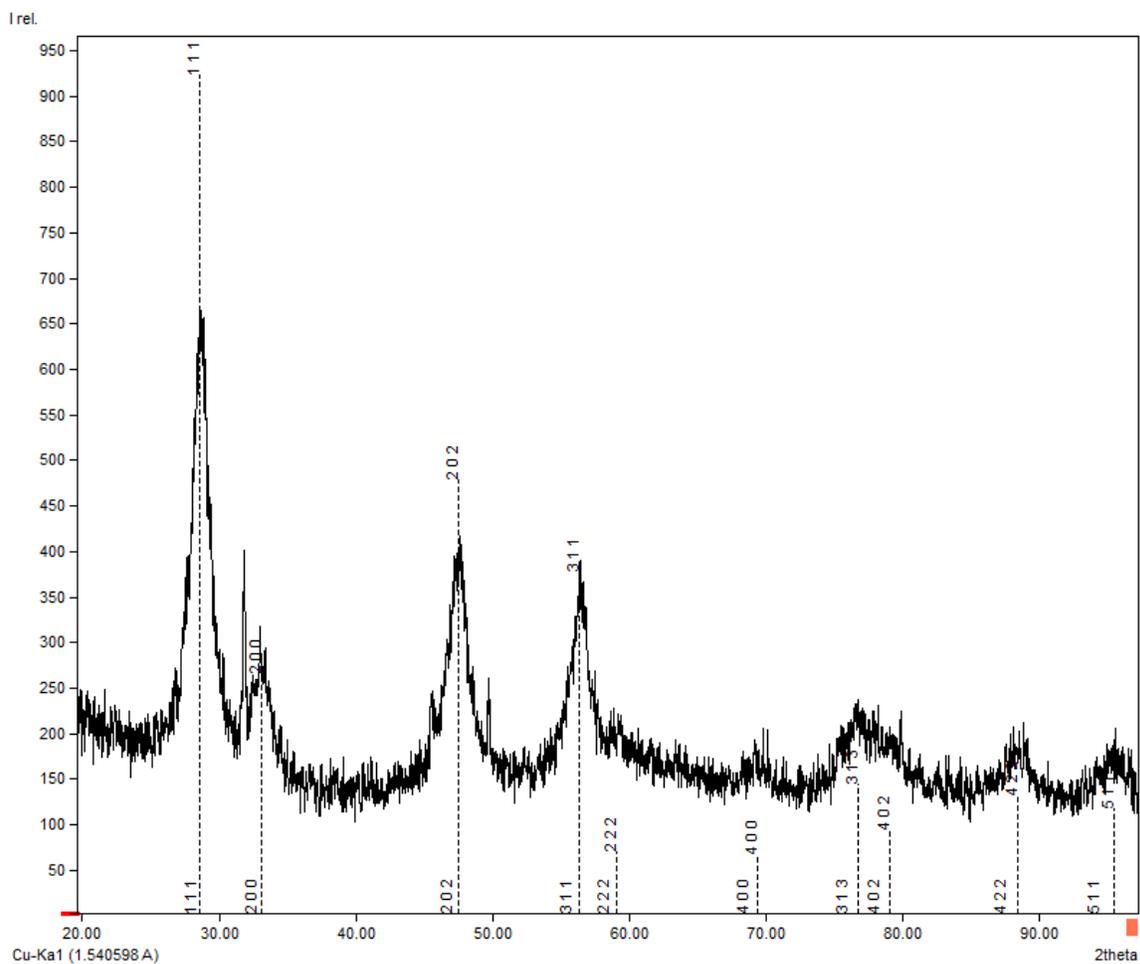
### 3.2.2. *Obtención y caracterización de depósitos de cerio empleando una concentración inicial de Ce 3 mM*

Una vez concluidas las reacciones A, B y C, se prosiguió a realizar los depósitos de cerio por generación electroquímica de bases empleando una concentración de Ce 10 veces menor, es decir  $0.4204 \text{ g L}^{-1}$  (3 mM), por duplicado. El comportamiento de las reacciones fue muy similar al observado en las reacciones A, B y C (Ce 30 mM) y el aspecto del producto fue el mismo. Se encontró el mismo comportamiento en cuanto al pH, el cual conservó su valor al comparar el estado final e inicial, como se explicó anteriormente. El comportamiento del potencial del electrodo de trabajo durante el inicio de la reacción a bajas concentraciones de cerio fue el mismo, sin embargo, pasados 5 minutos de reacción este se estabilizó alrededor de  $-0.943 \pm 0.050^b$  V/EEH, aproximadamente 0.200 V menos, en comparación con el potencial observado a altas concentraciones de cerio (30 mM), que fue de  $-0.786 \pm 0.022^a$  V/EEH. Por otro lado, se encontró que la cantidad de material depositada sobre el electrodo fue de  $15.90 \pm 0.85^b$  mg, que, como era de esperarse, fue significativamente menor en comparación con los  $30.13 \pm 9.18^a$  mg obtenidos empleando altas concentraciones de cerio. Los resultados descritos se resumen en la Tabla 3.13.

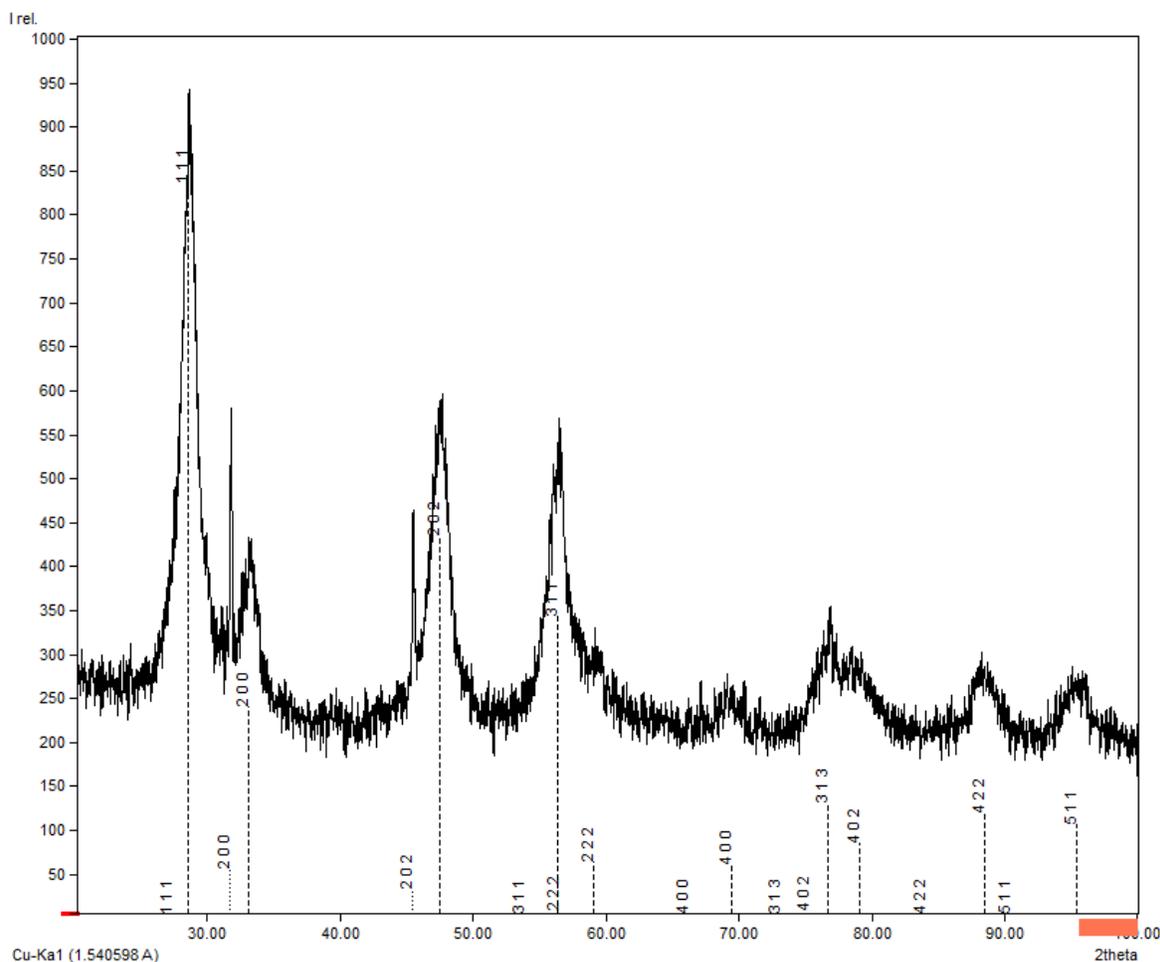
**Tabla 3.13. Potencial, pH y cantidad de depósitos recuperada durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría empleando Ce 3 mM.**

Muestra	pH inicial	pH final	E (V/EEH)	Masa depositada (mg)
Reacción D	4.40	4.29	-0.905	15.3
Reacción E	3.91	4.00	-0.980	16.5
Promedio	4.16 ± 0.35	4.15 ± 0.21	-0.943 ± 0.050	15.90 ± 0.85

El producto obtenido sobre la placa de acero inoxidable fue desprendido del electrodo con ayuda de una espátula y fue sometido a difracción de rayos X (Figura 3.15 y 4.16), donde se encontró que ambos perfiles (reacción C y D) concuerdan con los encontrados con el producto de las reacciones a altas concentraciones (A, B y C). De esta manera, se observó que fue posible obtener el producto deseado,  $\text{CeO}_2$ , mediante la generación electroquímica de bases (reacciones A, B, C, D, y E) realizadas en condiciones salobres ( $50 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ ) y aplicando una densidad de corriente catódica de  $2.5 \text{ A m}^{-2}$ , independientemente de si se emplea una concentración inicial de  $\text{Ce}^{+3}$  de 30 mM o 3 mM. Sin embargo, se encontró una diferencia cuantitativa, en el sentido de que la cantidad de producto a altas concentraciones (Ce 30 mM) fue mayor (A, B y C) en comparación con la cantidad obtenida a bajas concentraciones (Ce 3mM). Esto es de esperarse, debido a que la cinética de la reacción se verá afectada por la concentración inicial de analito, de acuerdo a la ecuación de Cottrell. Cabe destacar que, aunque se obtienen mejores resultados empleando una concentración alta de analito, las concentraciones de cerio disueltas en las fuentes alternas de ETR, tales como aguas residuales, sedimentos y aguas salobres, es más cercana a 3 mM [9], por lo que dicha condición de reacción es más acorde a las concentraciones que se utilizarían de emplear la generación electroquímica de bases para la concentración y recuperación de  $\text{CeO}_2$  de una fuente alterna de ETR.



**Figura 3.15.** Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción D. Línea de guiones: patrón de difracción de  $\text{CeO}_2$  [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de  $\text{NaCl}$  [COD-Inorg 96-434-3162].



**Figura 3.16.** Difractograma de rayos X realizada del depósito obtenido sobre el electrodo de trabajo durante la Reacción E. Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].

### 3.3. Obtención de depósitos de óxidos de cerio por generación electroquímica de bases empleando un sistema electroquímico microbiano en condiciones salobres.

Para llevar a cabo el tercer objetivo planteado en el Capítulo 1, primero, fue necesario desarrollar el bioánodo que se empleó en el SEM, de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2, apartado 2.3.2., Una vez que se contó con un bioánodo en fase estacionaria, el cual se desarrolló por cronoamperometría en una celda de tres electrodos, tal y como se hizo para el cumplimiento del primer objetivo. Dicho bioánodo fue trasladado a la CEM de acrílico y sometido a un periodo de adaptación (Capítulo 2, apartado 2.3.3).

Finalizado dicho periodo, la densidad de corriente anódica promedio registrada por cronoamperometría (polarización a  $-0.160$  V/EEH) fue de  $2.86 \pm 0.57^a$  A m<sup>-2</sup>. Este valor es superior en comparación al registrado en los bioánodos descritos en el apartado 3.1.5., cuya densidad de corriente promedio fue de  $1.72 \pm 0.58^b$  A m<sup>-2</sup>, con diferencias significativas. Esta diferencia es probable que se deba al aumento del volumen útil de la cámara anódica, que fue de 445 mL, en comparación los 200 mL utilizados en el apartado 3.1.5, mientras que el área de los electrodos de trabajo y auxiliar se conservaron. De esta manera, en el SEM existe una menor relación entre el área del electrodo de trabajo y el volumen del electrolito, lo que puede mejorar la cinética de reacción durante la cronoamperometría. Además, cabe mencionar que el bioánodo empleado en el SEM estuvo más tiempo sometido a cronoamperometría, ya que tres semanas se emplearon para su crecimiento en la celda de cristal de una cámara, y tres semanas en periodo de adaptación en el SEM de acrílico de dos cámaras; esto aunado a qué como inóculo se empleó, además del sedimento (15% v/v), 1 cm<sup>2</sup> de un bioánodo desarrollado en los experimentos descritos en el apartado 3.1.5. Curiosamente, el potencial anódico a circuito abierto (potencial de media celda) fue ligeramente más reductor en el SEM en comparación con los bioánodos descritos en el apartado 3.1.5, siendo de  $-0.316 \pm 0.012^a$  V/EEH y  $-0.2640.023^b$  V/EEH, respectivamente, lo cual es probable se haya debido a la edad de los bioánodos.

Una vez que se acopló el bioánodo halotolerante al SEM de dos cámaras, se prosiguió a realizar el depósito de óxidos de cerio en la cámara catódica mediante la generación electroquímica de bases, bajo las mismas condiciones empleadas en el apartado 3.2.2, es decir, por cronopotenciometría a  $-2.5$  A m<sup>-2</sup> por 48 h, pero empleando el bioánodo halotolerante como electrodo auxiliar. Igual que en las reacciones electroquímicas descritas en el apartado 3.2., la evolución de gases en el cátodo se hizo evidente después de 15 min de la aplicación de corriente y, al cabo de unas horas, la aparición de precipitados en el electrolito se hizo visible. La reacción se realizó por triplicado y los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3.14.

**Tabla 3.14. pH y potenciales registrados en la generación electroquímica de bases en condiciones salobres por cronopotenciometría (48 h) en una CEM empleando Ce 3 mM.**

Reacción	pH cámara catódica			pH cámara anódica		E (V/EEH)			E <sub>o</sub> (V/EEH)	
	0 h	24 h	48 h	0 h	48 h	Cátodo (V/EEH)	Potencial aplicado (V)	Ánodo (V/EEH)	0 h	48 h
F	4.70	7.58	7.76	8.13	7.78	-0.857	0.620 – 0.680	-0.237 – -0.177	-0.304	-0.332
G	5.50	7.51	6.63	8.15	7.67	-0.851	0.640 – 0.720	-0.211 – -0.131	-0.328	-0.303
H	5.46	7.02	6.80	7.80	7.35	-0.934	0.780 – 1.000	-0.154 – +0.066	-0.317	-0.301
Promedio	5.22±0.45	7.37±0.31	7.06±0.61	8.03±0.20	7.60±0.22	-0.881±0.046	0.620 – 1.000	-0.237 – +0.066	-0.316±0.012	-0.312±0.07

E: potencial de celda a circuito cerrado. E<sub>o</sub>: potencial anódico a circuito abierto.

Respecto al pH inicial, este fue de  $5.22 \pm 0.45^a$  unidades, que fue significativamente mayor en comparación con el pH registrado al inicio de la reacción electroquímica del apartado 3.2.2, que fue  $4.16 \pm 0.35^b$ . Esto se debe a que parte de los iones hidronio de la cámara catódica pueden atravesar la membrana de intercambio de protones situada entre la cámara anódica y catódica, de acuerdo al gradiente de concentración existente por la diferencia de pH entre ambas cámaras. Pasadas 24 h de cronopotenciometría ( $2.5 \text{ A m}^{-2}$ ), el pH aumentó significativamente, hasta  $7.37 \pm 0.31^c$ , momento en el que la formación de precipitados en la cámara catódica y sobre el electrodo era evidente, tal y como se observó en el apartado 3.2.2. El potencial alcanzado sobre la placa de acero inoxidable durante las 48 h de la aplicación catódica de  $2.5 \text{ A m}^{-2}$  fue de  $-0.881 \pm 0.046^c$  V/EEH, valor que ligeramente superior al encontrado en la reacción puramente electroquímica con cerio 3 mM ( $-0.943 \pm 0.050^b$  V/EEH), pero ligeramente por debajo en comparación con la reacción con cerio 30 mM ( $-0.786 \pm 0.022^a$  V/EEH). Sin embargo, cabe mencionar que estos valores no son comparables entre sí, ya que las distancias entre los electrodos en el SEM y las celdas puramente electroquímicas fue distinto, siendo de 3 cm en la primera celda y menos de 1 cm en la segunda.

En cuanto al potencial de celda aplicado para sostener la corriente catódica de  $-2.5 \text{ A m}^{-2}$  durante la cronopotenciometría, este se encontró entre los 0.640 y 0.720 V durante la reacción F, valores que fueron similares a los aplicados por Wang *et al.*, [276] para recuperar cadmio mediante la reducción a su forma elemental ( $E = -0.520$  V/EEH) en la cámara catódica de un SEM (0.500 y 0.700 V). Sin embargo, el potencial catódico alcanzado por Wang *et al.*, [276] fue menos reductor ( $-0.776$  a  $-0.621$  V/EEH) en comparación con los  $-0.857$  V/EEH alcanzados en la reacción F. Durante dicha reacción, el potencial anódico debió estar entre  $-0.237$  y  $-0.177$  V/EEH, valores que se encuentran por debajo del potencial de polarización empleado para desarrollar el bioánodo ( $-0.160$  V/EEH). Al finalizar la cronopotenciometría, el potencial anódico a circuito abierto se restableció en  $-0.305$  V/EEH,  $0.027$  V arriba en comparación con los  $-0.332$  V/EEH registrados antes de iniciar la reacción. La corriente entregada por cronoamperometría a  $-0.160$  V/EEH se mantuvo en  $2.86 \text{ A m}^{-2}$ , antes y después de realizar el depósito de cerio por cronopotenciometría, indicando que el desempeño de las bacterias anódicas no se vio afectado; el pH de la cámara anódica decreció ligeramente durante la recuperación de cerio, de 8.13 a 7.78, debido a la migración de iones hidronio desde la cámara catódica a

través de la membrana de protones empleada como separador, sin embargo, se mantuvo dentro del intervalo de pH de operación normal de las bacterias, de acuerdo a los resultados descritos en el apartado 3.1.5, demostrando su capacidad de mantener la alcalinidad del medio mediante la producción de ion bicarbonato a partir del acetato usado como fuente de carbono. Finalizando la reacción F, el bioánodo se sometió nuevamente a cronoamperometría ( $-0.160$  V/EEH) durante un periodo de 3 días, antes de iniciar la reacción G.

Durante la reacción G, el potencial demandado para sostener la corriente catódica fue de entre  $0.640$  y  $0.720$  V, el cual se encuentra dentro del rango de potencial aplicado reportado en la literatura en CEM para la recuperación de metales como Cu, Cd X, Y, Z [32, 186, 276], que va desde los  $0.5$  a  $1.7$  V. El aumento en el voltaje con respecto a la reacción F indica que las bacterias anódicas estuvieron sometidas a algún tipo de estrés durante la reacción G, ya que la resistencia de la biopelícula aumenta al existir daño celular [136, 177, 277, 278]. Esto se reflejó en el pH anódico el cual decreció de  $8.15$  a  $7.67$ , indicando una reducción en la capacidad microbiana para la generación de alcalinidad [279]. Durante la reacción G, el potencial anódico debió encontrarse entre los  $-0.211$  y  $-0.131$  V/EEH, intervalo dentro del cual se encuentra el potencial de polarización empleado para la aclimatación de los microorganismos anódicos. Al finalizar la reacción, el potencial anódico a circuito abierto se reestableció en  $-0.303$  V/EEH,  $25$  mV más positivo en comparación con los  $-0.328$  V/EEH registrados antes de iniciar la precipitación de cerio, pero dentro de los rangos normales según lo reportado en el apartado 3.1.5. Sin embargo, al finalizar la reacción y someter el bioánodo a cronoamperometría ( $-0.160$  V/EEH), la densidad de corriente disminuyó abruptamente, de  $3.43$  a  $1.43$   $A\ m^{-2}$ , antes y después de la reacción, confirmando un detrimento en el desempeño de las bacterias anódicas. Pasados 3 días de polarización a  $-0.160$  V/EEH, la corriente se restableció a valores normales.

En cuanto a la reacción H, aunque esta demandó un mayor potencial para el mantenimiento de la corriente catódica en comparación con las dos reacciones anteriores, siendo de entre  $0.780$  y  $1.000$  V, los valores son acordes a lo reportado en la literatura en referencia a CEM para la recuperación de metales [32, 186, 276]. De igual forma, en esta reacción se observó un detrimento en el desempeño de las bacterias anódicas, presentando un mayor cambio en el pH y corriente en comparación con las reacciones F y

G. El pH al final de la reacción se encontró en 7.35, que se encontró ligeramente bajo del rango registrado durante el desarrollo de los bioánodos (apartado 3.1.5), en comparación con las 7.8 unidades registradas antes de iniciar la reacción. El potencial anódico durante la reacción H debió de estar entre los  $-0.164$  y  $+0.066$  V/EEH, intervalo ligeramente oxidante en referencia los  $-0.160$  V/EEH empleados en la cronoamperometría. También se encontró una disminución en la corriente producida por cronoamperometría, la cual fue más abrupta en comparación con las reacciones F y G, ya que bajó de  $2.29 \text{ A m}^{-2}$ , antes de iniciar la precipitación de cerio, a  $0.79 \text{ A m}^{-2}$ , después de la reacción. Sin embargo, el potencial a circuito abierto anódico se restableció en un valor normal al finalizar la reacción ( $-0.301$  V/EEH), que fue 16 mV más oxidante en comparación con los  $-0.317$  V/EEH registrados antes de iniciar la reacción. Después de 3 días de recuperación por cronoamperometría a  $-0.160$  V/EEH, la densidad de corriente mostró una ligera mejoría ( $1 \text{ A m}^{-2}$ ), pero fue 65% menor que la densidad de corriente registrada antes de emplear el bioánodo para la recuperación de cerio ( $2.86 \text{ A m}^{-2}$ , antes de iniciar la reacción F).

