

Uso de Microorganismos Nativos en la Remoción Simultánea de Materia Orgánica y Cr(VI) en una Celda de Combustible Microbiana de Biocátodo (CCM)

Dolly M. Revelo⁽¹⁾, Nelson H. Hurtado⁽²⁾, Jaime O. Ruiz⁽³⁾, Stefania López⁽²⁾

Universidad de Nariño, (1) Departamento de Biología, (2) Departamento de Química, (3) Departamento de Ingeniería Electrónica; Grupo de Investigación en Bioelectroquímica (BEQ), Calle 18 Carrera 50, Campus Torobajo, San Juan de Pasto, Nariño-Colombia (e-mail: margo.revelo@gmail.com; nhurtado@udenar.edu.co; jaimeruiz@udenar.edu.co; stefia56137@hotmail.com)

Recibido May. 5, 2015; Aceptado Jul. 6, 2015; Versión final Sep. 1, 2015, Publicado Dic. 2015

Resumen

Mediante una celda de combustible microbiana de biocátodo, constituida por electrodos de grafito sumergidos en las cámaras anódica y catódica separadas por un puente salino, fue posible reducir cromo hexavalente, degradar materia orgánica y generar electricidad. Se usó como fuente de microorganismos para el cátodo, lodo sulfidogénico o agua del río Pasto contaminada con residuos de la industria de curtiembres. La mejor condición experimental para remover simultáneamente materia orgánica y cromo se presentó durante el primer ciclo de operación de la celda, utilizando como inóculo agua del río Pasto contaminada y a la menor concentración de glucosa (0.05 M), lográndose remover 97.9% de materia orgánica, reducir 86.3 % de cromo y alcanzando una eficiencia coulombica de 0.92%. Este estudio es un aporte para mejorar el desempeño de una celda de biocátodo y proporciona herramientas válidas en los procesos de biorremediación de sistemas contaminados con cromo y materia orgánica.

Palabras clave: celda de combustible microbiana; biocátodo; cromo hexavalente; materia orgánica; biorremediación

Using Native Microorganisms for the Simultaneous Removal of Organic Matter and Cr(VI) in a Biocathode Microbial Fuel Cell (MFC)

Abstract

Using a biocathode microbial fuel cell formed by graphite electrodes submerged in the anodic and cathodic chambers separated by a salt bridge, it was possible to reduce hexavalent chromium, degrade organic matter and generate electricity. Sulfidogenic sludge or Pasto river water contaminated with industrial waste from tanneries was employed as source of microorganisms for the cathode. The best experimental condition for simultaneously removing organic matter and chromium occurs during the first cycle of operation of the cell, using Pasto river water contaminated as inoculum and the lowest glucose concentration (0.05 M), achieving 97.9% of organic matter removal, 86.3% of chromium and a coulombic efficiency of 0.92%. This study represents a contribution for improving the performance of a biocathode cell and it provides the tools for bioremediation processes in systems contaminated with chromium and organic matter.

Keywords: microbial fuel cell; biocathode; hexavalent chromium; organic matter; bioremediation

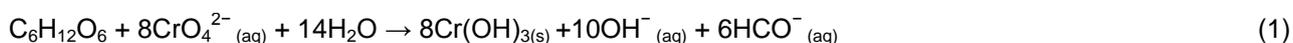
INTRODUCCIÓN

Las Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) son dispositivos que emplean microorganismos para producir electricidad, degradar materia orgánica y biorremediar ambientes contaminados; este tipo de dispositivos han sido desarrollados exitosamente a escala de laboratorio desde hace algunos años. Típicamente una CCM consta de dos compartimentos divididos por un separador semipermeable y cada uno contiene un electrodo (ánodo y cátodo), sobre los cuáles actúan los microorganismos donando o recibiendo electrones respectivamente (Du et al., 2007; Huang et al., 2011a). En los últimos años los esfuerzos de investigación se están concentrando en las CCMs de biocátodo, que son electrodos inoculados con microorganismos capaces de aceptar electrones y reducir compuestos que en su forma oxidada suelen ser contaminantes para los ambientes, tales como: Cr(VI), nitrato, sulfato, Mn(IV), Fe(III), selenato, arsenato, fumarato, perclorato, cloroetenos, 2-clorofenol, ClO_4^- , U(VI), H^+ , CO_2 , entre otros (Huang et al., 2011a; Huang et al., 2011b; Sharma y Kundu, 2010).

El Cr(VI) es un metal pesado utilizado en galvanoplastia, aleaciones de acero y otros metales, curtido de cuero, fabricación de pinturas, materiales fotográficos y producción de fungicidas (Tandukar et al., 2009). Pese a su amplia aplicación el Cr(VI) es considerado la forma más tóxica del metal, se conoce que tiene 100 veces más toxicidad que el Cr(III). La exposición crónica a altos niveles de Cr(VI) por inhalación o vía oral puede producir efectos sobre el hígado, riñón o sistema inmunológico, además la exposición dérmica puede causar dermatitis, sensibilidad y ulceración de la piel (Saha et al., 2011). Igualmente este metal es de particular preocupación ambiental por su rápida difusión a través del suelo y ambientes acuáticos, lo que dificulta su tratamiento y eliminación a través de procesos fisicoquímicos convencionales costosos que buscan la reducción a su forma menos soluble y tóxica de Cr(III) (Tandukar et al., 2009; Barrera-Díaz et al., 2012).