Según lo descrito anteriormente, el detrimento en el desempeño de las bacterias anódicas se hizo evidente conforme se realizaron las tres reacciones F, G y H. Esto fue evidente en la diferencia de corriente observada antes y después de cada reacción, sin embargo los bioánodos mostraron la capacidad de recuperarse y el potencial a circuito abierto siempre se mantuvo en valores normales, acordes al potencial de oxidación de acetato empleado como fuente de carbono [4, 280]. Dicho detrimento pudo deberse al estrés generado por los iones hidronio migrando a la cámara anódica desde la cámara catódica, aunado a la disminución en la concentración de algún nutriente esencial para el desempeño de las bacterias [27, 246], ya que bajo el régimen de alimentación empleado, solo la fuente de carbono fue repuesta antes de cada reacción. De esta manera, es posible que el medio de cultivo o el sedimento usado como inóculo aporten el nutriente en cuestión, el cual va disminuyendo en concentración paulatinamente a lo largo de las tres reacciones. Los potenciales aplicados para la recuperación de óxidos de cerio fueron menores ( $0.620$  a  $1.200$  V) en comparación con los  $1.7$  V aplicados a la celda electroquímica empleada por Pozo *et al.*, [281] para la generación de bases por vía catódica y la posterior precipitación de metales en forma de hidróxidos, sugiriendo que los electrones producidos por el bioánodo halotolerante y la conductividad elevada del electrolito involucran un ahorro de energía. La diferencia entre ambos trabajos es de

1.080 a 0.500 V, aun cuando Pozo y colaboradores [281] emplearon sulfuro de hidrógeno como donador de electrones, además del potencial aplicado. La contribución de corriente realizada por las bacterias anódicas se corroboró mediante comparación con una celda control en la que se colocó un bioánodo en fase de muerte inducida por inanición, el cual no mostró producción de corriente por cronopotenciometría a  $-0.160$  V/EEH y cuyo potencial a circuito abierto fue de  $+0.034$  V/EEH; el potencial requerido para mantener la corriente catódica de  $2.5 \text{ A m}^{-2}$  para la recuperación de cerio durante 48 h fue  $1.9$  V, cantidad significativamente superior en referencia al intervalo de potenciales demandados por las celdas electroquímicas microbianas reportado en la literatura, que va de  $0.620$  a  $1.900$  V [32, 34, 179, 182]. La cantidad de masa de producto recuperado durante la cronopotenciometría en las reacciones F, G y H se reporta en la Tabla 3.15.

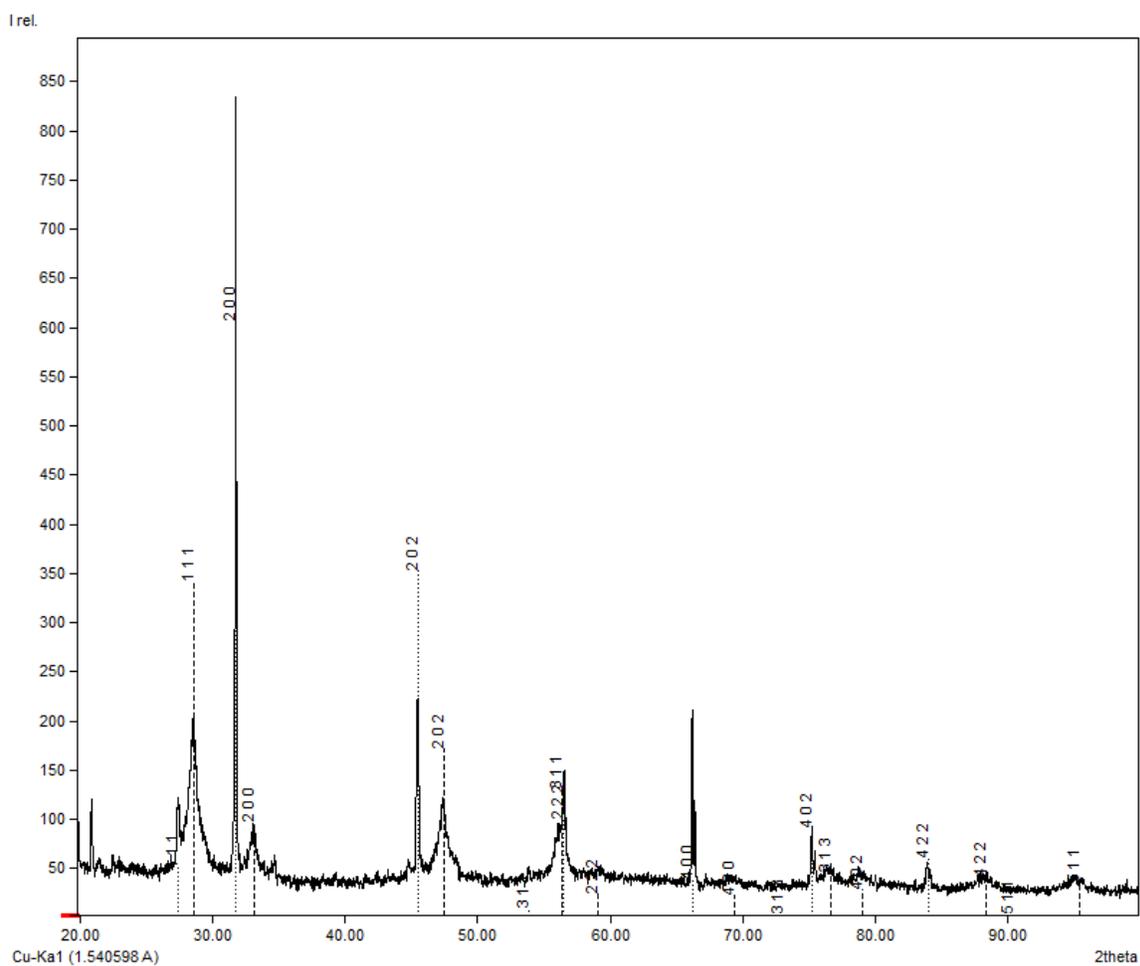
**Tabla 3.15. Depósitos de cerio obtenidos durante la generación electroquímica de bases por cronopotenciometría en un SEM empleando Ce 3 mM.**

Reacción	Masa depositada en el electrodo (mg)	Masa precipitada sobre el electrolito (mg)	Masa total (mg)
F	7.50	90.70	98.20
G	10.50	99.10	109.60
H	8.30	94.30	102.60
Promedio	$8.77 \pm 1.55$	$94.70 \pm 4.21$	$103.47 \pm 5.75$

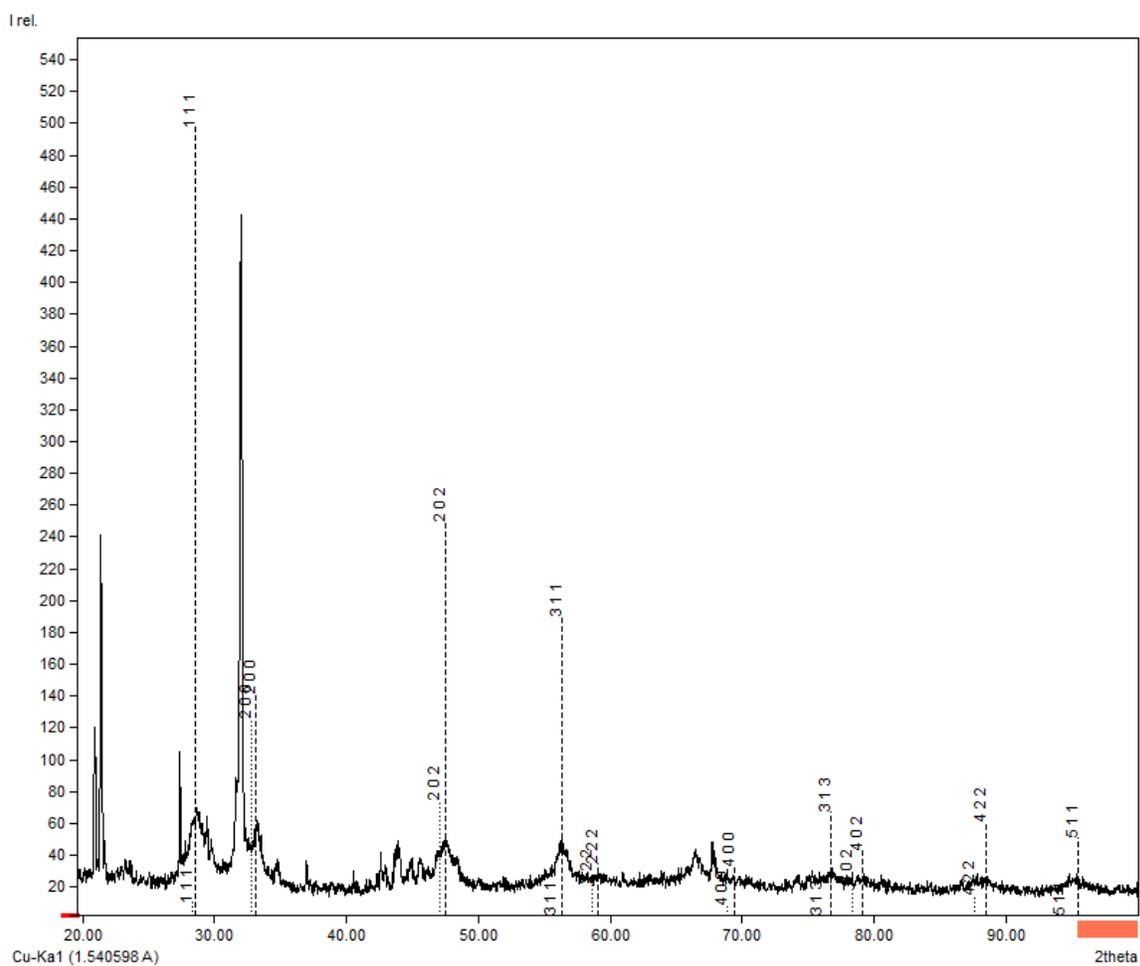
La cantidad de depósitos de cerio sobre el electrodo del SEM fue menor ( $8.77 \pm 1.55^c$  mg) en comparación con los  $15.90 \pm 0.85^b$  mg obtenidos durante la reacción puramente electroquímica. Esto es de esperarse ya que el área del electrodo de trabajo empleada en el SEM fue 50% menor, lo que es correspondiente a la diferencia de masa depositada sobre el electrodo, que fue 55% menor. En el caso del SEM, el producto precipitado en el electrolito se depositó en el fondo de la cámara catódica, proceso facilitado por la geometría curva del fondo de la cámara. Gracias a lo anterior fue posible retirar el electrolito sin perturbar el producto depositado en la parte inferior, el cual fue posteriormente recuperado, centrifugado para retirar el exceso de humedad y secado en

estufa a 105°C. De esta manera se encontró que la masa de depósitos de cerio obtenidos en el electrolito fue de  $94.70 \pm 4.21$  mg, sumando un total de  $103.47 \pm 5.75$  mg de producto recuperado. Los depósitos obtenidos sobre la superficie del electrodo fueron mezclados en partes iguales y sometidos a difracción de rayos X (Figura 3.17), donde se observó presencia de  $\text{CeO}_2$  (ceranita [COD-Inorg 96-900-9009]) y NaCl (halita [COD-Inorg 96-434-3162]), con estructura cristalina cúbica tipo fluorita [272, 273]. El perfil de difracción obtenido fue muy similar a los perfiles reportados en el apartado 3.2, indicando que existe repetitividad de la reacción en las diferentes condiciones empleadas en este trabajo. Lo mismo se observó en los difractogramas obtenidos de los precipitados, los cuales se muestran en las Figuras 3.18 y 3.19.

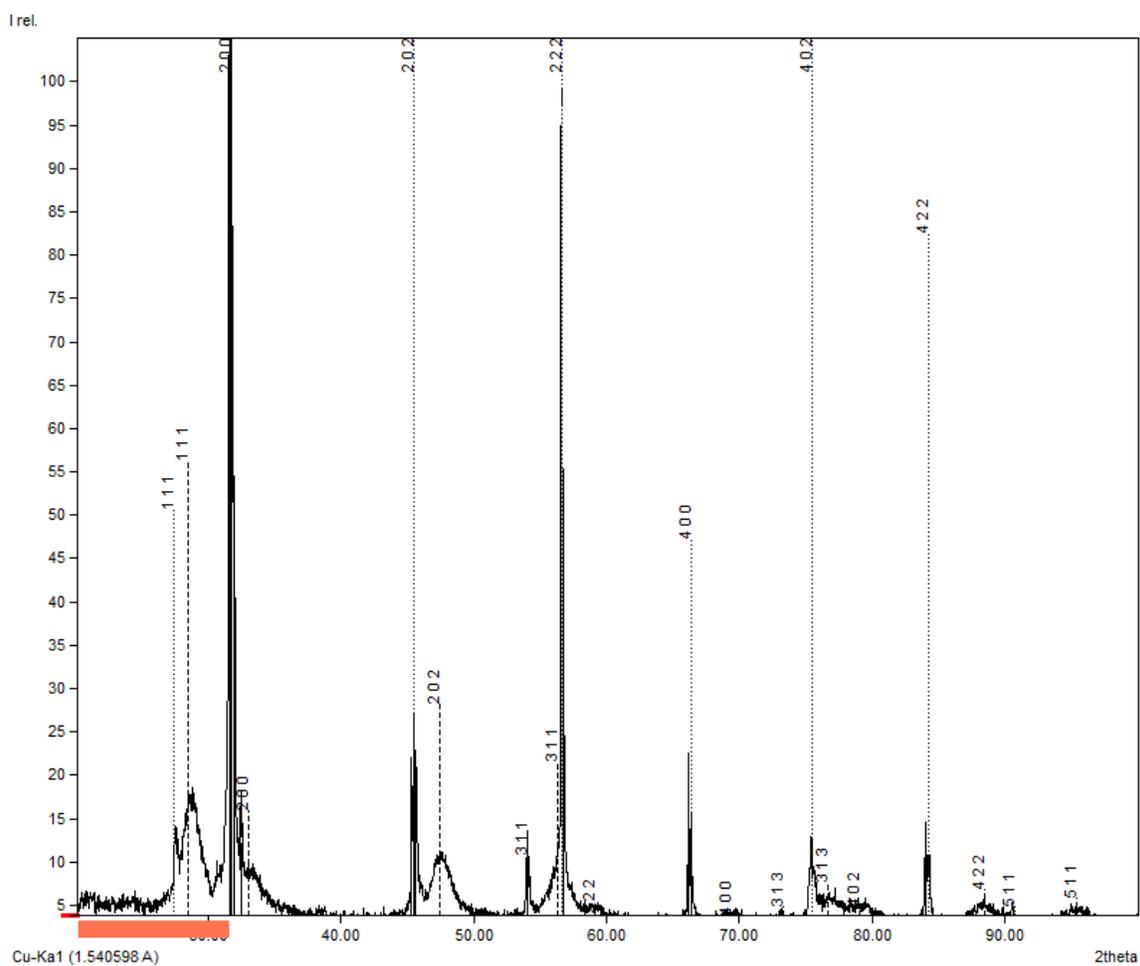
Los depósitos de cerio obtenidos sobre el electrodo y precipitados en el electrolito se sometieron a espectroscopía de dispersión de rayos X (EDX), donde se encontró que los elementos presentes en el material fueron Ce, O, Na y Cl. Los porcentajes detectados para cada elemento se resumen en la Tabla 3.16. Como ahí se observa, el porcentaje de Ce fue del  $50.11 \pm 1.30\%^a$  en el depósito obtenido sobre la placa de acero inoxidable y de  $52.39 \pm 3.30\%^a$  en el precipitado acumulado en el fondo de la cámara catódica, lo que corresponde a  $4.39 \pm 0.79$  y  $49.61 \pm 3.83$  mg de cerio respectivamente, haciendo un total de  $53.02 \pm 3.39$  mg de cerio recuperados en el sistema electroquímico microbiano, empleando una corriente catódica de  $2.5 \text{ A m}^{-2}$  durante 48 h. Esto es equivalente a un  $28.34 \pm 1.81\%$  de recuperación de cerio en fase sólida, con respecto a la masa total de cerio disuelta en el electrolito al inicio de la reacción (187.08 mg en 445 mL de electrolito), donde un  $8.28 \pm 1.48\%$  se recuperó sobre el electrodo y un  $93.56 \pm 7.22\%$  como precipitado en el electrolito. Contrario a lo esperado, la mayor cantidad de cerio se recuperó como  $\text{CeO}_2$  sedimentado en el fondo de la cámara catódica, y no como depósito sobre la placa. En la Figura 3.20 se muestra una fotografía de dicho precipitado.



**Figura 3.17.** Difractograma de rayos X realizada a los depósitos obtenidos sobre el electrodo de trabajo (Reacción F, G y H). Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].



**Figura 3.18.** Difractograma de rayos X de los depósitos de cerio precipitados en el electrolito (reacción F). Línea de guiones: patrón de difracción de  $\text{CeO}_2$  [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de  $\text{NaCl}$  [COD-Inorg 96-434-3162].



**Figura 3.19.** Difractograma de rayos X de los depósitos de cerio precipitados en el electrolito (reacción G). Línea de guiones: patrón de difracción de CeO<sub>2</sub> [COD-Inorg 96-900-9009]. Línea de puntos: patrón de difracción de NaCl [COD-Inorg 96-434-3162].

**Tabla 3.16. Composición elemental por espectroscopia de difracción de rayos X (EDX) de los depósitos de Ce obtenidos por generación electroquímica de bases en un SEM en condiciones salobres.**

Elemento	Depósito obtenido sobre la placa	Precipitado obtenido en el electrolito
Ce	$50.11 \pm 1.30\%^a$	$52.39 \pm 3.30\%^a$
O	$24.34 \pm 0.84\%^a$	$25.38 \pm 2.22\%^a$
Na	$12.94 \pm 1.26\%^a$	$11.57 \pm 2.96\%^a$
Cl	$12.61 \pm 0.07\%^a$	$10.66 \pm 2.34\%^a$



**Figura 3.20.** Precipitado obtenido en la cámara catódica del sistema electroquímico microbiano.

El porcentaje de recuperación de cerio ( $28.34 \pm 1.81\%$ ) fue inferior al porcentaje de recuperación de cadmio en una CEM ( $0.5 - 0.7$  V) reportado por Wang *et al.*, [276], que fue de hasta  $46.6 \pm 1.3\%$ . En nuestro caso, la vía de recuperación de cerio fue mediante la generación electroquímica de bases, y no por reducción directa como en el reporte mencionado; aunque en dicho trabajo se presume que la precipitación de cadmio se da solo por reducción directa, debido a la concomitante evolución de hidrógeno observada, es probable que su precipitación también haya ocurrido por ambas vías. De igual forma, la

tasa de recuperación reportada por Wang *et al.* [276] fue mayor que en este trabajo, siendo de  $5.27 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  y  $2.43 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , respectivamente. Dicha diferencia en el desempeño puede deberse a que nuestro sistema se operó por lotes y no con alimentación continua.

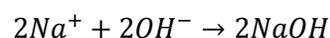
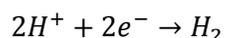
En otro trabajo, Luo *et al.*, [186] emplearon una CEM para la remoción de Cu, Ni y Zn, aplicando un potencial de 1 V; después de 48 h de operación la remoción de metales alcanzada fue de entre 45 y 95%, siendo el porcentaje de remoción inversamente proporcional al potencial de reducción de los metales en cuestión ( $+0.342 \text{ V/EEH Cu}$ ,  $-0.257 \text{ V/EEH Ni}$  y  $-0.447 \text{ V/EEH Fe}$ ) [187], lo que explicaría por qué el porcentaje de recuperación de cerio ( $-2.34 \text{ V/EEH}$ ) [187] en nuestro sistema fue bajo en comparación con la literatura. Este mismo comportamiento fue observado por Modin *et al.*, [32] en una CEM para la recuperación de Cu, Pb, Cd y Zn, con porcentajes de remoción de entre 44 y 84%, aplicando entre 0.34 y 1.70 V. Curiosamente, Luo *et al.*, [186] observaron que el Cu y Ni se recuperaron en su forma elemental, mientras que el Fe en forma de óxidos, indicando que a menor potencial de reducción es más probable obtener precipitados metálicos en forma de óxidos e hidróxidos por la generación catódica de iones hidroxilo, además de la recuperación por reducción a su forma elemental. De esta manera, no sorprende que elementos como el Cu, Ni y Fe se recuperen por ambas vías, cosa que no sería posible para el caso del Ce.