Esta problemática ha conllevado a que el tratamiento de Cr(VI) sea un desafío a nivel mundial. En algunas regiones de nuestro país existen curtiembres artesanales cuyas aguas residuales se depositan sobre fuentes naturales de agua como los ríos, constituyéndose en un serio problema ambiental ya que se conoce que la utilización de Cr en los procesos de curtido acelera la movilidad del mismo, excediendo las tasas del ciclo natural; el principal problema está relacionado con la posibilidad de oxidación de Cr(III) a Cr(VI) a diferentes rangos de pH (Dhal et al., 2013), lo que genera Cr(VI) en cantidades considerables que lo hace uno de los principales contaminantes. Por otra parte, en instituciones académicas donde se genera Cr(VI) como desecho de procesos de investigación, este es permanentemente acumulado sin un tratamiento adecuado. Uno de los intereses del presente estudio fue evaluar este tipo de dispositivos para enfrentar esta problemática.

Aunque las CCMs de biocátodo han sido poco estudiadas (Tandukar et al., 2009), se han convertido en una tecnología potencial para la biorremediación de este metal (Mathuriya y Yakhmi, 2014). En estos dispositivos la reducción de Cr(VI) a Cr(III) ocurre bajo condiciones ácidas, en la cual los electrones producidos en la cámara anódica a partir de la oxidación de donadores de electrones pueden promover la reducción del Cr(VI) en la cámara catódica, generándose simultáneamente electricidad (Wang et al., 2008). En ausencia de oxígeno, el Cr(VI) puede servir como un aceptor final de electrones en la cadena respiratoria, en la cual enzimas solubles o asociadas a la membrana citoplasmática, median el proceso de reducción bajo condiciones anaeróbicas. Cuando se emplea glucosa como donador de electrones el proceso se describe de acuerdo a la Ecuación 1 (Barrera-Díaz et al., 2012).



Existen diferentes mecanismos de resistencia/tolerancia al Cr que incluyen la reducción de Cr(VI) a Cr(III), en las bacterias el proceso varía de cepa a cepa dependiendo de sus actividades biogeoquímicas y de los modelos de utilización de nutrientes (Dhal et al., 2013). La reducción microbiana de Cr(VI) ha sido investigada por diversos autores, quienes han aislado diferentes bacterias reductoras de Cr(VI) (BRC) a partir de suelos, aguas y sedimentos contaminados con este metal (Vaipoulou y Gikas, 2012; Perelomov y Chulin, 2014); se destacan las investigaciones llevadas a cabo en CCMs de biocátodo con microorganismos procedentes de aguas residuales domésticas (Wang et al., 2008), digestores anaeróbicos (Tandukar et al., 2009), suelos contaminados con Cr(VI) (Huang et al., 2010), efluente del clarificador primario de una planta de tratamiento de aguas residuales (Huang et al., 2011b), lodo de digestor anaerobio (Wu et al., 2015) y cultivo de la bacteria *Shewanella oneidensis* MR-1 (Xafenias et al., 2013; 2014).

Estas recientes investigaciones demuestran el potencial de los microorganismos para reducir Cr(VI) por lo que se concluye que se deben explorar diferentes fuentes de microorganismos para lograr biocátodos más eficientes. En esta investigación se estudian biocátodos formados por microorganismos provenientes de aguas del río Pasto contaminadas con efluentes de curtiembres y de lodos sulfidogénicos de la planta de

tratamiento de residuos sólidos de la ciudad; se ha establecido que éstos últimos poseen bacterias reductoras de sulfato (BRS) que son capaces de reducir Cr(VI) a Cr(III) debido a su analogía con el anión sulfato (Smith y Gadd, 2000).