Pozo *et al.*, [281] emplearon una celda de electrólisis electroquímica para generar alcalinidad por vía catódica, la cual se utilizó para la precipitación de metales disueltos en residuos líquidos ácidos derivados de la industria minera, en un reactor de 1.7 L con recirculación a la cámara catódica (300 mL). Como donador de electrones emplearon sulfuro en la cámara anódica y aplicaron un potencial de 1.7 V ( $4.5 \text{ A m}^{-2}$ ). Como resultado, obtuvieron una remoción de Al, Zn, Cu, As y Cr del 100%, así como entre 91 y 99% de Fe, Mg, Mn, Ni, Co, Pb y Cd, al elevar el pH de 2.7 a 7.3, operando la celda y el reactor en continuo durante 17 días; cabe mencionar que los porcentajes de remoción decrecieron hasta un 50% al operar la celda bajo un régimen de alimentación por lotes, valores más cercanos a los aquí reportados. Aunque el porcentaje de remoción fue inferior en comparación con Pozo [281], la tasa de recuperación de cerio ( $2.43 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) se encuentra dentro del rango de recuperación de metales reportado ( $1.92 - 7.46 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Interesantemente, en dicho trabajo se encontró precipitación concomitante de ETR e

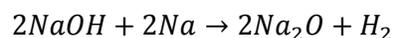
Ytrio en el reactor para la precipitación alcalina de metales, sin embargo, no se reportan porcentajes ni tasas de remoción de estos elementos.

Por otro lado, al comparar los resultados la EDX (Tabla 3.16) con la DRX, se observa una discrepancia si se considera solo la presencia de  $\text{CeO}_2$  y  $\text{NaCl}$  en la muestra. La composición porcentual del  $\text{CeO}_2$  es de 81.41% Ce y 18.59%, mientras que la del  $\text{NaCl}$  es de 39.66% de Na y 60.34% de Cl. En contraste, los resultados del EDX indican que la proporción de Ce y O en el depósito de la placa fueron de  $67.30\% \pm 1.26\%$  y  $32.70\% \pm 1.26\%$ , mientras que en el precipitado fueron de  $67.38\% \pm 1.18\%$  y  $32.62\% \pm 1.18\%$ , respectivamente, mostrando un excedente de oxígeno. Con respecto a la proporción de Na y Cl, estas fueron de  $50.60\% \pm 1.59\%$  y  $49.40\% \pm 1.59\%$  en el depósito obtenido sobre la placa y de  $51.87\% \pm 1.88\%$  y  $48.13\% \pm 1.88\%$ , respectivamente, indicando que existe un exceso de sodio.

Como se observa en la Figura 3.21, la formación de hidróxido de sodio es susceptible de ocurrir en la cámara catódica. Cabe destacar que las condiciones de reacción en la cámara catódica del SEM son similares a las empleadas en el proceso industrial para la generación de hidróxido de sodio por vía electroquímica, donde esta última se produce catódicamente a partir de salmuera, siguiendo las reacciones [282]:

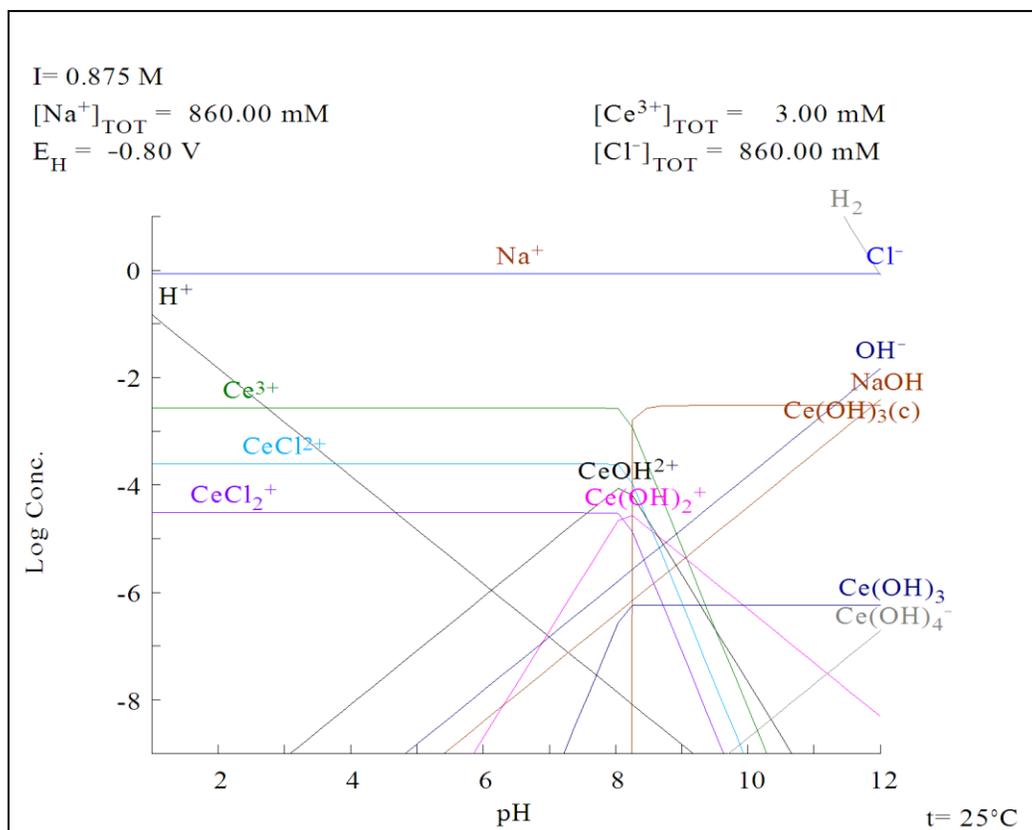


El hidróxido de sodio formado, puede reaccionar químicamente con más sodio, para producir óxido de sodio e hidrógeno molecular [283].



Por otro lado, desde 1930, se demostró que en sistemas electroquímicos acuosos que emplean  $\text{NaCl}$  es posible obtener hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno por vía catódica de forma concomitante al aplicar densidades de corriente elevadas ( $1000 \text{ A m}^{-2}$ ) [284], fenómeno que es más probable ocurriese en el sistema presentado en este trabajo. Como se mencionó en el apartado 3.2.1. en referencia a las especies de cerio, es probable que la formación de óxidos metálicos pudiera darse mediante la reacción de hidróxidos metálicos con el peróxido de hidrógeno generado por vía catódica [274],

formando así óxidos de sodio a partir de los hidróxidos de sodio generados por vía electroquímica. Por otro lado, resulta interesante que en la producción de sosa cáustica y peróxido de hidrógeno, se produce la precipitación de peróxido de sodio [284], el cual puede ser subsecuentemente oxidado a óxidos de sodio durante el secado [283].

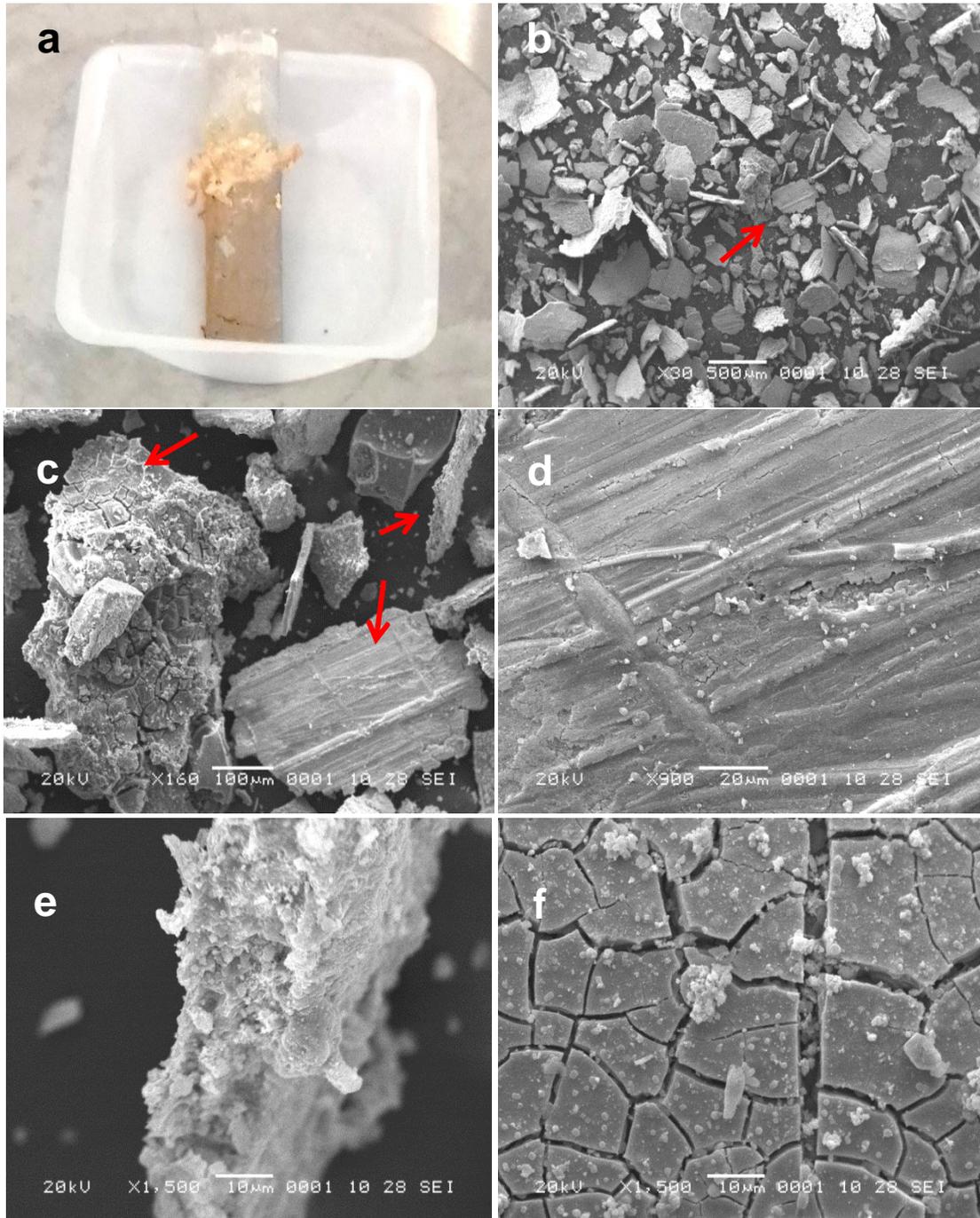


**Figura 3.21.** Diagrama de concentraciones de las especies químicas presentes en el catolito del SEM para la recuperación de cerio en condiciones salobres.

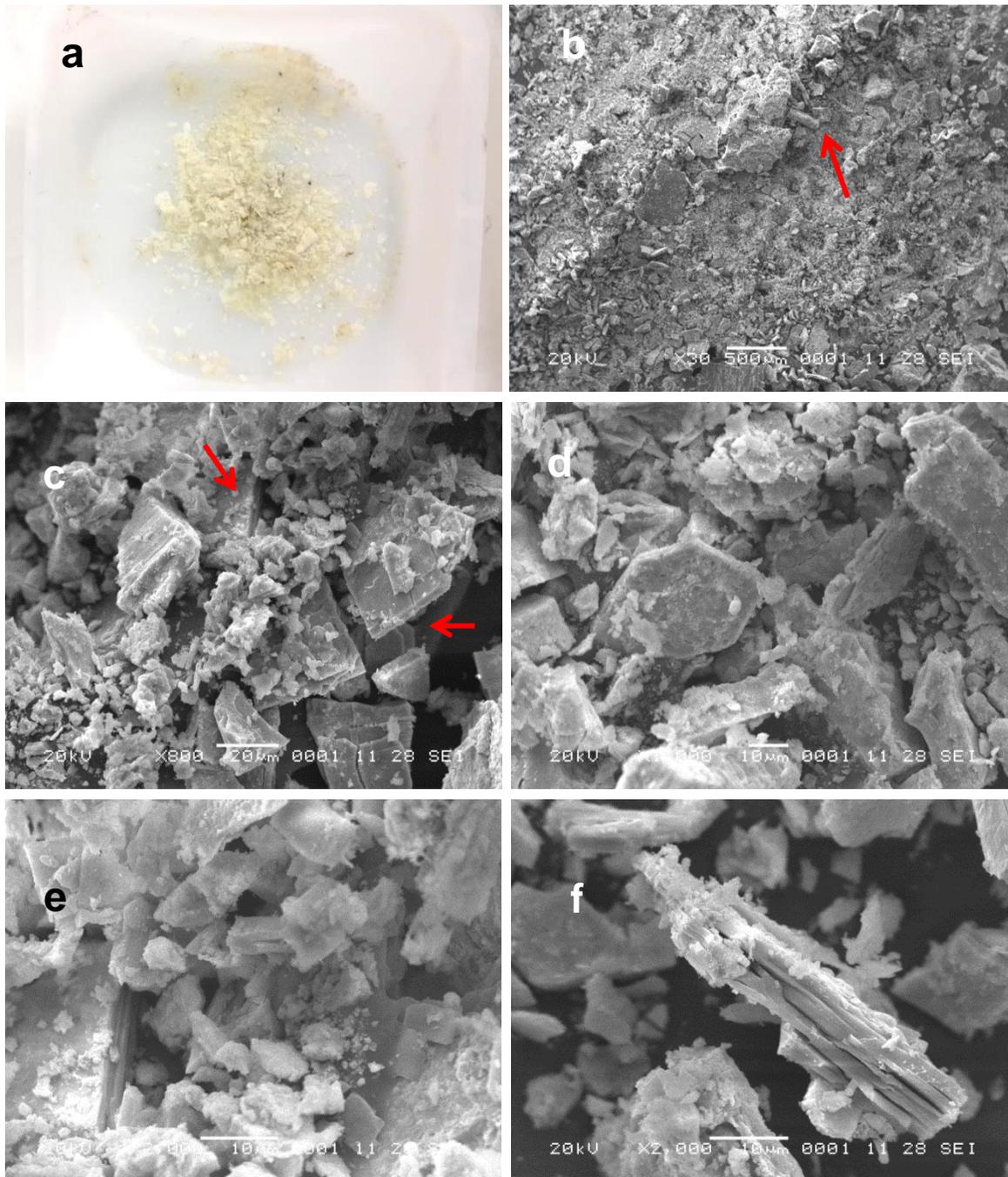
De esta manera, el excedente de Na y O encontrado mediante el análisis de los resultados del EDX se puede deber a la presencia de óxidos de sodio, probablemente en fase amorfa [276], ya que el perfil de los DRX obtenidos no mostró concordancia con los perfiles de  $\text{Na}_2\text{O}$  cristalino disponibles en la base de datos abierta de cristalografía (COD Database).

Las microscopías electrónicas de barrido realizadas a las muestras de los depósitos recuperados sobre el electrodo, así como precipitados en el electrolito, se muestran en las Figuras 3.22 y 3.23. Los precipitados mostraron aspecto de hojuelas, característicos de la precipitación de especies metálicas como hidróxido, y el cuál no se observa al recuperar especies metálicas en su forma elemental [186]. Adicionalmente, se observaron agregados de microcristales (Figuras 3.22e, 3.22f, 3.23e y 3.23f) de aproximadamente de 2 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho, muy similares a los depósitos de  $\text{CeO}_2$  obtenidos por generación electroquímica de bases reportados en la literatura [205, 210].

Hachiya y colaboradores [285], sintetizaron cátodos para la obtención de hidróxidos de sodio por el proceso cloro-álcali, empleando una mezcla de  $\text{RuCl}_3$  y  $\text{CeCl}_3$  soportada sobre una malla de Ni, incinerada a  $550^\circ\text{C}$  durante 10 min para la obtención de  $\text{RuO}_2$  y  $\text{CeO}_2$ . Las micrografías electrónicas del cátodo muestran una morfología similar a la observada en la Figura 3.22f, pero sin la presencia de microcristales, los cuales aparecieron después de 30 días de emplear el cátodo en una celda electrolítica con altas densidades de corriente ( $6000 \text{ A m}^{-2}$ ), y que fueron similares a las observadas en este trabajo. Hachiya encontró que la morfología del  $\text{CeO}_2$  cambia al aplicar corriente durante tiempo prolongado, donde después de 180 días se obtienen cristales en forma de aguja, formados aparentemente por múltiples capas superpuestas, muy similares a las que se observan en las láminas de la Figura 3.22d y 3.23c.



**Figura 3.22.** Microscopía electrónica de barrido de depósitos de cerio sobre el cátodo del SEM en condiciones salobres. a) Depósito obtenido sobre electrodo de acero inoxidable; b, c, d, e, f): microscopía electrónica de barrido del depósito con diferentes magnificaciones. Las flechas señalan los sitios de magnificación.



**Figura 3.23.** Microscopía electrónica de barrido de precipitados de cerio obtenidos como en el electrolito del SEM en condiciones salobres a): Depósito obtenido sobre electrodo de acero inoxidable; b, c, d, e, f) microscopía electrónica de barrido del depósito con diferentes magnificaciones. Las flechas señalan los sitios de magnificación.



## CONCLUSIONES

El potencial de polarización aplicado durante el desarrollo de los bioánodos halotolerantes a partir de sedimentos de la laguna salobre Las coloradas no tiene un efecto importante sobre la densidad de corriente máxima entregada por cronoamperometría, ya que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos; las densidades de corriente máxima fueron de  $1.67 \pm 0.67^a$  y  $1.72 \pm 0.58^a$  A m<sup>-2</sup>, al aplicar +0.340 V/EEH y -0.160 V/EEH, respectivamente. El mismo efecto se observó en la densidad de corriente máxima entregada por voltamperometría, que fue de  $5.27 \pm 3.38^a$  y  $4.99 \pm 1.60^a$  A m<sup>-2</sup>, respectivamente. Sin embargo, el potencial negativo (-0.160 V/EEH) promovió una fase de adaptación más corta (3 días) así como una mayor velocidad de entrega de corriente a bajos sobrepotenciales (0 – 0.2 V) durante las voltamperometrías lineales, en comparación con el potencial positivo (+0.340 V/EEH). Este último presentó una fase de adaptación más prolongada (5 días) y la velocidad de entrega de corriente al aplicar entre 0 y 0.2 V de sobrepotencial fue hasta 10 veces menor en comparación con el potencial negativo. Por otro lado, la polarización a +0.340 V/EEH durante 21 días promovió un mayor porcentaje remoción de DQO en el electrolito ( $66.12 \pm 8.03^a\%$ ) en comparación con el potencial negativo (-0.160 V/EEH,  $46.66 \pm 9.10^b\%$ ).

Con base en los resultados obtenidos, se determinó posible obtener óxidos de cerio depositados sobre un electrodo de acero inoxidable y en el electrolito empleando una corriente catódica de  $-2.5$  A m<sup>-2</sup> en un sistema electroquímico microbiano operado bajo condiciones salobres y con un bioánodo halotolerante, donde la demanda energética es menor (0.6 a 1.2 V) si se le compara con el mismo sistema en condiciones abióticas (1.9 V).

## PERSPECTIVAS

Las voltamperometrías realizadas sobre los bioánodos halotolerantes maduros indican que se presentan perfiles de oxidación similares independientemente del potencial aplicado, por lo que sería interesante evaluar las diferencias o similitudes entre las comunidades microbianas de cada bioánodo y del sedimento empleado como inóculo mediante la secuenciación del gen para el ARNr 16S así como el análisis de la primera derivada de las voltamperometrías cíclicas realizadas. De igual manera, sería conveniente estudiar el desempeño de los bioánodos por tiempos superiores a 21 días y con un régimen de alimentación continuo [209, 286].

En el futuro, sería interesante evaluar si la recuperación de cerio en el sistema electroquímico microbiano aumenta con la operación en continuo por tiempos prolongados, tal y como se ha reportado para otros sistemas [186, 238, 281].

## REFERENCIAS

1. Pimentel, D. and M. Pimentel, *Global environmental resources versus world population growth*. Ecological Economics, 2006. **59**(2): p. 195-198.
2. Shafiee, S. and E. Topal, *When will fossil fuel reserves be diminished?* Energy Policy, 2009. **37**(1): p. 181-189.
3. Sleutels, T.H.J.A., et al., *Bioelectrochemical Systems: An Outlook for Practical Applications*. ChemSusChem, 2012. **5**(6): p. 1012-1019.
4. Heijne, A.T., et al., *Copper recovery combined with electricity production in a microbial fuel cell*. Environ Sci Technol, 2010. **44**(11): p. 4376-81.
5. Ter Heijne, A., H.V. Hamelers, and C.J. Buisman, *Microbial fuel cell operation with continuous biological ferrous iron oxidation of the catholyte*. Environ Sci Technol, 2007. **41**(11): p. 4130-4.
6. Ter Heijne, A., et al., *A bipolar membrane combined with ferric iron reduction as an efficient cathode system in microbial fuel cells*. Environ. Sci. Technol., 2006. **40**: p. 5200-5205.
7. Rhoads, A., H. Beyenal, and Z. Lewandowski, *Microbial fuel cell using anaerobic respiration as an anodic reaction and biomineralized manganese as a cathodic reactant*. Environ Sci Technol, 2005. **39**(12): p. 4666-71.
8. Wang, H. and Z.J. Ren, *Bioelectrochemical metal recovery from wastewater: A review*. Water Research, 2014. **66**(0): p. 219-232.
9. Dominguez-Benetton, X., et al., *Metal recovery by microbial electro-metallurgy*. Progress in Materials Science, 2018. **94**: p. 435-461.
10. Dehaine, Q. and L.O. Filippov, *Rare earth (La, Ce, Nd) and rare metals (Sn, Nb, W) as by-product of kaolin production, Cornwall: Part1: Selection and characterisation of the valuable stream*. Minerals Engineering, 2015. **76**(0): p. 141-153.
11. Hein, J., *Prospects for Rare Earth Elements From Marine Minerals*, 2012, International Seabed Authority: New York. p. 4.
12. Hein, J.R., et al., *Deep-ocean mineral deposits as a source of critical metals for high- and green-technology applications: Comparison with land-based resources*. Ore Geology Reviews, 2013. **51**: p. 1-14.

13. Das, N. and D. Das, *Recovery of rare earth metals through biosorption: An overview*. Journal of Rare Earths, 2013. **31**(10): p. 933-943.
14. Kato, Y., et al., *Deep-sea mud in the Pacific Ocean as a potential resource for rare-earth elements*. Nature Geosci, 2011. **4**(8): p. 535-539.
15. Papavasileiou, K., *Near future REE resources for Europe - The new frontier of marine exploration, mining and processing*, in *1st European Rare Earth Resources Conference 2014*: Milos. p. 410 - 427.
16. Estrada Omaña, J.C., *Características granulométricas y geoquímicas de arena de playa de Tecolutla, Veracruz, México: Implicaciones de procedencia y ambientes sedimentarios de depósito*, in *Instituto de 2007*, Universidad Autónoma del estado de Hidalgo: Pachuca de Soto, Hidalgo. p. 128.
17. Rodríguez Figueroa, G.M., *Geoquímica de los oligoelementos, elementos mayores y elementos de las tierras raras, en los sedimentos marinos del distrito minero de Santa Rosalía, B.C.S, México.*, in *Departamento de PCeanología 2004*, Instituto Politécnico Nacional: La Paz, Baja California, México. p. 149.
18. Zereen, F., V. Yilmaz, and Z. Arslan, *Solid phase extraction of rare earth elements in seawater and estuarine water with 4-(2-thiazolylazo) resorcinol immobilized Chromosorb 106 for determination by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Microchemical journal : devoted to the application of microtechniques in all branches of science, 2013. **110**: p. 178-184.
19. Deng, Y., et al., *Rare earth element geochemistry characteristics of seawater and porewater from deep sea in western Pacific*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 16539-16539.
20. Crocket, K.C., et al., *Rare Earth Element Distribution in the NE Atlantic: Evidence for Benthic Sources, Longevity of the Seawater Signal, and Biogeochemical Cycling*. Frontiers in Marine Science, 2018. **5**(147).
21. Osborne, A.H., et al., *Rare earth element distribution in Caribbean seawater: Continental inputs versus lateral transport of distinct REE compositions in subsurface water masses*. Marine Chemistry, 2015. **177**: p. 172-183.
22. Nancharaiah, Y.V., S.V. Mohan, and P.N. Lens, *Biological and Bioelectrochemical Recovery of Critical and Scarce Metals*. Trends Biotechnol, 2016. **34**(2): p. 137-55.

23. Lefebvre, O., et al., *Impact of increasing NaCl concentrations on the performance and community composition of two anaerobic reactors*. Appl Microbiol Biotechnol, 2007. **75**(1): p. 61-9.
24. Lefebvre, O., et al., *Effect of increasing anodic NaCl concentration on microbial fuel cell performance*. Bioresource Technology, 2012. **112**: p. 336-340.
25. Monzon, O., et al., *Microbial fuel cell fed by Barnett Shale produced water: Power production by hypersaline autochthonous bacteria and coupling to a desalination unit*. Biochemical Engineering Journal, 2017. **117**(Part A): p. 87-91.
26. Monzon, O., et al., *Microbial fuel cells under extreme salinity: performance and microbial analysis*. Environmental Chemistry, 2014. **12**(3): p. 293-299.
27. Rousseau, R., et al., *Microbial bioanodes with high salinity tolerance for microbial fuel cells and microbial electrolysis cells*. Electrochemistry Communications, 2013. **33**: p. 1-4.
28. Rousseau, R., et al., *Electrochemical characterization of microbial bioanodes formed on a collector/electrode system in a highly saline electrolyte*. Bioelectrochemistry, 2015. **106, Part A**: p. 97-104.
29. Rousseau, R., et al., *Correlation of the Electrochemical Kinetics of High-Salinity-Tolerant Bioanodes with the Structure and Microbial Composition of the Biofilm*. ChemElectroChem, 2014. **1**(11): p. 1966-1975.
30. Rousseau, R., et al., *Halotolerant bioanodes: The applied potential modulates the electrochemical characteristics, the biofilm structure and the ratio of the two dominant genera*. Bioelectrochemistry, 2016. **112**(Supplement C): p. 24-32.
31. Nancharaiah, Y.V., S. Venkata Mohan, and P.N.L. Lens, *Metals removal and recovery in bioelectrochemical systems: A review*. Bioresource Technology, 2015. **195**: p. 102-114.
32. Modin, O., et al., *Bioelectrochemical recovery of Cu, Pb, Cd, and Zn from dilute solutions*. Journal of Hazardous Materials, 2012. **235–236**: p. 291-297.
33. Yang, L., et al., *Electrodeposition of cerium oxide films and composites*. Surface and Coatings Technology, 2011. **206**(1): p. 1-7.
34. Colantonio, N. and Y. Kim, *Cadmium (II) removal mechanisms in microbial electrolysis cells*. J Hazard Mater, 2016. **311**: p. 134-41.
35. Maes, S., et al., *Concomitant Leaching and Electrochemical Extraction of Rare Earth Elements from Monazite*. Environ Sci Technol, 2017. **51**(3): p. 1654-1661.

36. Bongaarts, J., *Human population growth and the demographic transition*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2009. **364**(1532): p. 2985-2990.
37. Chu, S. and A. Majumdar, *Opportunities and challenges for a sustainable energy future*. Nature, 2012. **488**(7411): p. 294 - 303.
38. EIA. *Energy Information Administration*. 2016 [cited 2010 Agosto]; Available from: <http://www.eia.gov/>.
39. IRENA. *International Renewable Energy Agency*. 2016; Available from: <http://www.irena.org/home/index.aspx?PriMenuID=12&mnu=Pri>.
40. IPCC. *Intergovernmental Panel on Climate Change*. 2014 [cited 2014 Agosto]; Available from: [www.ipcc.ch/](http://www.ipcc.ch/).
41. Mekonnen, M.M. and A.Y. Hoekstra, *Four billion people facing severe water scarcity*. Science Advances, 2016. **2**(2): p. e1500323.
42. Wang, X.-j., et al., *Adaptation to climate change impacts on water demand*. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 2016. **21**(1): p. 81-99.
43. Gordon, R.B., M. Bertram, and T.E. Graedel, *Metal stocks and sustainability*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. **103**(5): p. 1209-1214.
44. Tilton, J.E., *Depletion and the long-run availability of mineral commodities, in Wealth creation in the minerals industry: Integrating science, business, and education.*, M.D. Dogget and J.R. Parry, Editors. 2006, Society of economic geologists. p. 61 - 70.
45. Park, Y.J. and D.J. Fray, *Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards*. Journal of Hazardous Materials, 2009. **164**(2-3): p. 1152-1158.
46. Stamp, A., P.A. Wäger, and S. Hellweg, *Linking energy scenarios with metal demand modeling—The case of indium in CIGS solar cells*. Resources, Conservation and Recycling, 2014. **93**: p. 156-167.
47. Energy, U.S.D.o., *Critical Materials Strategy*, 2011.
48. Commission, E., *Report on Critical Raw Materials for the EU, Report of the Ad hoc Working Group on Defining Critical Raw Materials*, 2014: Bruselas.
49. defense, U.S.D.o., *Strategic and Critical Materials in Report on Stockpile Requirements2013*

50. Massari, S. and M. Ruberti, *Rare earth elements as critical raw materials: Focus on international markets and future strategies*. Resources Policy, 2013. **38**(1): p. 36-43.
51. Doug Palmer, S.M., *WRAPUP 4-US, EU, Japan take on China at WTO over rare earths*, in Reuters2012: Online Article.
52. Xiong, C., et al., *Adsorption of erbium(III) on D113-III resin from aqueous solutions: batch and column studies*. Journal of Rare Earths, 2009. **27**(6): p. 923-931.
53. Maestro, P. and D. Huguenin, *Industrial applications of rare earths: which way for the end of the century*. Journal of Alloys and Compounds, 1995. **225**(1–2): p. 520-528.
54. Morais, C.A. and V.S.T. Ciminelli, *Process development for the recovery of high-grade lanthanum by solvent extraction*. Hydrometallurgy, 2004. **73**(3–4): p. 237-244.
55. Dysinger, D.K. and J.E. Murphy, *Electrowinning of Neodymium From a Molten Oxide-Fluoride Electrolyte*, in *Report of Investigations*, B. Babbit, Editor 1994, UNITED STATES DEPARTMENT OF THE INTERIOR: EUA.
56. Ganjali, M.R., et al., *A novel nano-composite Tb 3+ carbon paste electrode*. Int. J. Electrochem. Sci, 2010. **5**: p. 967-977.
57. Galler, A., L. Pourovskii, and S. Biermann, *Electronic correlations in potential new rare-earth permanent magnet materials*. Bulletin of the American Physical Society, 2019.
58. Kramer, M.J., et al., *Prospects for Non-Rare Earth Permanent Magnets for Traction Motors and Generators*. JOM, 2012. **64**(7): p. 752-763.
59. Olivera, S., et al., *Cerium dioxide and composites for the removal of toxic metal ions*. Environmental Chemistry Letters, 2018. **16**(4): p. 1233-1246.
60. Sendilvelan, S., K. Bhaskar, and D. Nallusamy, *Experimental investigation on cerium oxide nanoparticles with alumina catalytic converter to increase emission conversion efficiency in automobiles*. Vol. 10. 2017. 454-460.
61. Xie, Y., J. Tan, and M. Hu, *Application of Nanotechnology in Post-treatment of Automobile Tail Gas Nitrogen Oxides*. 2017.
62. Kamal, M.S., S.A. Razzak, and M.M. Hossain, *Catalytic oxidation of volatile organic compounds (VOCs) – A review*. Atmospheric Environment, 2016. **140**: p. 117-134.

63. Salehi, M. and Z. Shariatinia, *Synthesis of star-like MnO<sub>2</sub>-CeO<sub>2</sub>/CNT composite as an efficient cathode catalyst applied in lithium-oxygen batteries*. *Electrochimica Acta*, 2016. **222**: p. 821-829.
64. Jiang, Y., et al., *In-Situ Growth of CeO<sub>2</sub> Nanoparticles on N-doped Reduced Graphene Oxide for Anchoring Li<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Formation in Lithium-Oxygen Batteries*. *Electrochimica Acta*, 2016. **210**: p. 712-719.
65. Shaikh, S.P.S., A. Muchtar, and M.R. Somalu, *A review on the selection of anode materials for solid-oxide fuel cells*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015. **51**: p. 1-8.
66. Lai, Y.-S. and Y.-H. Su, *Photon-Induced Spintronic Polaron Channel Modulator of CeO<sub>2-x</sub> NP Thin Films Hydrogen Evolution Cells*. *Advanced Electronic Materials*, 2019. **5**(1): p. 1800570.
67. Shibli, S. and M.A. Sha, *Development and characterization of electro active CeO<sub>2</sub>-RuO<sub>2</sub> mixed oxide and its role in alkaline hydrogen evolution reaction*. *Journal of Alloys and Compounds*, 2018. **749**: p. 250-261.
68. Gao, W., et al., *Modulating electronic structure of CoP electrocatalysts towards enhanced hydrogen evolution by Ce chemical doping in both acidic and basic media*. *Nano Energy*, 2017. **38**: p. 290-296.
69. Xu, F., et al., *A new cathode using CeO<sub>2</sub>/MWNT for hydrogen peroxide synthesis through a fuel cell*. *Journal of Rare Earths*, 2009. **27**(1): p. 128-133.
70. Yu, L., et al., *Preparation for CeO<sub>2</sub>/nanographite composite materials and electrochemical degradation of phenol by CeO<sub>2</sub>/nanographite cathodes*. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2015. **15**(7): p. 4920-4925.
71. Pushkar, P., et al., *Effect of cerium oxide nanoparticles coating on the electrodes of benthic microbial fuel cell*. *Separation Science and Technology*, 2019. **54**(2): p. 213-223.
72. Rajeshkumar, S. and P. Naik, *Synthesis and biomedical applications of Cerium oxide nanoparticles – A Review*. *Biotechnology Reports*, 2018. **17**: p. 1-5.
73. Nourmohammadi, E., et al., *Evaluation of anticancer effects of cerium oxide nanoparticles on mouse fibrosarcoma cell line*. *Journal of Cellular Physiology*, 2019. **234**(4): p. 4987-4996.
74. Dhall, A. and W. Self, *Cerium Oxide Nanoparticles: A Brief Review of Their Synthesis Methods and Biomedical Applications*. *Antioxidants*, 2018. **7**(8): p. 97.

75. Sahin, B. and T. Kaya, *Electrochemical amperometric biosensor applications of nanostructured metal oxides: a review*. Materials Research Express, 2019. **6**(4): p. 042003.
76. Bell, J., et al., *EU ambition to build the world's leading bioeconomy-Uncertain times demand innovative and sustainable solutions*. N Biotechnol, 2018. **40**(Pt A): p. 25-30.
77. Ninawe, G., et al., *Utilization of bioresources for sustainable biofuels: A Review*. Vol. 73. 2017. 205-214.
78. Caldera, U., D. Bogdanov, and C. Breyer, *Local cost of seawater RO desalination based on solar PV and wind energy: A global estimate*. Vol. 385. 2016. 207-216.
79. ISA, *Marine mineral resources: Scientific advances and economic perspectives*. 2004: United Nations. 126.
80. Brown, M., *Rare Earth Elements: Deep Sea Mining and the Law of the Sea*, M. Brown, Editor 2014, Three Dimensional Thinking.
81. Zhuang, W.-Q., et al., *Recovery of critical metals using biometallurgy*. Current Opinion in Biotechnology, 2015. **33**: p. 327-335.
82. Kudrass, H., *Placer Deposits*, in *Encyclopedia of Marine Geosciences*, J. Harff, et al., Editors. 2013, Springer Netherlands: Dordrecht. p. 1-2.
83. Survey, U.S.G. 2016; Available from: <https://www.usgs.gov/>.
84. Castor, S.B., *Rare Earth Deposits of North America*. Resource Geology, 2008. **58**(4): p. 337-347.
85. Carranza-Edwards, A., *Grain Size and Sorting in Modern Beach Sands*. Journal of Coastal Research, 2001. **17**(1): p. 38-52.
86. Carranza-Edwards, A., et al., *Provenance of beach gray sands from western México*. Journal of South American Earth Sciences, 2001. **14**(3): p. 291-305.
87. Jordens, A., Y.P. Cheng, and K.E. Waters, *A review of the beneficiation of rare earth element bearing minerals*. Minerals Engineering, 2013. **41**: p. 97-114.
88. USEPA. *US Environmental Protection Agency*. 2014 [cited 2014 Agosto]; Available from: <http://www.epa.gov/>.
89. Jha, M.K., et al., *Review on hydrometallurgical recovery of rare earth metals*. Hydrometallurgy, 2016. **161**: p. 77.
90. Xie, F., et al., *A critical review on solvent extraction of rare earths from aqueous solutions*. Minerals Engineering, 2014. **56**: p. 10-28.

91. Fabbri, C., et al., *Microbial mobilization of rare earth elements (REE) from mineral solids—A mini review*. AIMS Microbiology, 2016. **3**(2): p. 190-204.
92. Işıldar, A., et al., *Biotechnological strategies for the recovery of valuable and critical raw materials from waste electrical and electronic equipment (WEEE) – A review*. Journal of Hazardous Materials, 2019. **362**: p. 467-481.
93. Gadd, G.M. and X. Pan, *Biomining, bioremediation and biorecovery of toxic metals and radionuclides*, 2016, Taylor & Francis.
94. Brandl, H. and M.A. Faramarzi, *Microbe-metal-interactions for the biotechnological treatment of metal-containing solid waste*. China Particuology, 2006. **4**(2): p. 93-97.
95. Gussemé, B.D., et al., *Virus removal by biogenic cerium*. Environmental science & technology, 2010. **44**(16): p. 6350-6356.
96. Logan, B.E. and K. Rabaey, *Conversion of Wastes into Bioelectricity and Chemicals by Using Microbial Electrochemical Technologies*. Science, 2012. **337**(6095): p. 686-690.
97. González-Gamboa, N.K., *Evaluación de sedimentos procedentes de la Ciénaga de Puerto Progreso y Puerto de Abrigo de Yucalpetén en celdas de combustible microbianas de sedimentos.*, in *Unidad de Energía Renovable 2013*, Centro de Investigación Científica de Yucatán: Mérida, Yucataán. p. 96.
98. Logan, B.E., *Microbial fuel cells*. 2008, Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience.
99. Logan, B., *Microbial fuel cells: methodology and technology*. Environ. Sci. Technol., 2006. **40**: p. 5181-5192.
100. Logan, B.E., *Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter*. Environ. Sci. Technol., 2008. **42**: p. 8630-8640.
101. Logan, B.E., *Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells*. Nature Rev. Microbiol., 2009. **7**: p. 375-381.
102. Li, W.-W., et al., *Recent advances in the separators for microbial fuel cells*. Bioresource Technology, 2011. **102**(1): p. 244-252.
103. Logan, B.E. and J.M. Regan, *Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells*. Trends in Microbiology, 2006. **14**(12): p. 512-518.
104. Madigan, M.T., J.M. Martinko, and P. J., *Brock, Biología de los microorganismos*. 10a ed. 2006: Prentice-Hall.

105. Venkata Mohan, S., et al., *Microbial fuel cell: Critical factors regulating biocatalyzed electrochemical process and recent advancements*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014. **40**: p. 779-797.
106. Rabaey, K. and R.A. Rozendal, *Microbial electrosynthesis — revisiting the electrical route for microbial production*. Nat Rev Micro, 2010. **8**(10): p. 706-716.
107. Schroder, U., *Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency*. Phys Chem Chem Phys, 2007. **9**(21): p. 2619-29.
108. Rittmann, B.E. and P.L. McCarty, *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, 2001, McGraw hill
109. Clauwaert, P., *Biological denitrification driven by microbial fuel cells*. Environ. Sci. Technol., 2007. **41**: p. 3354-3360.
110. Varia, J., et al., *Bioelectrochemical metal remediation and recovery of Au 3+, Co 2+ and Fe 3+ metal ions*. Electrochimica Acta, 2013. **95**: p. 125-131.
111. Liu, H., S. Cheng, and B.E. Logan, *Power Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cells as a Function of Ionic Strength, Temperature, and Reactor Configuration*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(14): p. 5488-5493.
112. Liu, H., R. Ramnarayanan, and B.E. Logan, *Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell*. Environ. Sci. Technol., 2004. **38**: p. 2281-2285.
113. Mohan, Y. and D. Das, *Effect of ionic strength, cation exchanger and inoculum age on the performance of Microbial Fuel Cells*. International Journal of Hydrogen Energy, 2009. **34**(17): p. 7542-7546.
114. Miyahara, M., A. Kouzuma, and K. Watanabe, *Effects of NaCl concentration on anode microbes in microbial fuel cells*. AMB Express, 2015. **5**(1): p. 123.
115. Nevin, K.P., et al., *Anaerobes unleashed: Aerobic fuel cells of Geobacter sulfurreducens*. Journal of Power Sources, 2011. **196**(18): p. 7514-7518.
116. Oren, A., *Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity*. Saline Systems, 2008. **4**: p. 2-2.
117. Oren, A., *Life at High Salt Concentrations*, in *The Prokaryotes: Prokaryotic Communities and Ecophysiology*, E. Rosenberg, et al., Editors. 2013, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 421-440.
118. Reimers, C.E., et al., *Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep*. Geobiology, 2006. **4**(2): p. 123-136.

119. Reimers, C.E., et al., *Harvesting energy from the marine sediment--water interface*. Environ Sci Technol, 2001. **35**(1): p. 192-5.
120. Reimers, C.E., et al., *Substrate Degradation Kinetics, Microbial Diversity, and Current Efficiency of Microbial Fuel Cells Supplied with Marine Plankton* Appl Environ Microbiol, 2007. **73**(21): p. 7029 - 7040.
121. Karthikeyan, R., et al., *Influence of ionic conductivity in bioelectricity production from saline domestic sewage sludge in microbial fuel cells*. Bioresour Technol, 2016. **200**: p. 845-52.
122. Shimoyama, T., et al., *Phylogenetic analyses of bacterial communities developed in a cassette-electrode microbial fuel cell*. Microbes Environ, 2009. **24**(2): p. 188-92.
123. Ishii, S.i., et al., *Characterization of a filamentous biofilm community established in a cellulose-fed microbial fuel cell*. BMC Microbiology, 2008. **8**: p. 6-6.
124. Doyle, L.E. and E. Marsili, *Weak electricigens: A new avenue for bioelectrochemical research*. Bioresour Technol, 2018. **258**: p. 354-364.
125. Ishii, S., et al., *Functionally stable and phylogenetically diverse microbial enrichments from microbial fuel cells during wastewater treatment*. PLoS One, 2012. **7**(2): p. e30495.
126. Logan, B.E., et al., *Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems*. Nature Reviews Microbiology, 2019. **17**(5): p. 307-319.
127. Lovley, D.R., *Electromicrobiology*. Annu Rev Microbiol, 2012. **66**: p. 391-409.
128. Rabaey, K., *Microbial ecology meets electrochemistry: electricity-driven and driving communities*. ISME J., 2007. **1**: p. 9-18.
129. Lovley, D.R., *Bug juice: harvesting electricity with microorganisms*. Nature Rev. Microbiol., 2006. **4**: p. 497-508.
130. Lovley, D.R., *The microbe electric: conversion of organic matter to electricity*. Curr. Opin. Biotechnol., 2008. **19**: p. 564-571.
131. Ishii, S.i., et al., *Comparison of Electrode Reduction Activities of Geobacter sulfurreducens and an Enriched Consortium in an Air-Cathode Microbial Fuel Cell*. Applied and Environmental Microbiology, 2008. **74**(23): p. 7348-7355.
132. Zhang, H., et al., *Phylogenetic and Metagenomic Analyses of Substrate-Dependent Bacterial Temporal Dynamics in Microbial Fuel Cells*. PLoS ONE, 2014. **9**(9): p. e107460.

133. Bond, D.R., et al., *Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments*. Science, 2002. **295**(5554): p. 483-5.
134. Holmes, D.E., et al., *Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments*. Microb Ecol, 2004. **48**(2): p. 178-90.
135. Vandecandelaere, I., et al., *Bacterial diversity of the cultivable fraction of a marine electroactive biofilm*. Bioelectrochemistry, 2010. **78**(1): p. 62-6.
136. Sánchez-Herrera, D., et al., *Characterization of anode and anolyte community growth and the impact of impedance in a microbial fuel cell*. BMC Biotechnol, 2014. **14**: p. 102.
137. Lovley, D.R., *Bug juice: harvesting electricity with microorganisms*. Nat Rev Microbiol, 2006. **4**(7): p. 497-508.
138. Lovley, D.R., D.E. Holmes, and K.P. Nevin, *Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction*, in *Advances in Microbial Physiology*. 2004, Academic Press. p. 219-286.
139. Bond, D.R. and D.R. Lovley, *Electricity production by Geobacter sulfurreducens attached to electrodes*. Appl. Environ. Microbiol., 2003. **69**: p. 1548-1555.
140. Holmes, D.E., D.R. Bond, and D.R. Lovley, *Electron Transfer by Desulfobulbus propionicus to Fe(III) and Graphite Electrodes*. Appl Environ Microbiol, 2004. **70**(2): p. 1234 - 1237.
141. Malvankar, N.S., et al., *Tunable metallic-like conductivity in microbial nanowire networks*. nature nanotechnology, 2011. **6**(9): p. 573-579.
142. Coppi, M.V., et al., *Involvement of Geobacter sulfurreducens SfrAB in acetate metabolism rather than intracellular, respiration-linked Fe(III) citrate reduction*. Microbiology, 2007. **153**(Pt 10): p. 3572-85.
143. Childers, S.E., S. Ciuffo, and D.R. Lovley, *Geobacter metallireducens accesses insoluble Fe(III) oxide by chemotaxis*. Nature, 2002. **416**(6882): p. 767-769.
144. Craig, L., M.E. Pique, and J.A. Tainer, *Type IV pilus structure and bacterial pathogenicity*. Nat Rev Micro, 2004. **2**(5): p. 363-378.
145. Malvankar, N.S., M.T. Tuominen, and D.R. Lovley, *Lack of cytochrome involvement in long-range electron transport through conductive biofilms and nanowires of Geobacter sulfurreducens*. Energy & Environmental Science, 2012. **5**(9): p. 8651-8659.

146. Liu, F., et al., *Magnetite compensates for the lack of a pilin-associated c-type cytochrome in extracellular electron exchange*. Environmental Microbiology, 2015. **17**(3): p. 648-655.
147. Cordas, C.M., et al., *Electroactive biofilms of sulphate reducing bacteria*. Electrochimica Acta, 2008. **54**(1): p. 29-34.
148. Zhao, F., et al., *Activated carbon cloth as anode for sulfate removal in a microbial fuel cell*. Environ Sci Technol, 2008. **42**(13): p. 4971-6.
149. Gibson, G.R., *Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria*. Journal of Applied Bacteriology, 1990. **69**(6): p. 769-797.
150. Muyzer, G. and A.J. Stams, *The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria*. Nat Rev Microbiol, 2008. **6**(6): p. 441-54.
151. Yang, Y., et al., *Differential biofilms characteristics of Shewanella decolorationis microbial fuel cells under open and closed circuit conditions*. Bioresource Technology, 2011. **102**(14): p. 7093-7098.
152. Yang, G., et al., *Pseudomonas guangdongensis sp. nov., isolated from an electroactive biofilm, and emended description of the genus Pseudomonas Migula 1894*. Int J Syst Evol Microbiol, 2013. **63**(Pt 12): p. 4599-605.
153. Yuan, Y., S. Zhou, and L. Zhuang, *Polypyrrole/carbon black composite as a novel oxygen reduction catalyst for microbial fuel cells*. Journal of Power Sources, 2010. **195**(11): p. 3490-3493.
154. Vandecandelaere, I., et al., *Alteromonas genovensis sp. nov., isolated from a marine electroactive biofilm and emended description of Alteromonas macleodii Baumann et al. 1972 (approved lists 1980)*. Int J Syst Evol Microbiol, 2008. **58**(Pt 11): p. 2589-96.
155. Xing, D.F., et al., *Electricity generation by Rhodopseudomonas palustris DX-1*. Environ. Sci. Technol., 2008. **42**: p. 4146-4151.
156. Larimer, F.W., et al., *Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium Rhodopseudomonas palustris*. Nat Biotech, 2004. **22**(1): p. 55-61.
157. Vandecandelaere, I., et al., *Ruegeria scottmollicae sp. nov., isolated from a marine electroactive biofilm*. Int J Syst Evol Microbiol, 2008. **58**(Pt 12): p. 2726-33.
158. Torrentera, L. and S.I. Dodson, *Ecology of the brine shrimp Artemia in the Yucatan, Mexico, Salterns*. Journal of Plankton Research, 2004. **26**(6): p. 617-624.

159. Escamilla-Sánchez J.B., C.-L.S., Tello-Cetina J., Solís S., and O.-M.S. Ordoñez-López U., Rivera-Muñoz G. *Application of canonical correlation analysis in solar saltworks enzymatic activities evolution: proteolytic activity case.* in *Proceedings of the 2nd International Conference on the Ecological Importance of Solar Saltworks (CEISSA2009)*. 2009. Merida, Yucatan, Mexico.
160. Stepanov, V.G., et al., *Draft Genome Sequence of Marinobacter sp. Strain P4B1, an Electrogenic Perchlorate-Reducing Strain Isolated from a Long-Term Mixed Enrichment Culture of Marine Bacteria.* *Genome Announcements*, 2016. **4**(1): p. e01617-15.
161. Wang, Z., et al., *Complete Genome Sequence of Marinobacter sp. CP1, Isolated from a Self-Regenerating Biocathode Biofilm.* *Genome Announcements*, 2015. **3**(5): p. e01103-15.
162. Rinzema, A., J. van Lier, and G. Lettinga, *Sodium inhibition of acetoclastic methanogens in granular sludge from a UASB reactor.* *Enzyme and Microbial Technology*, 1988. **10**(1): p. 24-32.
163. Riffat, R. and K. Krongthamchat, *Specific methanogenic activity of halophilic and mixed cultures in saline wastewater.* *International Journal of Environmental Science & Technology*, 2006. **2**(4): p. 291-299.
164. Aguilar-Trujillo Ana Concepción , O.Y.B. and O.-M.I. Merino-VirgilioFany del Carmen, Herrera-Silveira Jorge A., *Variación espacial de dinoflagelados bentónicos/epifíticos en aguas costeras del norte de Yucatán (agosto de 2011), in Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias.,* J.R.v.O. A.V. Botello, J. Benítez y and G. Gold-Bouchot, Editors. 2011, UAC, UNAM-ICMYL, CINVESTAV-Unidad Mérida: México. p. 147-160.
165. Herrera-Silveira, J.A., et al., *Eutrofización costera en la Península de Yucatán, in Diagnóstico ambiental del Golfo de México,* M. Caso-Chávez, I. Pisanty, and E. Ezcurra, Editors. 2004, Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT): México. p. 821-848.
166. Jorge, A.H.-S. and M.M.-O. Sara, *Subtropical Karstic Coastal Lagoon Assessment, Southeast Mexico,* in *Coastal Lagoons.* 2010, CRC Press. p. 307-333.
167. Morales-Ojeda, S.M., J.A. Herrera-Silveira, and J. Montero, *Terrestrial and oceanic influence on spatial hydrochemistry and trophic status in subtropical marine near-shore waters.* *Water Research*, 2010. **44**(20): p. 5949-5964.

168. Tasaki, M., et al., *Isolation and characterization of a thermophilic benzoate-degrading, sulfate-reducing bacterium, Desulfotomaculum thermobenzoicum sp. nov.* Archives of Microbiology, 1991. **155**(4): p. 348-352.
169. González-Ceballos, J., Casanova-Cetz, R., Sánchez-Molina, I., Zetina-Moguel, C., *Análisis de la biodiversidad de algas marinas situadas entre Uaymitún y Chuburná, Yucatán.* Ingeniería 2007. **11**(1): p. 43 - 51.
170. Castel González, S.E., *Análisis de las comunidades microbianas asociadas a tapetes hipersalinos de la laguna rosada de Uaymitun, Yuacatán, México.*, in *Centro de Biotecnología Genómica 2010*, Instituto Politécnico Nacional: Reynosa, Tamaulipas, México. p. 131.
171. Benetton, X.D., S. Navarro-Ávila, and C. Carrera-Figueiras, *Electrochemical evaluation of Ti/TiO<sub>2</sub>-polyaniline anodes for microbial fuel cells using hypersaline microbial consortia for synthetic-wastewater treatment.* J. New Mater. Electrochem. Sys., 2010. **13**: p. 1-6.
172. Díaz Yarto, J.M., *Una mirada al desarrollo económico del municipio de Río Lagartos, Yucatán.* Economía Informa, 2010. **364**: p. 52 - 65.
173. Silvia Cabrera-López, G.A.R.-S., José B. Escamilla-Sánchez,, S.O.-M. Jorge A.Tamayo-Cortes, Sara E. Solís-Pereira y, and G. Rivera-Muñoz, *Charcas Salineras: Ecosistemas Susceptibles de ser Usados para la Recuperación de Enzimas de Interés Industrial.* BioTecnología, 2012. **16**(2): p. 115 - 128.
174. Herrera-Silveira, J., et al., *Eutrofización costera en la Península de Yucatán*, in *Diagnóstico ambiental del Golfo de México.*, M. Caso-Chávez, I. Pisanty, and E. Ezcurra, Editors. 2004, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático: México. p. 821 - 848.
175. Vega-Cendejas, M.E. and M. Hernández de Santillana, *Fish community structure and dynamics in a coastal hypersaline lagoon: Rio Lagartos, Yucatan, Mexico.* Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2004. **60**(2): p. 285-299.
176. P. Rodenas, A.t.H., M. Dopson, J. Puhakka, A. Jeremiasse, and F.F. S. Tennison, A. Marvuglia, M. Saakes. *Bioelectrochemical systems for metal recovery (BioElectroMET).* 2015 [cited 2015 Noviembre].
177. Rodenas Motos, P., et al., *High rate copper and energy recovery in microbial fuel cells.* Frontiers in Microbiology, 2015. **6**: p. 527.

178. Qin, B., et al., *Nickel ion removal from wastewater using the microbial electrolysis cell*. *Bioresour Technol*, 2012. **121**: p. 458-61.
179. Liu, L., et al., *In-situ Cr(VI) reduction with electrogenerated hydrogen peroxide driven by iron-reducing bacteria*. *Bioresour Technol*, 2011. **102**(3): p. 2468-73.
180. Huang, L., et al., *Effect of set potential on hexavalent chromium reduction and electricity generation from biocathode microbial fuel cells*. *Environmental science & technology*, 2011. **45**(11): p. 5025-5031.
181. Huang, L., et al., *Enhancement of hexavalent chromium reduction and electricity production from a biocathode microbial fuel cell*. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2010. **33**(8): p. 937-45.
182. Huang, L., et al., *A new clean approach for production of cobalt dihydroxide from aqueous Co(II) using oxygen-reducing biocathode microbial fuel cells*. *Journal of Cleaner Production*, 2015. **86**: p. 441-446.
183. Choi, C. and Y. Cui, *Recovery of silver from wastewater coupled with power generation using a microbial fuel cell*. *Bioresource Technology*, 2012. **107**: p. 522-525.
184. Li, Z., X. Zhang, and L. Lei, *Electricity production during the treatment of real electroplating wastewater containing Cr 6+ using microbial fuel cell*. *Process Biochemistry*, 2008. **43**(12): p. 1352-1358.
185. Tao, H.C., et al., *Removal of heavy metals from fly ash leachate using combined bioelectrochemical systems and electrolysis*. *J Hazard Mater*, 2014. **264**: p. 1-7.
186. Luo, H., et al., *Heavy metal recovery combined with H<sub>2</sub> production from artificial acid mine drainage using the microbial electrolysis cell*. *J Hazard Mater*, 2014. **270**: p. 153-9.
187. Vanysek, P., *Electrochemical series*. *CRC handbook of chemistry and physics*, 1998. **87**.
188. Schumacher Paul, D., et al., *Electroanalytical chemistry of lanthanides and actinides*, in *Reviews in Analytical Chemistry* 2013. p. 159.
189. Schumacher, P.D., et al., *Preconcentration of f-elements from aqueous solution utilizing a modified carbon paste electrode*. *Anal Chem*, 2011. **83**(4): p. 1388-93.
190. Schumacher, P.D., et al., *Preconcentration of Trivalent Lanthanide Elements on a Mercury Film from Aqueous Solution Using Rotating Disk Electrode Voltammetry*. *Analytical Chemistry*, 2010. **82**(13): p. 5663-5668.

191. Shen, J., et al., *Microbial electrolysis cells with biocathodes and driven by microbial fuel cells for simultaneous enhanced Co(II) and Cu(II) removal*. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2015. **9**(6): p. 1084-1095.
192. Lupetti, K.O., et al., *Electroregenerable anion-exchange resin with triiodide carbon paste electrode for the voltammetric determination of adrenaline*. *Analyst*, 2002. **127**(4): p. 525-529.
193. Adams, R.N., *Carbon Paste Electrodes*. *Analytical Chemistry*, 1958. **30**(9): p. 1576-1576.
194. Vitras, K., I. Svancara, and R. Metelka, *Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2009. **74**(10): p. 1021 - 1033.
195. Huang, L., et al., *Cobalt recovery with simultaneous methane and acetate production in biocathode microbial electrolysis cells*. *Chemical Engineering Journal*, 2014. **253**: p. 281-290.
196. Li, J., et al., *Trace determination of rare earths by adsorption voltammetry at a carbon paste electrode*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2004. **561**: p. 137-142.
197. Liu, S., et al., *Study on the adsorptive stripping voltammetric determination of trace cerium at a carbon paste electrode modified in situ with cetyltrimethylammonium bromide*. *Applied Surface Science*, 2005. **252**(5): p. 2078-2084.
198. Li, J., et al., *Adsorptive Voltammetric Studies on the Cerium(III)-Alizarin Complexon Complex at a Carbon Paste Electrode*. *Microchimica Acta*, 2006. **154**(3-4): p. 241-246.
199. Li, X.-Z. and Y.-P. Sun, *Evaluation of ionic imprinted polymers by electrochemical recognition of rare earth ions*. *Hydrometallurgy*, 2007. **87**(1-2): p. 63-71.
200. Javanbakht, M., et al., *Stripping Voltammetry of Cerium(III) with a Chemically Modified Carbon Paste Electrode Containing Functionalized Nanoporous Silica Gel*. *Electroanalysis*, 2008. **20**(2): p. 203-206.
201. Faridbod, F., et al., *Ho<sup>3+</sup> carbon paste sensor based on multi-walled carbon nanotubes: Applied for determination of holmium content in biological and environmental samples*. *Materials Science and Engineering: C*, 2010. **30**(4): p. 555-560.

202. Norouzi, P., et al., *Er<sup>3+</sup> Carbon Paste Electrode Based on New Nano-composite*. International Journal of Electrochemical Science, 2010. **5**: p. 367-376.
203. Yantasee, W., G.E. Fryxell, and Y. Lin, *Voltammetric analysis of europium at screen-printed electrodes modified with salicylamide self-assembled on mesoporous silica*. Analyst, 2006. **131**(12): p. 1342-1346.
204. Pourbaix, M., *Atlas of electrochemical equilibria in aqueous solutions*. 1966, Oxford, New York: Pergamon Press. 644 p.
205. Zhou, Y. and J.A. Switzer, *Growth of cerium(IV) oxide films by the electrochemical generation of base method*. Journal of Alloys and Compounds, 1996. **237**(1): p. 1-5.
206. Lin, K.-S. and S. Chowdhury, *Synthesis, Characterization, and Application of 1-D Cerium Oxide Nanomaterials: A Review*. International Journal of Molecular Sciences, 2010. **11**(9): p. 3226.
207. Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons, *A practical handbook of seawater analysis*. 2nd ed. 1972: Fisheries Research Board of Canada.
208. APHA, *Standard Methods of Water and Wastewater*, 1996, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation publication.: Washington D.C.
209. Torres, C.I., et al., *Selecting anode-respiring bacteria based on anode potential: phylogenetic, electrochemical, and microscopic characterization*. Environ Sci Technol, 2009. **43**(24): p. 9519-24.
210. Zhou, Y., R.J. Phillips, and J.A. Switzer, *Electrochemical Synthesis and Sintering of Nanocrystalline Cerium(IV) Oxide Powders*. Journal of the American Ceramic Society, 1995. **78**(4): p. 981-985.
211. Wang, J., et al., *Structural designing of Pt-CeO<sub>2</sub>/CNTs for methanol electro-oxidation*. Journal of Power Sources, 2007. **164**(2): p. 555-560.
212. Öztürk, N. and D. Kavak, *Boron removal from aqueous solutions by batch adsorption onto cerium oxide using full factorial design*. Desalination, 2008. **223**(1): p. 106-112.
213. Antonio May-Kú, M., D. Valdes, and P. Ardisson, *Spatial and temporal variations in physicochemical characteristics of water and sediment in the Yalahau coastal lagoon, Quintana Roo*. Vol. 26. 2016. 41-51.

214. Silveira, J., M. Martín B, and V. Díaz-Arce, *Variaciones del fitoplancton en cuatro lagunas costeras del Estado de Yucatán, México*. Vol. 47. 1999. 47-56.
215. Katsaros, K. and K.J.K. Buettner, *Influence of Rainfall on Temperature and Salinity of the Ocean Surface*. Journal of Applied Meteorology, 1969. **8**(1): p. 15-18.
216. Jr. Simmons, G.M., *Importance of submarine groundwater discharge (SGWD) and seawater cycling to material flux across sediment/water interfaces in marine environments*. Vol. 84. 1992. 173-184.
217. LaRowe, D.E., et al., *Temperature and volume of global marine sediments*. Geology, 2017. **45**(3): p. 275-278.
218. Müller, C., R. Usbeck, and F. Miesner, *Temperatures in shallow marine sediments: Influence of thermal properties, seasonal forcing, and man-made heat sources*. Applied Thermal Engineering, 2016. **108**: p. 20-29.
219. Valdes, D. and E. Real, *Nitrogen and phosphorus in water and sediments at Ria Lagartos coastal lagoon, Yucatan, Gulf of Mexico*. Vol. 33. 2004.
220. Bricker, O.P., *Redox potential—Its measurement and importance in water systems*. Inorganic species, 1982. **1**(pt 1): p. 55-83.
221. Søndergaard, M., *Redox Potential*, in *Encyclopedia of Inland Waters*, G.E. Likens, Editor. 2009, Academic Press: Oxford. p. 852-859.
222. Hunting, E.R. and A.A. Kampfraath, *Contribution of bacteria to redox potential (Eh) measurements in sediments*. International Journal of Environmental Science and Technology, 2013. **10**(1): p. 55-62.
223. Blead, W., *Chapter 9 - Reduction-Oxidation Chemistry*, in *Soil and Environmental Chemistry (Second Edition)*, W. Blead, Editor. 2017, Academic Press. p. 445-489.
224. Frindte, K., et al., *Microbial Response to Experimentally Controlled Redox Transitions at the Sediment Water Interface*. PLOS ONE, 2015. **10**(11): p. e0143428.
225. Hurt, G.W., *HYDRIC SOILS*, in *Encyclopedia of Soils in the Environment*, D. Hillel, Editor. 2005, Elsevier: Oxford. p. 212-217.
226. Atlas, R.M. and R. Bartha, *Ecología microbiana y microbiología ambiental*, 2001, Pearson Education.
227. Chi Tran, K., et al., *Status Of Coastal Water Quality At Holbox Island, Quintana Roo State, Mexico*. 2002. p. 331-340.

228. Valdés, D., J. Trejo, and E. Real, *Hydrological Study Of The Celestun Lagoon, Yucatan, Mexico, During 1985*. Ciencias Marinas, 1988. **14**(2): p. 45-68.
229. Calva-Benítez, L. and R. Torres-Alvarado, *Carbono orgánico y características texturales de sedimentos en áreas del pasto marino Thalassia testudinum en ecosistemas costeros del sureste del golfo de México*. Universidad y ciencia, 2011. **27**: p. 133-144.
230. Valdes-Lozano, D.S., M. Chumacero, and E. Real, *Sediment oxygen consumption in a developed coastal lagoon of the Mexican Caribbean*. 2006.
231. Howarth, R.W., *The ecological significance of sulfur in the energy dynamics of salt marsh and coastal marine sediments*. Biogeochemistry, 1984. **1**(1): p. 5-27.
232. Stockdale, A., et al., *The Association of Cobalt with Iron and Manganese (Oxyhydr)oxides in Marine Sediment*. Aquatic Geochemistry, 2010. **16**(4): p. 575-585.
233. Vázquez Gutiérrez, F., H.M. Alexander, and A. Frausto, *Metales Pesados (Cadmio, Cromo, Níquel y Vanadio) Adsorbidos en Sedimentos de la Sonda de Campeche. Campaña Oceanográfica SGM-9., in XVI CONGRESO NACIONAL DE GEOQUÍMICA2006: Mérida, Yucatán*.
234. Kenney, M.J., et al., *An electrodeposition approach to metal/metal oxide heterostructures for active hydrogen evolution catalysts in near-neutral electrolytes*. Nano Research, 2019. **12**(6): p. 1431-1435.
235. Song, F., et al., *Transition Metal Oxides as Electrocatalysts for the Oxygen Evolution Reaction in Alkaline Solutions: An Application-Inspired Renaissance*. Journal of the American Chemical Society, 2018. **140**(25): p. 7748-7759.
236. Tortora, G.J., B.R. Funke, and C.L. Case, *Introducción a la microbiología*. 2007: Editorial Medica Panamericana Sa de.
237. Grobber, C., et al., *Effect of the anode potential on the physiology and proteome of Shewanella oneidensis MR-1*. Bioelectrochemistry, 2018. **119**: p. 172-179.
238. Wang, X., et al., *Accelerated start-up of two-chambered microbial fuel cells: Effect of anodic positive poised potential*. Electrochimica Acta, 2009. **54**(3): p. 1109-1114.
239. Erable, B., et al., *Sampling natural biofilms: a new route to build efficient microbial anodes*. Environ Sci Technol, 2009. **43**(9): p. 3194-9.
240. Zhu, X., et al., *Microbial community composition is unaffected by anode potential*. Environ Sci Technol, 2014. **48**(2): p. 1352-8.

241. Krige, A., et al., *On-Line Raman Spectroscopic Study of Cytochromes' Redox State of Biofilms in Microbial Fuel Cells*. *Molecules*, 2019. **24**(3).
242. Torres, C.I., *A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria*. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2010. **34**: p. 3-17.
243. Commault, A.S., et al., *Influence of anode potentials on selection of Geobacter strains in microbial electrolysis cells*. *Bioresour Technol*, 2013. **139**: p. 226-34.
244. Commault, A.S., G. Lear, and R.J. Weld, *Comment on Microbial community composition is unaffected by anode potential*. *Environ Sci Technol*, 2014. **48**(24): p. 14851-2.
245. Sun, D., et al., *Current density reversibly alters metabolic spatial structure of exoelectrogenic anode biofilms*. *Journal of Power Sources*, 2017. **356**(Supplement C): p. 566-571.
246. Dominguez-Benetton, X., et al., *Exploring natural vs. synthetic minimal media to boost current generation with electrochemically-active marine bioanodes*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2016. **4**(2): p. 2362-2369.
247. Erable, B. and A. Bergel, *First air-tolerant effective stainless steel microbial anode obtained from a natural marine biofilm*. *Bioresour Technol*, 2009. **100**(13): p. 3302-7.
248. Libes, S., *Introduction to Marine Biogeochemistry*. Second ed. 2009.
249. Rabaey, K., et al., *Microbial fuel cells for sulfide removal*. *Environ Sci Technol*, 2006. **40**(17): p. 5218-24.
250. Doyle, L.E., et al., *Electrochemical and genomic analysis of novel electroactive isolates obtained via potentiostatic enrichment from tropical sediment*. *Journal of Power Sources*, 2017. **356**(Supplement C): p. 539-548.
251. Katuri, K.P., et al., *Geobacter sulfurreducens biofilms developed under different growth conditions on glassy carbon electrodes: insights using cyclic voltammetry*. *Chemical Communications*, 2010. **46**(26): p. 4758-4760.
252. Carmona-Martinez, A.A., et al., *Cyclic voltammetric analysis of the electron transfer of Shewanella oneidensis MR-1 and nanofilament and cytochrome knock-out mutants*. *Bioelectrochemistry*, 2011. **81**(2): p. 74-80.
253. Borch, T., et al., *Biogeochemical Redox Processes and their Impact on Contaminant Dynamics*. *Environmental Science & Technology*, 2010. **44**(1): p. 15-23.

254. Nealson, K.H., *Geomicrobiology: Sediment reactions defy dogma*. Nature, 2010. **463**(7284): p. 1033 - 1034.
255. Seager, S., M. Schrenk, and W. Bains, *An Astrophysical View of Earth-Based Metabolic Biosignature Gases*. Astrobiology, 2012. **12**: p. 61-82.
256. Lewis, A.J. and A.P. Borole, *Adapting microbial communities to low anode potentials improves performance of MECs at negative potentials*. Electrochimica Acta, 2017. **254**(Supplement C): p. 79-88.
257. Marsili, E., et al., *Microbial Biofilm Voltammetry: Direct Electrochemical Characterization of Catalytic Electrode-Attached Biofilms*. Applied and Environmental Microbiology, 2008. **74**(23): p. 7329.
258. Marsili, E., J. Sun, and D.R. Bond, *Voltammetry and Growth Physiology of Geobacter sulfurreducens Biofilms as a Function of Growth Stage and Imposed Electrode Potential*. Electroanalysis, 2010. **22**(7-8): p. 865-874.
259. Kang, J., et al., *Cyclic voltammetry for monitoring bacterial attachment and biofilm formation*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012. **18**(2): p. 800-807.
260. Vieira, M.J., et al., *The Use of Cyclic Voltammetry to Detect Biofilms formed by Pseudomonas fluorescens on Platinum Electrodes*. Biofouling, 2003. **19**(4): p. 215-222.
261. Oziat, J., et al., *Electrochemical characterizations of four main redox-metabolites of Pseudomonas aeruginosa*. Electroanalysis, 2017. **29**(5): p. 1332-1340.
262. Trindade, I., et al., *Structure and reactivity of a siderophore-interacting protein from the marine bacterium Shewanella reveals unanticipated functional versatility*. Journal of Biological Chemistry, 2018.
263. Bard, A.J. and L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, 2001, Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.
264. Malvankar, N.S., et al., *Supercapacitors based on c-type cytochromes using conductive nanostructured networks of living bacteria*. Chemphyschem, 2012. **13**(2): p. 463-8.
265. Grattieri, M., et al., *Halotolerant extremophile bacteria from the Great Salt Lake for recycling pollutants in microbial fuel cells*. Journal of Power Sources, 2017. **356**(Supplement C): p. 310-318.

266. Finkelstein, D.A., L.M. Tender, and J.G. Zeikus, *Effect of electrode potential on electrode-reducing microbiota*. Environ Sci Technol, 2006. **40**(22): p. 6990-5.
267. Zhu, X., et al., *Response to Comment on Microbial community composition is unaffected by anode potential*. Environ Sci Technol, 2014. **48**(24): p. 14853-4.
268. White, H.K., et al., *Quantitative population dynamics of microbial communities in plankton-fed microbial fuel cells*. The Isme Journal, 2009. **3**: p. 635.
269. Artini, C., et al., *Structural features of Sm- and Gd-doped ceria studied by synchrotron X-ray diffraction and mu-Raman spectroscopy*. Inorg Chem, 2015. **54**(8): p. 4126-37.
270. Vanpoucke, D.E.P., et al., *Aliovalent doping of CeO<sub>2</sub>: DFT study of oxidation state and vacancy effects*. Journal of Materials Chemistry A, 2014. **2**(33): p. 13723-13737.
271. 30 - *The Lanthanide Elements (Z = 58–71)*, in *Chemistry of the Elements (Second Edition)*, N.N. Greenwood and A. Earnshaw, Editors. 1997, Butterworth-Heinemann: Oxford. p. 1227-1249.
272. Wyckoff, R.W.G., *Fluorite structure*. Second ed. Crystal Structures. 1963, New York: Interscience Publishers.
273. Jurgens, B., et al., *Trimerization of NaC<sub>2</sub>N<sub>3</sub> to Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>N<sub>9</sub> in the solid: ab initio crystal structure determination of two polymorphs of NaC<sub>2</sub>N<sub>3</sub> and of Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>N<sub>9</sub> from X-ray powder diffractometry*. Inorg Chem, 2000. **39**(4): p. 665-70.
274. Zhitomirsky, I., *Electrolytic deposition of oxide films in the presence of hydrogen peroxide*. Journal of the European Ceramic Society, 1999. **19**(15): p. 2581-2587.
275. Stamenkovic, V.R., et al., *Energy and fuels from electrochemical interfaces*. Nat Mater, 2016. **16**(1): p. 57-69.
276. Wang, Q., et al., *Cooperative cathode electrode and in situ deposited copper for subsequent enhanced Cd(II) removal and hydrogen evolution in bioelectrochemical systems*. Bioresource Technology, 2016. **200**: p. 565-571.
277. Dominguez-Benetton, X., et al., *The accurate use of impedance analysis for the study of microbial electrochemical systems*. Chem Soc Rev, 2012. **41**(21): p. 7228-46.
278. Li, J., et al., *Voltage reversal causes bioanode corrosion in microbial fuel cell stacks*. International Journal of Hydrogen Energy, 2017. **42**.

279. González-Muñoz, M.E., *Bacterias reductoras de sulfato de sedimentos costeros como una alternativa para la generación de energía renovable*, in *Unidad de Energía Renovable 2015*, Centro de Investigación Científica de Yucatán: Mérida, Yucatán. p. 122.
280. González-Muñoz, M., et al., *Polarization Potential Has No Effect on Maximum Current Density Produced by Halotolerant Bioanodes*. *Energies*, 2018. **11**(3).
281. Pozo, G., et al., *A novel bioelectrochemical system for chemical-free permanent treatment of acid mine drainage*. *Water Res*, 2017. **126**: p. 411-420.
282. Lakshmanan, S. and T. Murugesan, *The chlor-alkali process: Work in Progress*. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 2014. **16**(2): p. 225-234.
283. *4 - Lithium, Sodium, Potassium, Rubidium, Caesium and Francium*, in *Chemistry of the Elements (Second Edition)*, N.N. Greenwood and A. Earnshaw, Editors. 1997, Butterworth-Heinemann: Oxford. p. 68-106.
284. Foller, P.C. and R.T. Bombard, *Processes for the production of mixtures of caustic soda and hydrogen peroxide via the reduction of oxygen*. *Journal of Applied Electrochemistry*, 1995. **25**(7): p. 613-627.
285. Hachiya, T., et al., *Ruthenium Oxide Cathodes for Chlor-Alkali Electrolysis*. *ECS Transactions*, 2009. **16**(39): p. 31-39.
286. Ichihashi, O., T.A. Vishnivetskaya, and A.P. Borole, *High-Performance Bioanode Development for Fermentable Substrates via Controlled Electroactive Biofilm Growth*. *ChemElectroChem*, 2014. **1**(11): p. 1940-1947.

## ANEXO

*Communication*

# Polarization Potential Has No Effect on Maximum Current Density Produced by Halotolerant Bioanodes

Muriel González-Muñoz <sup>1</sup>, Xochitl Dominguez-Benetton <sup>2</sup>, Jorge Domínguez-Maldonado <sup>1</sup>, David Valdés-Lozano <sup>3</sup>, Daniella Pacheco-Catalán <sup>1</sup>, Otto Ortega-Morales <sup>4</sup> and Liliana Alzate-Gaviria <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Energía Renovable, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Km 5 Carretera Sierra Papacal-Chuburná Puerto, Yucatán 97302, México; murielgonzalez@cicy.mx (M.G.-M.); joe2@cicy.mx (J.D.-M.); dpacheco@cicy.mx (D.P.-C.)

<sup>2</sup> Separation and Conversion Technology, Flemish Institute for Technological Research (VITO), Boeretang 200, Mol 2400, Belgium; xoch@vito.be

<sup>3</sup> Departamento de Recursos del Mar, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-Mérida), Km 6 Antigua Carretera a Progreso, Yucatán 97310, México; dvaldes@cinvestav.mx

<sup>4</sup> Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología, Universidad Autónoma de Campeche (UACAM), Av. Agustín Melgar S/N, Col. Buenavista, Campeche 24039, México; beortega@uacam.mx

\* Correspondence: lag@cicy.mx; Tel.: +52-999-930-0760

Received: 7 December 2017; Accepted: 23 February 2018; Published: date

**Abstract:** Halotolerant bioanodes are considered an attractive alternative in microbial electrochemical systems, as they can operate under higher conductive electrolytes, in comparison with traditional wastewater and freshwater bioanodes. The dependency between energetic performance and polarization potential has been addressed in several works; however the vast majority discusses its effect when wastewater or freshwater inocula are employed, and fewer reports focus on inocula from highly-saline environments. Moreover, the effect of the polarization potential on current production is not fully understood. To determine if the polarization potential has a significant effect on current production, eight bioanodes were grown by chronoamperometry at positive and negative potentials relative to the reference electrode (+0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE), in a three-electrode set-up employing sediments from a hyperhaline coastal lagoon. The maximum current density obtained was the same, despite the differences in the applied potential. Our findings indicate that even if differences in organic matter removal and coulombic efficiency are obtained, the polarization potential had no statistically significant effect on overall current density production.

**Keywords:** polarization potential; halotolerant bioanodes; microbial electrochemical systems

---

## 1. Introduction

Microbial electrochemical systems (MES) have become highly attractive as they provide a robust platform of valuable chemicals (biofuels, organic acids, metals, etc.), removal of pollutants

(nitrobenzene, chlorophenol, hexavalent chromium, etc.), and biosensors, in a sustainable manner [1–3]. Such electrochemical devices employ microorganisms as catalysts, which are often anaerobic bacteria forming an electroactive biofilm. In most cases, these bacteria oxidize organic matter by an anodic reaction, to produce an electric current that drives a cathodic reaction (biocatalyzed or not), through which the main chemicals of interest are produced [4,5].

An important disadvantage in comparison to more classical electrochemical systems is that MES usually work with low conductivity electrolytes ( $<20 \text{ mS cm}^{-1}$ ), resulting in high Ohmic drops that lead to significant energy losses [6,7]. Even with the current output improvements achieved with multilayer bioanode structures [6], the overall incapability of the commonly used microbial biomass to tolerate highly conductive electrolytes makes them unattractive for most energy-demanding applications [5,8]. Thus, electrolyte conductivity should be as high as possible to develop more competitive MES [9].

It has been demonstrated that an increase in electrolyte conductivity in MES enhances current and power outputs as the internal resistance decreases [6,7]. However, this improvement in performance is possible only if the salt concentration in the electrolyte is maintained below the tolerance threshold of anodic microorganisms [7]. When this threshold is surpassed, bacteria are inhibited by osmotic pressure [9,10], and impairment in the energy performance is expected, despite further conductivity increments. So far, a maximum salt concentration of 25 to 35 g L<sup>-1</sup> (up to 55 mS cm<sup>-1</sup>) is tolerated when freshwater microorganisms are employed as inoculum [11–14], given that they are not naturally adapted to saline environments. Marine sediments and sea water (about 35 g L<sup>-1</sup> and 54 mS cm<sup>-1</sup>) have been reported as a microorganism source in MES, but mostly in sediment microbial fuel cells, which are characteristic of poor energetic performances (0.005–1.100 A m<sup>-2</sup> and 0.003–0.400 W m<sup>-2</sup>) [15–17]. Moreover, fewer reports discuss the use of marine microorganisms in typical MES configurations, with better current outputs, up to 8.20 A m<sup>-2</sup> [10,18]. In recent years, the use of halophile and halotolerant bacteria as a biocatalyst in MES was proposed with promising results [7,19]. These bacteria are adapted to salt concentrations in an interval of 30–300 g L<sup>-1</sup> [20,21], which corresponds to approximately 50–450 mS cm<sup>-1</sup> [22]. It is important to note that an additional advantage to MES of using high salinity media is the intrinsic inhibition of methanogenic bacteria [6], which in many instances counteract the efficiency of conversions to electric energy or other value-added chemicals.

Halophile and halotolerant microbes are characterized for the production of exopolymeric substances (biofilm formers) and extracellular proteins [23,24], which, in turn, may act as natural mediators for electron transfer [25,26]; such attributes make them attractive as catalysts in MES. A maximum current density of 85 A m<sup>-2</sup> has been reported with a salt marsh inoculum [7], wherein a stringent selection of microorganisms at the bioanode was achieved through a constant polarization potential. A well-colonized bioanode mainly dominated by *Marinobacter* spp. and *Desulfuromonas* spp. has been observed at 104 mS cm<sup>-1</sup>, after 15 to 25 days of growth [27]. Nevertheless, more modest performances are frequently obtained with microorganisms from highly saline environments, about 0.3 to 20 A m<sup>-2</sup>, and species belonging to the genera *Marinobacter*, *Geobacter*, *Chlorobium*, *Clostridium*, *Rhodospseudomonas*, *Pelobacter*, *Desulfobulbus*, *Desulfocapsa*, *Halanaerobium*, *Halomonas*, *Aeromonas*, *Natrialba*, and *Haloferax* [8,19,28–32]. It is noteworthy that anode-colonizing species at elevated salt concentrations may differ from freshwater anode species or not, suggesting that saline environments are an interesting source of unknown electroactive bacteria, as well as a source of known electroactive microorganisms that are naturally adapted to highly saline conditions. On the other hand, the relationship between current density and the anode polarization potential has been previously discussed, but with many discrepancies between works. In some

cases, the overall energetic performance was enhanced at higher polarization potentials [8,33,34]. Meanwhile, bioanodes polarized at more negative potentials showed better performance according to other authors [35,36]. Also, no dependence between the polarization potential and energetic performance has been reported [37]. Such discrepancies may be explained by differences in inoculum selection, electrolyte conductivity, anode-supporting material, cell configuration, nutrient availability, and carbon source type [37–39]. Furthermore, some evidence points to the effect of the polarization potential over current density, which is different for each inoculum [39].

Enrichment of electroactive bacteria by a constant polarization potential in a three-electrode cell configuration has some advantages over closed circuit with resistor enrichment (two-electrode cell configuration): with the later, current production is limited not only by a selective exoelectrogenic activity and substrate availability. Conversely, when a resistive load is imposed in two-electrode configuration, the anodic potential is not fixed but variable, directly affecting the overall current production [40].

Since halotolerant bioanode development is a recent field of research, further investigations are required to determine the most convenient polarization potential at elevated electrolytic conductivity, to boost their energetic performance. The aim of this study was to determine if variations in current density are governed by the polarization potential when exoelectrogenic bacteria are enriched under constant polarization potential employing sediments from a hyperhaline coastal lagoon as inoculum. To achieve this goal, eight bioanodes were grown by chronoamperometry at positive and negative polarization potential versus standard hydrogen electrode (four at +0.34 V/SHE and four at -0.16 V/SHE, respectively) under elevated salinity conditions.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Inoculum and Medium

Superficial sediments (approx. first 40 cm) were collected from the hyperhaline coastal lagoon “Ría Lagartos,” located in Yucatán, México. Samples were collected in triplicate with a 5 L capacity dredge, in the vicinity of a solar saltwork (Las Coloradas 21°34' N, 87°57' O). The water conductivity, salinity, dissolved oxygen, and pH of the water column was measured in situ with an YSI ProPlus (YSI Incorporated, Yellow Springs, [OH,] USA) multi-parameter instrument and probes. Sediment temperature, pH, and redox potential were measured with Extech (Extech Instruments, Boston, [MA,] USA) portable electrodes (ExtStik PH110 and ExtStik RE300). Additionally, the volatile solids concentration in the sediment was measured by gravimetric methods [41] in order to further estimate the inoculum size, in terms other than just the volume ratio; the effective volatile solid concentration in the sediment was of  $103.63 \pm 12.96$  mg per gram of sediment. The culture medium [7,8,27,39,42] was prepared as follows:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g  $\text{L}^{-1}$ , sodium acetate 3.6 g  $\text{L}^{-1}$  (40 mM),  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  55 mg  $\text{L}^{-1}$ , 1 mL  $\text{L}^{-1}$  of metal solution (HCl 37% 46 mL  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  7 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{ZnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1.2 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.4 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{Mo}_7\text{O}_{21}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1 g  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.05 g  $\text{L}^{-1}$  and  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.01 g  $\text{L}^{-1}$ ),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  60 mg  $\text{L}^{-1}$  and 50 g  $\text{L}^{-1}$  of NaCl. The pH was adjusted to 7.9 with 1 M NaOH. Aliquots of 170 mL of culture medium were transferred into 250 mL Erlenmeyer flasks, supplemented with 30 mL of sediment (15 vol%), corresponding to a calculated final concentration of circa 26,357 mg of volatile solids per liter). The liquid and headspace were flushed with  $\text{N}_2$  gas for 20 min to reduce dissolved oxygen concentration in the liquid, and the content was transferred by the Hungate technique [43]

to the electrochemical cell (see Section 2.2). The cell was sealed with a prefabricated cap and butyl rubber stoppers, until the sediments settled in the bottom [38]. After that, three of the four stoppers were removed and the working, auxiliary, and reference electrodes were placed instead. The fourth stopper was used as a sampling port. Final conductivity, dissolved oxygen, and pH after inoculation were measured with a HQ40D Portable Multi Meter (Hach Company, Loveland, [CO,] USA). Also, chemical oxygen demand (COD) was quantified with a low range COD Digestion Vial Kit (Hach Company, Loveland, [CO,] USA), diluting the samples 40 times by two successive dilutions (1:10 and 1:4) in ultrapure water. Each sample was independently taken from each cell using a syringe through the sample port, at a midpoint distance of the bottom, in order to avoid the resuspension of settled sediments. The sample was immediately diluted as described, digested in a DRB200 reactor (Hach Company, Loveland, [CO,] USA) and read in a DR1900 Portable Spectrophotometer (Hach, Company, Loveland, [CO,] USA) following the manufacturer's instructions.

### *2.2. Electrochemical Set-Up*

A three-electrode set-up was assembled in a prefabricated borosilicate electrochemical cell, with a working volume of 200 mL. The working electrode consisted of 7 cm<sup>2</sup> (projected surface area) of AvCarb G200 carbon felt (Fuel Cell Store, College Station, [TX,] USA) with a platinum wire (10 cm long and Ø of 0.5 mm, Merck KGaA, Darmstadt, [Hesse,] Germany) as the electrical collector. A graphite rod of 17.25 cm<sup>2</sup> (projected surface area) was used as the auxiliary electrode, and a saturated calomel electrode (+0.24 V/SHE) as the reference. The working and auxiliary electrodes were set 3 cm away from each other. None of the electrodes made direct contact with the sediment inoculated and settled in the bottom of the cell.

### *2.3. Bioanode Growth and Electrochemical Characterization*

Eight bioanodes were independently grown by chronoamperometry with a Bio-Logic VPS potentiostat (Bio-Logic Science Instruments, Seyssinet-Pariset, [Grenoble,] France), setting the potential value of the working electrodes at two different magnitudes: four bioanodes at +0.34 V/SHE and four at -0.16 V/SHE, correspondingly. The four bioanodes grown at each polarization potential are referred to as Run #1, Run #2, Run #3, and Run #4 all through the figures, tables, and text. The constant electric polarization was sustained for 21 days, which is long enough to obtain a colonized bioanode on carbon electrodes by marine and salt marsh exoelectrogenic bacteria [7,8,27,44], yet presumably insufficient to fully stabilize the microbial succession [45]. The current response was recorded every hour. The system remained unagitated throughout the experiment. Current production mean by day was calculated and normalized with respect to the anode projected surface area. The COD was measured regularly, as described in Section 2.1. Acetate was fed into the cell every three to five days to avoid microbial starvation [7]. The quantity of electric charge produced by each bioanode was calculated by integrating the area under the chronoamperometric curve with respect to time. The coulombic efficiency and power density were calculated according to Logan [46,47]. Conductivity, dissolved oxygen, and pH were monitored during the experiment with the HQ40D Portable Multi Meter (Hach Company, Loveland, [CO,] USA). At the end of each run, the electrochemical cell was disconnected and, after reaching relaxation, the open circuit potential (OCV) of the anode was measured. A linear voltammetry was recorded from the OCV to an overpotential of at least 1 V (~0.740 V/SHE) at 1 mV s<sup>-1</sup>. A cyclic voltammetry was performed under the same conditions right after the inoculation (at day 0) for all

eight cells, in order to evaluate the background contribution on current density of the overall chemical redox species and original microbial community carried within the inoculum.

#### 2.4. Statistical Analysis

To validate our observations, an analysis of variance (ANOVA Fisher Test, with  $\alpha = 0.10$  and  $\alpha = 0.05$ ) was made to compare the values obtained at each applied potential with Minitab 17 software (Minitab Incorporated, 2017, State College, [PA,] USA). The results of this analysis are indicated as superindexes along the text and tables, next to mean values and their standard deviation. The same letter indicates that no significant difference was found between the treatments (+0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE applied polarization potential, respectively).

### 3. Results

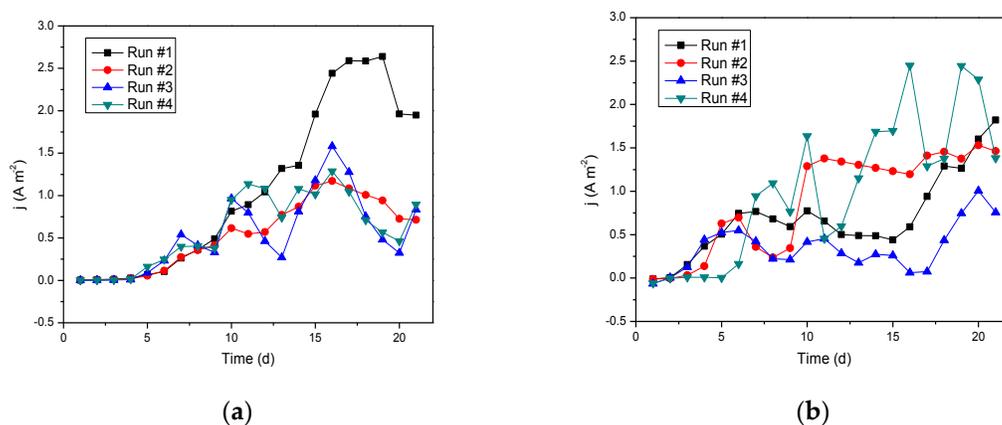
#### 3.1. Inoculum and Medium Characterization

The conductivity and salinity of the water column at the collection site were  $73.35 \pm 3.34$  mS  $\text{cm}^{-1}$  and  $50.44 \pm 2.59$  g  $\text{L}^{-1}$ , respectively. Temperature, pH, and dissolved oxygen concentration values of  $31.70 \pm 0.60$  °C,  $7.92 \pm 0.10$  pH units, and  $4.72 \pm 0.72$  mg  $\text{O}_2$   $\text{L}^{-1}$  were measured, correspondingly. The temperature, pH, and redox potential values from the sediment samples collected were  $30.32 \pm 1.56$  °C,  $6.95 \pm 0.24$ , and  $-0.28$  V/SHE, respectively. After culture medium inoculation, a final conductivity of  $67.12 \pm 2.84$  mS  $\text{cm}^{-1}$  and a pH of  $7.73 \pm 0.24$  were registered. The initial COD concentration was  $2400 \pm 150$  mg  $\text{L}^{-1}$ .

#### 3.2. Bioanode Growth and Current Production

Current density versus time plots for the positive (+0.34 V/SHE) and negative (-0.16 V/SHE) polarization potential are shown in Figure 1. Current production was observed first at the negative potential (except for Run #4), after two or three days of polarization, in comparison to the positive potential, where current production was registered only at day 5 for all four runs. This suggests that the electroactive community developed faster at the polarization potential of -0.16 V/SHE, as significant differences were found by ANOVA analysis between polarization potentials during the first five days of polarization. This is in agreement with the results of Torres et al. [36], who observed a faster start-up at lower potentials when marine sediments were used as inoculum, but contrasts with other reports where higher potentials promoted a faster start-up, for *Shewanella oneidensis* axenic cultures [42] and domestic wastewater mixed inoculum [48]. Remarkably, as in this report, the current performance at the end of the experiments was almost the same, regardless of the applied potential or if the start-up occurred first or not. After 10 days of polarization and until the end of the experiment, the mean current density showed no significant differences in spite of the applied potential. Likewise, high standard variation was observed. During that period, mean values of  $1.09 \pm 0.59^a$  and  $1.06 \pm 0.61^a$  A  $\text{m}^{-2}$  were recorded at +0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE, respectively. Maximum current density peaks were reached after 16 days of polarization in all cases. The values for all experimental runs are shown in Table 1. The highest values registered were 2.64 A  $\text{m}^{-2}$  at +0.34 V/SHE (Run #1) and 2.45 A  $\text{m}^{-2}$  at -0.16 V/SHE (Run #4). No significant differences in maximum current density between applied potentials were found. No statistical difference in electric charge production through 21 days of polarization was observed either, which was of  $346.25 \pm 130.94^a$  C and  $476.44 \pm 300.74^a$  C, for positive and negative potentials, respectively. This was consistent with results reported by Zhou et al. [37], who found that even if each

experimental unit showed differences in current density, in the end, the quantity of coulombs delivered by each bioanode was the same regardless of the potential applied during the biofilm growth.



**Figure 1.** Current density versus time at (a) +0.34 V/SHE and (b) -0.16 V/SHE polarization potential.

**Table 1.** Maximum current density recorded at +0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE polarization potentials.

Polarization Potential	Maximum Current Density ( $A m^{-2}$ )				
	Run #1	Run #2	Run #3	Run #4	Mean
+0.34 V/SHE	2.64 (day 19)	1.17 (day 16)	1.58 (day 16)	1.29 (day 16)	$1.67 \pm 0.67^a$
-0.16 V/SHE	1.82 (day 21)	1.53 (day 20)	1.07 (day 20)	2.45 (day 16)	$1.72 \pm 0.58^a$

<sup>a</sup> Letters as subindexes indicate the results obtained by the ANOVA.

The OCV of the anode was more variable at negative potential (-0.243 V/SHE, -0.246 V/SHE, -0.273 V/SHE and -0.292 V/SHE, for each run) than at the positive one (-0.287 V/SHE, -0.292 V/SHE, -0.275 V/SHE and -0.294 V/SHE, for each run). Mean values of  $-0.263.50 \pm 0.023^a$  V/SHE and  $-0.287.00 \pm 0.008^a$  V/SHE were registered, respectively, with no statistical differences. This suggests that the OCV is dependent of the carbon source, acetate in this case, which has a standard reduction potential of -0.298 V/SHE ( $pH = 7, 50 \text{ mM } CH_3COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 7H^+ + 8e^-$ ) [49], as it has been previously observed [8]. Those values are shown in Table 2. The highest maximum power densities were registered at day 19 and 16 for +0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE, which corresponded to  $1.39 \text{ W m}^{-2}$  (Run #1) and  $1.27 \text{ W m}^{-2}$  (Run #4), respectively.

**Table 2.** Maximum power density recorded at +0.34 V/SHE and -0.16 V/SHE polarization potentials.

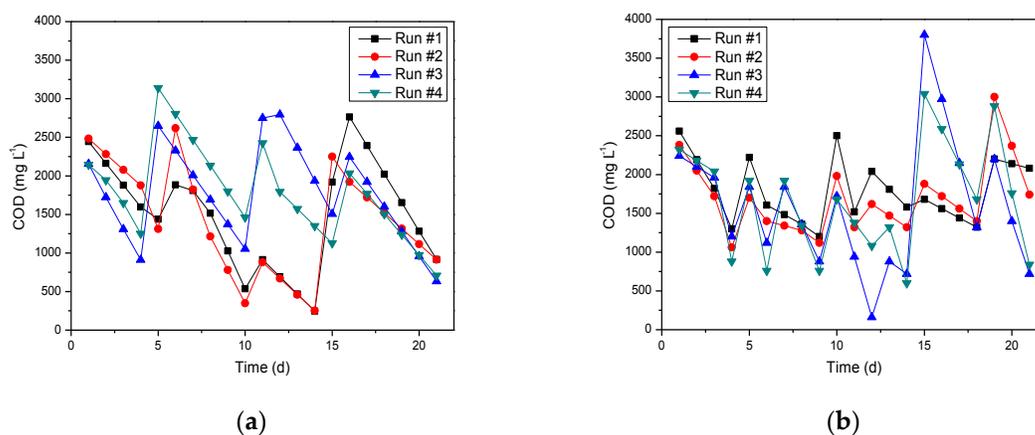
Polarization Potential	Maximum Power Density ( $W m^{-2}$ )				
	Run #1	Run #2	Run #3	Run #4	Mean
+0.34 V/SHE	1.39 (day 19)	0.62 (day 16)	0.77 (day 16)	0.64 (day 16)	$0.85 \pm 0.36^a$
-0.16 V/SHE	0.88 (day 21)	0.77 (day 20)	0.55 (day 20)	1.27 (day 16)	$0.88 \pm 0.30^a$

<sup>a</sup> Letters as subindexes indicate the results obtained by the ANOVA.

The coulombic efficiencies reached at the end of the experiments were in the range of 7% to 16% at +0.34 V/SHE, and between 13% and 53% for -0.16 V/SHE. These values were comparable to those reported by Rousseau et al. [5] (between 2% and 25%), who used a very similar inoculum

source to ours, similar materials, carbon source, medium composition, and conductivity. More elevated coulombic efficiencies were reached at the negative potential in comparison with the positive one, which are consistent with other reports, where the conductivity was less than  $50 \text{ mS cm}^{-1}$  and the microorganisms employed were obtained from brackish or freshwater streams [10,11,34]. The percentage achieved at  $-0.16 \text{ V/SHE}$  ( $29.89 \pm 17.01^{\text{b}}\%$ ) was superior with respect to that reached at  $+0.34 \text{ V/SHE}$  ( $10.58 \pm 4.41^{\text{a}}\%$ ), with marginal significance. This means that a statistical difference in the coulombic efficiency was found at a confidence interval of 10% ( $\alpha = 0.10$ ) but not at 5% ( $\alpha = 0.05$ ). Coulombic efficiency values obtained at the negative potential were similar to those reported by Lefebvre et al. [10] (20% to 60 %) and Liu et al. [11] (20% to 60%), where wastewater was used as inoculum in a microbial fuel cell, and NaCl concentration in the electrolyte was between 0 and  $40 \text{ g L}^{-1}$ , and between 6 and  $23 \text{ g L}^{-1}$ , respectively [10,11].

COD consumption and feeding profiles are presented in Figure 2. COD removal percentage was greater at positive polarization potential, in the range of 55% to 74%, in comparison to the 36% to 57% obtained at the negative potential. Significant differences were detected between means, which were  $66.12 \pm 8.03^{\text{a}}\%$  and  $47.86 \pm 10.37^{\text{b}}\%$ , respectively. Superior COD removal at positive potential may be caused by a more diverse anodic community, capable of using other biochemical pathways different than anode respiration [32,36], which is consistent with lower coulombic efficiency values.

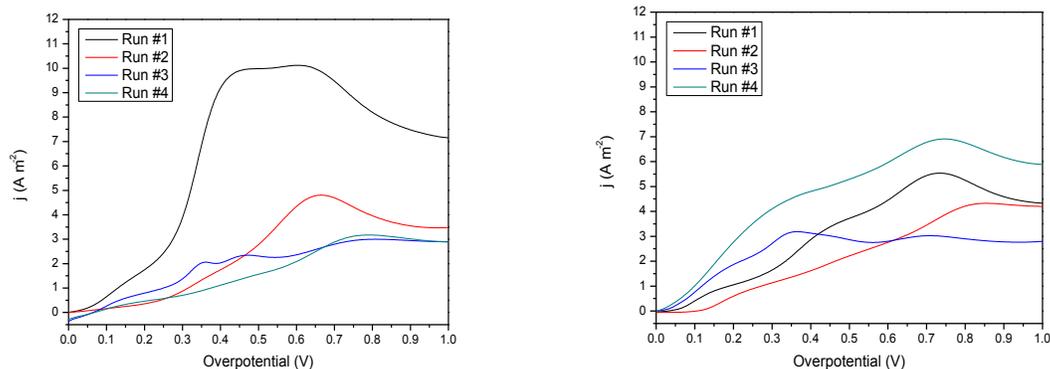


**Figure 2.** COD consumption and feeding profiles during chronoamperometry at (a)  $+0.34 \text{ V/SHE}$  and (b)  $-0.16 \text{ V/SHE}$  polarization potential.

The electrolyte conductivity was maintained between  $63$  and  $74 \text{ mS cm}^{-1}$  throughout this study. Dissolved oxygen concentration was always below  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  in all the experiments; pH values in the electrolyte were maintained in the range of 7.2 to 8.2 units in all eight experiments. A good natural buffer capacity was observed, as the pH slightly decreased after acetate feeding and then it was rapidly restored to slightly alkaline values (around 7.8) before acetate was consumed. This is explained by the large inoculum size employed in this study (15 vol%) and the high concentration of carbonates present in the sediments, as is typical at the site of sample collection because of the calcareous nature of the soil [46].

### 3.3. Maximum Current Density by Linear Voltammetry

At the end of each run, the chronoamperometry was stopped, and a linear voltammetry was performed after the OCV was stabilized. The results for each run are presented in Figure 3. The current contribution of chemical redox chemical species carried in the inoculum (other than acetate degradation) was discarded, as the eight voltammeteries performed at day 0 did not show significant oxidative current density ( $<0.1 \text{ A m}^{-2}$ ) within the scanned potential interval. Current onset was reached first when the polarization potential of  $-0.16 \text{ V/SHE}$  was applied during electroactive biofilm growth, where three of four runs showed an oxidative current as soon as the voltammetry began, which corresponds to an overvoltage between 0 and 0.05. The only exception was observed in run #2, where the onset was detected at an overvoltage above 0.1 V. Concerning the bioanodes grown at a polarization potential of  $+0.34 \text{ V/SHE}$ , all runs showed an oxidative current when an overvoltage above 0.05 V was applied. Like in chronoamperometry, current density values were quite variable between runs, in spite of the applied potential during biofilm growth. Also, variations in oxidative current peaks were observed between each run, raising the possibility that different oxidation processes occur even at the same polarization potential, which is representative of diverse redox proteins and microbial species at the anode surface. This is evident in Figure 3, where Run #1, Run #2, and Run #4 showed very similar voltamperometric shapes for each independent polarization potential. Also, Run #3 at both polarization potentials ( $+0.34 \text{ V/SHE}$  and  $-0.16 \text{ V/SHE}$ ) showed similar patterns but was different from the first group (Run #1, Run #2, and Run #4) for each polarization potential. As every experimental run was done separately, similarities or dissimilarities in current profiles due to possible experimental variations should be discarded. It should be noted that maximum current density was achieved above an overvoltage of 0.60 V in all cases, except for Run #3 at negative potential, where maximum current density was obtained at 0.3 V. These values are presented in Table 3, and are substantially higher than those obtained by chronoamperometry (Table 1). Despite the more pronounced increment in current at lower overvoltages, apparently observed at  $-0.016 \text{ V/SHE}$  polarization, the difference in maximum current density values between applied polarization potentials was not statistically significant. It is important to notice that current density differences at lower overvoltages may change over time, as was observed by Lewis et al. [35], who reported a significant shift in midpoint potential between two pre-enriched biofilms polarized at  $+0.20 \text{ V/SHE}$  and  $-0.20 \text{ V/SHE}$ . Their results showed that a biofilm polarized at negative potential ( $-0.20 \text{ V/SHE}$ ) produces higher current densities at lower potentials in comparison with a positive one ( $+0.20 \text{ V/SHE}$ ), but this was clearly observable after three months of polarization. Thus, an interesting question to ask would be whether the bioanodes obtained here are subjected to the same phenomenon if longer evaluation periods are addressed.



(a)

(b)

**Figure 3.** Linear voltammetry ( $1 \text{ mV s}^{-1}$ ) after 21 days of polarization at (a)  $+0.34 \text{ V/SHE}$  and (b)  $-0.16 \text{ V/SHE}$ .

**Table 3.** Maximum power density recorded by linear voltammetry after 21 days of polarization at  $+0.34 \text{ V/SHE}$  and  $-0.16 \text{ V/SHE}$  potential.

Polarization Potential	Maximum Current Density ( $\text{A m}^{-2}$ )				
	Run #1	Run #2	Run #3	Run #4	Mean
$+0.34 \text{ V/SHE}$	10.12	4.80	3.00	3.17	$5.27 \pm 3.38^a$
$-0.16 \text{ V/SHE}$	5.54	4.32	3.18	6.91	$4.99 \pm 1.60^a$

<sup>a</sup> Letters as subindexes indicate the results obtained by the ANOVA.

## 4. Discussion

### 4.1. Overall Energetic Performance

The oxidative current was less than  $0.1 \text{ A m}^{-2}$  during all chronoamperometries (Figure 1) within the first two days of polarization for the negative potential, and five days for the positive one. In addition, during all voltamperometries performed at day 0 for both polarization potentials (data not published). This indicates that the microbial community carried in the inoculum did not have the adequate conditions to deliver electrons to the anode right away, suggesting that, in order to produce current, some microbes need to be selected at the anode surface, and some microbes need to grow and produce redox mediators in the liquid fraction during the adaptation period [44].

Tendencies in current density during all the experiment and its values were similar to the results obtained by Dominguez-Benetton et al. [10], who evaluate a marine biofilm-supported carbon cloth ( $25 \text{ cm}^2$ ) in a three-electrode set-up (polarization at  $+0.34 \text{ V/SHE}$ ) employing synthetic media ( $49 \text{ mS cm}^{-1}$ ). As in this study, the mean current density was about  $1.00$  to  $2.00 \text{ A m}^{-2}$ . Peak values were superior during chronoamperometry in comparison to this work (up to  $3.50 \text{ A m}^{-2}$ ), although the electrolytic conductivity used here was 1.4 times higher ( $67.12 \pm 2.84 \text{ mS cm}^{-1}$ ). The same inoculum was previously studied by Erable and Bergel [18], providing up to  $4 \text{ A m}^{-2}$  for  $10 \text{ mM}$  acetate oxidation at  $+0.14 \text{ V/SHE}$ , when a stainless steel sheet was used as the supporting material. However, modest current densities were observed at replicates (max. of  $1.1$ ,  $1.2$ ,  $2.2$ , and  $3.1 \text{ A m}^{-2}$ ), showing some variability as well. These current densities were normalized with respect to the cathode area, which was 0.8 times the anode area. Higher values were reported in the same work when the anode supporting material was substituted with plain graphite ( $5.9 \text{ A m}^{-2}$ ) and a stainless steel grid ( $8.2 \text{ A m}^{-2}$ ), indicating that, despite large variability, the selected anodic collector seems to be crucial to enhance current outputs. Albeit the lower maximum current densities achieved here, similar performance was observed. Thus, microbial communities and the effect of the anodic collector would be interesting to address in future studies, as the bioanodes obtained in this work seem to behave like marine bioanodes, but with a more conductive electrolyte.

By contrast, Rousseau et al. [7] used salt marsh sediments ( $76$ – $123 \text{ mS cm}^{-1}$ ) as the inoculum source in a three-electrode arrangement with a carbon felt electrode ( $2 \text{ cm}^2$ ) as working electrode (polarization at  $+0.34 \text{ V/SHE}$ ). Despite the fact that the inoculum type, cell configuration, polarization potential, materials, and electrolyte ( $70 \text{ mS cm}^{-1}$ ) were mostly identical to this work, the maximal current densities reported here are less significant ( $2.64 \text{ A m}^{-2}$ ) than those obtained by Rousseau et al. [7] ( $16$ ,  $50$ , and  $65 \text{ A m}^{-2}$  per replicate). However, the ratio between working volume

and anode projected area was about nine times greater, which may explain why the maximal current densities were far superior compared to this work, as carbon source depletion near the electrochemically active surface is less likely to occur. It is noteworthy that elevated current outputs were not quite reproducible in a further study conducted at different polarization potentials, even though the electrolyte conductivity was more elevated ( $104 \text{ mS cm}^{-1}$ ) in comparison to this report and a large volume versus area ratio was conserved [8]. Maximum current densities were of 1.00, 2.50, 2.50, 5.00, and 8.00 at  $-0.16 \text{ V/SHE}$ ; 5.00, 7.00, 8.00, 12.00, and  $31 \text{ A m}^{-2}$  at  $+0.24 \text{ V/SHE}$ ; plus 7.00, 8.00, 24.00, 26.00, and  $39.00 \text{ A m}^{-2}$  at  $+0.44 \text{ V/SHE}$ , which are modest compared to the previous study [7] and closer to the values reported here (Table 1).

In accordance with other authors [7,8], high variability between replicates is observed, as is expected for large inoculum sizes. The heterogeneity in composition that is inherent to the sediments [50], plus the large size of the inoculum, are likely the key reason [7], as a result of the presence of a high variety of chemical species and their concentration within the sediments and hence in the electrochemical cell after inoculation. Sulfate is a common ion in marine and haline lagoon sediments, directly contributing to the sulfate-reducing activity and sulfide production [51], and impacting on current generation [52]. Also, the relatively low and variable coulombic efficiencies obtained in this work, in agreement with others reported when salt marsh sediments are used as the inoculum source in large proportions [7,8], may be explained by the sulfate-reducing activity, because six of the eight electrons employed to reduce sulfate are wasted, i.e., the electrochemical oxidation of sulfide yields only two electrons per mole of acetate as opposed to eight electrons from the direct exoelectrogenic conversion using the anode as an electron sink [44,53,54]. Thus, the influence of sulfate concentration on current production and coulombic efficiency when large inoculum sizes are employed should be more carefully addressed in further studies. Additionally, iron, a solid respiratory-chain electron acceptor of many exoelectrogenic bacteria, such as *Geobacteraceae* [55], is also a common element in marine sediments [50,55] that may compete with the anodic reactions for the electrons harnessed by the exoelectrogenic community from the carbon source [7], contributing to the low coulombic efficiencies and the high variability between replicates when large amounts of sediments are used as inoculum in MES. Such conditions may favor the establishment of a planktonic (suspended) microbial community that may or may not be electrochemically active.

In a similar work, Doyle et al. [29] employed sediments of a highly saline artificial hydric system ( $100\text{--}750 \text{ mS cm}^{-1}$ ) for bioanode development at polarization potentials of  $+0.40$  and  $+0.60 \text{ V/SHE}$ , producing a maximum current density of  $5.2$  and  $4.8 \text{ A m}^{-2}$ , respectively. These values were more modest than those obtained by Rousseau et al. [7], but more consistent with those found here. Such a difference may be explained by *Geobacter* dominant species found by Doyle et al. [29], which are often reported in marine and freshwater MES [37,46,56], whereas Rousseau et al. [7,27] found *Desulfuromonas* spp. and *Marinobacter* spp. as dominant species, of which the former are more typical of marine environments, while the latter were reported for the first time as an important species for current production. A further 16S rDNA gene assessment will be necessary to determine whether the similarities between the current density values found here and those found by other authors are due to anode-colonizing microbiota, and also to clarify the role of the suspended community.

#### 4.2. Implications of Polarization Potential for Current Density

As has been demonstrated in several works (including this one), a high variability in current density is usually observed when marine and saline inocula are used to grow bioanodes because a large amount (10 vol% to 50 vol%) is commonly employed [7,8,10,18,27,29,30,42,44]. This is important to take into account when conclusions about the effect of polarization potential over current density are made since several replicates, and statistical analysis, are not usually addressed [29,30,33,36]. In this work, it was observed that higher polarization potentials might offer advantages, like better organic matter removal. However, higher polarization potentials do not seem to affect current output significantly in comparison with lower potentials, at least with the inoculum and experimental conditions used here. Thus, current production may be more dependent on other factors besides the applied potential [37,56]. This may be true because, according to the literature, the main genera colonizing the anode surface do not vary with the applied potential, but their abundance does, indicating that the selected species are more influenced by the inoculum itself, and only slight differences in its proportion are governed by polarization potential [8,36]. Of course, further analysis of the bioanode microbial community growth in this study is still needed to elucidate this issue. Remarkably, a lower polarization potential seems to enhance some electrochemical parameters, as has been previously reported [8,42], which is in accordance with the higher coulombic efficiencies reported here when a negative polarization potential was applied. Differences between experimental designs must be considered in order to understand the role of the applied potential over the enriched microbial species and the community structure, and its relationship with current density. Torres et al. [36] found that a negative potential ( $-0.15$  V/SHE) yielded better current densities because of a stringent selection of *Geobacter* spp. (97% of abundance); it is noteworthy that the bioanode enrichment was made in the same vessel along with the other three bioanodes polarized at  $-0.09$  V/SHE,  $+0.02$  V/SHE, and  $+0.37$  V/SHE. These results contradict those reported by Rousseau et al. [8], where positive potentials were more beneficial no matter if the electrodes were polarized at different potentials within the same cell ( $-0.06$  V/SHE,  $+0.14$  V/SHE,  $+0.24$  V/SHE, and  $+0.44$  V/SHE), resulting in a stringent selection of *Marinobacter* spp. and *Desulfuromonas* spp. The main differences between the two cited reports were the inoculum source and size (wastewater and sludge, 2 vol% vs. salt marsh sediment, 10 vol%), media composition and conductivity (fresh water vs. highly saline electrolyte), feeding regime (unagitated batch without starvation vs. continuous flow) and collector porosity (plain graphite vs. felt), suggesting that the inoculum, electrolyte composition, and collector properties play an important role with respect to which species are selected under different applied potentials, as was pointed out by Commault et al. [38]. Another important difference was the length of those studies in comparison with ours; these previous studies evolve way beyond the peak current achieved in the system, whereas in our case we barely achieved this stage. This aspect is typically related to the variability in diversity and structure of the microbial community, which, beyond peak current, is governed by the geochemical environment [45]. Our results also indicate that polarization potential has no effect on overall current output despite the applied polarization potential during biofilm growth, as the maximum current density obtained in all the experiments was a function of the applied overvoltage during voltammetry and similar peaks were found for both applied potentials (Figure 3). The peaks observed in the voltammograms obtained in this work seem to be characteristic of *Geobacter* species (low overvoltages) obtained at negative polarization potential ( $-0.15$  V/SHE), but also of species from other families such as *Pseudomonadales* (high overvoltages), enriched at higher polarization potentials ( $+0.37$  V/SHE), according to results obtained by Torres et al. [36]. This indicates that, in our case, both polarization potentials applied during bioanode growth allowed the enrichment of similar communities—but presumably they were not fully

mature at the final stage of experimentation. This issue should be addressed in further studies by 16S rRNA gene and cyclic voltammetry first derivative analysis of the enriched community. Also, it is important to recognize that longer operation terms and a continuous-flow regime, as well as other techniques to remove non-exoelectrogenic bacteria from the system (i.e., chemical inhibitors and shearing) [36,57] may lead to higher current outputs than the ones observed here. This idea is supported by Ichihashi et al. [57], who achieved large increments in current density (2.3 to 38.4 A m<sup>-2</sup>) and coulombic efficiency (50% to 80%) by employing a continuous-flow operation system with successive organic loading rate increments, and removing the excess of biomass by flushing the anode chamber at high shear rates (>30 mL min<sup>-1</sup>), as an enrichment technique. It is worth mentioning that, with this technique [57], the variability in current output between replicates was presumably reduced after 26 to 29 days of operation, suggesting that this approach would be interesting to address in the future in order to enhance the energetic performance of halotolerant bioanodes and avoid a lack of reproducibility. Therefore, to enhance the anode current production of halotolerant bioanodes, other subjects like the anode collector [18,44], volume versus anode area ratio [7,8,27], microorganism source and inoculum size [38], electrolyte composition [7,10], electrode materials [18,44], substrate type and concentration feeding regime [57], batch and continuous flow operation, and length of the experiment [38,57] must be taken into account, as they seem to impact current output in a more significant way than applied polarization potential during bioanode growth, when practical applications are considered. Also, the contributions of the suspended and electrode microbial community to current production and coulombic efficiency should be carefully addressed in the future.

**Acknowledgments:** The authors thank the “Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología” (CONACYT grant no. 421498) and CEMIE-Biogas-SENER, in México, for the financial support. Also, the authors thank to Dr. Manuel Aguilar-Vega and to the “Laboratorio de Membranas” (CICY) for providing the facilities to perform the experiments.

**Author Contributions:** Muriel González-Muñoz wrote the manuscript, designed and performed the experiments; Xochitl Dominguez-Benetton contributed the main ideas for the experiments, discussed the experimental results, and helped edit the manuscript; Jorge Domínguez-Maldonado and David Valdés-Lozano performed the sediment and water recollection and analysis, helped with technical support during the experiments, and provided materials and instruments to perform the chemical analysis; Daniella Pacheco-Catalán helped design the electrochemical experiments and provided materials to perform the experiments; Otto Ortega-Morales provided technical support in the microbiology area; Liliana Alzate-Gaviria conceived, led, financed, and supervised the study, and edited the manuscript.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Logan, B.E.; Rabaey, K. Conversion of Wastes into Bioelectricity and Chemicals by Using Microbial Electrochemical Technologies. *Science* **2012**, *337*, 686–690.
2. Zhang, Y.; Irini, A. Microbial Electrolysis Cells Turning to Be Versatile Technology: Recent Advances and Future Challenges. *Water Res.* **2014**, *56*, 11–25.
3. Luo, H.; Liu, G.; Zhang, R.; Bai, Y.; Fu, S.; Hou, Y. Heavy Metal Recovery Combined with H<sub>2</sub> Production from Artificial Acid Mine Drainage Using the Microbial Electrolysis Cell. *J. Hazard. Mater.* **2014**, *270*, 153–159.
4. Wang, H.; Ren, Z.J. Bioelectrochemical Metal Recovery from Wastewater: A Review. *Water Res.* **2014**, *66*, 219–232.

5. Dominguez-Benetton, X.; Chandrakant-Varia, J.; Pozo, G.; Modin, O.; Ter Heijne, A.; Fransaer, J.; Rabaey, K. Metal Recovery by Microbial Electro-Metallurgy. *Prog. Mater. Sci.* **2018**, *94*, 435–461.
6. Dominguez-Benetton, X.; Seveda, S.; Vanbroekhoven, K.; Pant, D. The Accurate Use of Impedance Analysis for the Study of Microbial Electrochemical Systems. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 7228–7246.
7. Rousseau, R.; Dominguez-Benetton, X.; Délia, M.L.; Bergel, A. Microbial Bioanodes with High Salinity Tolerance for Microbial Fuel Cells and Microbial Electrolysis Cells. *Electrochem. Commun.* **2013**, *33*, 1–4.
8. Rousseau, R.; Santaella, C.; Bonnafous, A.; Achouak, W.; Godon, J.J.; Delia, M.L.; Bergel, A. Halotolerant Bioanodes: The Applied Potential Modulates the Electrochemical Characteristics, the Biofilm Structure and the Ratio of the Two Dominant Genera. *Bioelectrochemistry* **2016**, *112*, 24–32.
9. Lacroix, R.; Da Silva, S.; Gaig, M.V.; Rousseau, R.; Delia, M.L.; Bergel, A. Modelling Potential/Current Distribution in Microbial Electrochemical Systems Shows How the Optimal Bioanode Architecture Depends on Electrolyte Conductivity. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 22892–22902.
10. Dominguez-Benetton, X.; Godon, J.J.; Rousseau, R.; Erable, B.; Bergel, A.; Délia, M.L. Exploring Natural vs. Synthetic Minimal Media to Boost Current Generation with Electrochemically-Active Marine Bioanodes. *J. Environ. Chem. Eng.* **2016**, *4*, 2362–2369.
11. Feng, Y.; Wang, X.; Logan, B.E.; Lee, H. Brewery Wastewater Treatment Using Air-Cathode Microbial Fuel Cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *78*, 873–880.
12. Lefebvre, O.; Quentin, S.; Torrijos, M.; Godon, J.J.; Delgenes, J.P.; Moletta, R. Impact of Increasing NaCl Concentrations on the Performance and Community Composition of Two Anaerobic Reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *75*, 61–69.
13. Lefebvre, O.; Tan, Z.; Kharkwal, S.; Ng, H.Y. Effect of Increasing Anodic NaCl Concentration on Microbial Fuel Cell Performance. *Bioresour. Technol.* **2012**, *112*, 336–340.
14. Liu, H.; Cheng, S.; Logan, B.E. Power Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cells as a Function of Ionic Strength, Temperature, and Reactor Configuration. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 5488–5493.
15. De Schampelaire, L.; Rabaey, K.; Boeckx, P.; Boon, N.; Verstraete, W. Outlook for Benefits of Sediment Microbial Fuel Cells with Two Bio-Electrodes. *Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *1*, 446–462.
16. Xu, X.; Zhao, Q.; Wu, M.; Ding, J.; Zhang, W. Biodegradation of Organic Matter and Anodic Microbial Communities Analysis in Sediment Microbial Fuel Cells with/without Fe(III) Oxide Addition. *Bioresour. Technol.* **2017**, *225*, 402–408.
17. Zhao, Q.; Li, R.; Ji, M.; Ren, Z.J. Organic Content Influences Sediment Microbial Fuel Cell Performance and Community Structure. *Bioresour. Technol.* **2016**, *220*, 549–556.
18. Erable, B.; Bergel, A. First Air-Tolerant Effective Stainless Steel Microbial Anode Obtained from a Natural Marine Biofilm. *Bioresour. Technol.* **2009**, *100*, 3302–3307.
19. Monzon, O.; Yang, Y.; Yu, C.; Li, Q.; Alvarez, P.J.J. Microbial Fuel Cells under Extreme Salinity: Performance and Microbial Analysis. *Environ. Chem.* **2014**, *12*, 293–299.
20. Oren, A. Microbial Life at High Salt Concentrations: Phylogenetic and Metabolic Diversity. *Saline Syst.* **2008**, *4*, 2, doi:10.1186/1746-1448-4-2.
21. Oren, A. Life at High Salt Concentrations. In *The Prokaryotes: Prokaryotic Communities and Ecophysiology*; Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin/Heidelberg, Germany, 2013; pp. 421–440.
22. Weyl, P.K. On the Change in Electrical Conductance of Seawater with Temperature 1. *Limnol. Oceanogr.* **1964**, *9*, 75–78.
23. DasSarma, S.; DasSarma, P. Halophiles. In *eLS*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2001.
24. Pol, L.W.; Lens, P.N.; Weijma, J.; Stams, A.J. New Developments in Reactor and Process Technology for Sulfate Reduction. *Water Sci. Technol.* **2001**, *44*, 67–76.
25. Santoro, C.; Arbizzani, C.; Erable, B.; Ieropoulos, I. Microbial Fuel Cells: From Fundamentals to Applications. A Review. *J. Power Sources* **2017**, *356*, 225–244.

26. Schroder, U. Anodic Electron Transfer Mechanisms in Microbial Fuel Cells and Their Energy Efficiency. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 2619–2629.
27. Rousseau, R.; Santaella, C.; Achouak, W.; Godon, J.J.; Bonnafous, A.; Bergel, A.; Délia, M.L. Correlation of the Electrochemical Kinetics of High-Salinity-Tolerant Bioanodes with the Structure and Microbial Composition of the Biofilm. *ChemElectroChem* **2014**, *1*, 1966–1975.
28. Abrevaya, X.C.; Sacco, N.; Mauas, P.J.D.; Cortón, E. Archaea-Based Microbial Fuel Cell Operating at High Ionic Strength Conditions. *Extremophiles* **2011**, *15*, 633–642.
29. Doyle, L.E.; Yung, P.Y.; Mitra, S.D.; Wuertz, S.; Williams, R.B.H.; Lauro, F.M.; Marsili, E. Electrochemical and Genomic Analysis of Novel Electroactive Isolates Obtained Via Potentiostatic Enrichment from Tropical Sediment. *J. Power Sources* **2017**, *356*, 539–348.
30. Grattieri, M.; Suvira, M.; Hasan, K.; Minteer, S.D. Halotolerant Extremophile Bacteria from the Great Salt Lake for Recycling Pollutants in Microbial Fuel Cells. *J. Power Sources* **2017**, *356*, 310–318.
31. Holmes, D.E.; Bond, D.R.; O'Neil, R.A.; Reimers, C.E.; Tender, L.R.; Lovley, D.R. Microbial Communities Associated with Electrodes Harvesting Electricity from a Variety of Aquatic Sediments. *Microb. Ecol.* **2004**, *48*, 178–190.
32. Monzon, O.; Yang, Y.; Kim, J.; Heldenbrand, A.; Li, Q.; Alvarez, P.J.J. Microbial Fuel Cell Fed by Barnett Shale Produced Water: Power Production by Hypersaline Autochthonous Bacteria and Coupling to a Desalination Unit. *Biochem. Eng. J.* **2017**, *117*, 87–91.
33. Finkelstein, D.A.; Tender, L.M.; Zeikus, J.G. Effect of Electrode Potential on Electrode-Reducing Microbiota. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 6990–6995.
34. Sun, D.; Cheng, S.; Zhang, F.; Logan, B.E. Current Density Reversibly Alters Metabolic Spatial Structure of Exoelectrogenic Anode Biofilms. *J. Power Sources* **2017**, *356*, 566–571.
35. Lewis, A.J.; Borole, A.P. Adapting Microbial Communities to Low Anode Potentials Improves Performance of Mecs at Negative Potentials. *Electrochim. Acta* **2017**, *254*, 79–88.
36. Torres, C.I.; Krajmalnik-Brown, R.; Parameswaran, P.; Marcus, A.K.; Wanger, G.; Gorby, Y.A.; Rittmann, B.E. Selecting Anode-Respiring Bacteria Based on Anode Potential: Phylogenetic, Electrochemical, and Microscopic Characterization. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 9519–9524.
37. Zhu, X.; Yates, M.D.; Hatzell, M.C.; Rao, H.A.; Saikaly, P.E.; Logan, B.E. Microbial Community Composition Is Unaffected by Anode Potential. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 1352–1358.
38. Commault, A.S.; Lear, G.; Packer, M.A.; Weld, R.J. Influence of Anode Potentials on Selection of Geobacter Strains in Microbial Electrolysis Cells. *Bioresour. Technol.* **2013**, *139*, 226–234.
39. Wagner, R.C.; Call, D.F.; Logan, B.E. Optimal Set Anode Potentials Vary in Bioelectrochemical Systems. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 6036–6041.
40. Babauta, J.; Renslow, R.; Lewandowski, Z.; Beyenal, H. Electrochemically active biofilms: Facts and fiction. A review. *Biofouling* **2012**, *28*, 789–812.
41. American Public Health Association (APHA). *Standard Methods of Water and Wastewater*; American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation publication: Washington, DC, USA, 1996.
42. Rousseau, R.; Rimboud, M.; Délia, M.L.; Bergel, A.; Basséguy, R. Electrochemical Characterization of Microbial Bioanodes Formed on a Collector/Electrode System in a Highly Saline Electrolyte. *Bioelectrochemistry* **2015**, *106*, 97–104.
43. Wolfe, R.S. Techniques for Cultivating Methanogens. *Methods Enzymol.* **2011**, *494*, 1–22.
44. Erable, B.; Roncato, M.A.; Achouak, W.; Bergel, A. Sampling Natural Biofilms: A New Route to Build Efficient Microbial Anodes. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 3194–3199.
45. White, H.K.; Reimers, C.E.; Cordes, E.E.; Dilly, G.F.; Girguis, P.R. Quantitative population dynamics of microbial communities in plankton-fed microbial fuel cells. *ISME J.* **2009**, *3*, 635–646.
46. Logan, B.E. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 5181–5192.

47. Logan, B.E. *Microbial Fuel Cells*; Wiley-Interscience: Hoboken, NJ, USA, 2008.
48. Wang, X.; Feng, Y.; Ren, N.; Wang, H.; Lee, H.; Li, N.; Zhao, Q. Accelerated Start-up of Two-Chambered Microbial Fuel Cells: Effect of Anodic Positive Poised Potential. *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 1109–1114.
49. Heijne, A.T.; Liu, F.; Weijden, R.; Weijma, J.; Buisman, C.J.; Hamelers, H.V. Copper Recovery Combined with Electricity Production in a Microbial Fuel Cell. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 4376–4381.
50. Libes, S. *Introduction to Marine Biogeochemistry*, 2nd ed.; John Willey and Sons: Hoboken, NJ, USA, 2009; 1715p, ISBN: 9780120885305.
51. Valdes, D.; Real, E. Nitrogen and Phosphorus in Water and Sediments at Ria Lagartos Coastal Lagoon, Yucatan, Gulf of Mexico. *Indian J. Mar. Sci.* **2004**, *33*, 338–345.
52. Rabaey, K.; Van de Sompel, K.; Maignien, L.; Boon, N.; Aelterman, P.; Clauwaert, P.; De Schampelaere, L.; Pham, H.T.; Vermeulen, J.; Verhaege, M.; et al. Microbial Fuel Cells for Sulfide Removal. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 5218–5224.
53. Lovley, D.R. Microbial Fuel Cells: Novel Microbial Physiologies and Engineering Approaches. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2006**, *17*, 327–332.
54. Muyzer, G.; Stams, A.J. The Ecology and Biotechnology of Sulphate-Reducing Bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, *6*, 441–454.
55. Lovley, D.R. Bug Juice: Harvesting Electricity with Microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* **2006**, *4*, 497–508.
56. Zhu, X.; Yates, M.D.; Hatzell, M.C.; Rao, H.A.; Saikaly, P.E.; Logan, B.E. Response to Comment on Microbial Community Composition Is Unaffected by Anode Potential. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 14853–14854.
57. Ichihashi, O.; Vishnivetskaya, T.A.; Borole, A.P. High-Performance Bioanode Development for Fermentable Substrates via Controlled Electroactive Biofilm Growth. *ChemElectroChem* **2014**, *1*, 1940–1947.



© 2018 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).