Diversos investigadores han logrado simultáneamente generar electricidad y remover importantes cantidades de este metal de la cámara catódica, en distintos periodos de operación de una CCM de biocátodo, considerando principalmente el pH y la concentración inicial de Cr(VI). Por ejemplo: reducción hasta 100 mg/L de Cr(VI) en 150 horas y una máxima densidad de potencia (DP) de 150 mW/m² con 200 mg/L de Cr(VI) inicial (Wang et al., 2008); 0.46 mg Cr(VI)/g VSS.h y 55.5 mW/m² (Tandukar et al., 2009); 2.4 ± 0.2 mg/g VSS.h y 2.4 ± 0.1 W/m³ (Huang et al., 2010); 19.7 mg/L.d y 6.4 W/m³ (Huang et al., 2011b); 9 de 10 mg/L en 4 horas y una máxima densidad de corriente de 32.5 mA m⁻² (Xafenias et al., 2013); 26% en 36 días (Xafenias et al., 2014) y 0.66 ± 0.01 mg/L h y 9.7 ± 0.4 mW/m² (Wu et al., 2015). Sin embargo, factores como configuración, sustratos y microorganismos no han sido valorados en su conjunto (Revelo et al., 2013), por lo que es importante dedicar esfuerzos investigativos en estos dispositivos con el propósito no solo de optimizar las condiciones de operación sino también de diseñar celdas con materiales de bajo costo empleando sustratos alternativos y microorganismos nativos. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue remover simultáneamente materia orgánica, reducir Cr(VI) y generar electricidad en una CCM de biocátodo, empleando inóculos provenientes de diferentes muestras colectadas en la ciudad de Pasto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de las CCMs

Se construyeron CCMs en acrílico cristal de doble cámara, anódica y catódica (cada una de 343 mL), empleando como separador un puente salino (KCl 0.25M en agar) contenido en un compartimiento de paredes perforadas (40 mL), los electrodos (ánodo y cátodo) fueron barras de grafito con un área de 16.16 cm² cada uno y para aumentar su área de superficie, estos fueron sumergidos sobre lechos de minas de grafito con un área de 39.6 cm². Los electrodos en ambas cámaras se mantuvieron a una distancia de 5 cm y fueron conectados por medio de un alambre conductor a una resistencia externa (525 Ω).

Inoculación y operación de las CCMs

Se empleó un tipo de inóculo para las cámaras anódicas correspondiente a lodos anaerobios provenientes de la planta de tratamiento de residuos sólidos de la ciudad (Relleno Sanitario Antanas - RSA) y dos tipos de inóculos para las cámaras catódicas: lodos sulfidogénicos recolectados del RSA (celdas S) y aguas del río Pasto contaminadas con aguas residuales de curtiembres artesanales aledañas a su rivera (celdas P). Todas las muestras fueron transportadas a los laboratorios de la Universidad de Nariño y refrigeradas hasta su uso. Para la cámara anódica se emplearon 300 mL de agua residual sintética descrita por Cha et al. (2010) constituida por macronutrientes (g/L): KH₂PO₄ (8.2), K₂HPO₄ (7.0), NH₄Cl (0.1), NaHCO₃ (0.2), MnSO₄·H₂O (100), micronutrientes (mg/L): CaCl₂·6H₂O (130), FeCl₃ (1000), H₃BO₃ (6), ZnCl₂ (70), CuCl₂ (2), (NH₄)₆(Mo₇O₂₄)₄·4H₂O (206), AlCl₃ (50), CoCl₂ (238), NiCl₂ (24), MgCl₂ (100) y modificada en su fuente de carbono, empleando glucosa en diferentes concentraciones: las celdas con una concentración de glucosa de 0.25 M se identificaron como S1 y P1, con 0.1 M de glucosa (S2 y P2) y con 0.05 M (S3 y P3) (Tabla 1). Todas las cámaras anódicas fueron inoculadas al 10% (v/v) con lodos anaerobios recolectados en la laguna de igualación del RSA.

En la cámara catódica se emplearon 300 mL de una solución catódica de macronutrientes descrita por Huang et al. (2010) (g/L): KH₂PO₄ (4.4), K₂HPO₄ (3.4), NH₄Cl (1.3), NaHCO₃ (1.0), NaCl (0.5) y micronutrientes propuesta por Cha et al. (2010) (sustituyendo el MgCl₂ por MgSO₄·7H₂O) y suplementada con K₂Cr₂O₇ (Cr(VI)) a 50 ppm, que para la primera serie de ensayos fue inoculada con lodo anaerobio sulfidogénico recolectado de la piscina de sedimentación del RSA al 10% (v/v) (Celdas S) y para la segunda serie de ensayos con microorganismos procedentes de aguas contaminadas del río Pasto al 10% (v/v) (celdas P).

Periodo de aclimatación de los electrodos y ciclos de operación de las CCMs

Con el fin de promover la formación de una biopelícula sobre los ánodos y cátodos y así mejorar su desempeño eléctrico (Wu et al., 2015), éstos se sometieron a un periodo de aclimatación bajo condiciones de anaerobiosis en beakers de 400 mL a temperatura ambiente hasta la formación de la biopelícula, renovando periódicamente un porcentaje de volumen de soluciones anódica y catódica y con recambio de inóculos para cada cámara. Posteriormente los bioelectrodos se introdujeron en las diferentes celdas y estas se operaron de manera simultánea durante tres ciclos, la finalización de cada ciclo se estableció cuando el voltaje fue cercano a cero, momento en el cual se adicionaron inóculos y soluciones anódica y catódica frescas. Todas las celdas fueron operadas a temperatura ambiente y en modo *batch*.

Determinación de parámetros analíticos

La cantidad de materia orgánica removida en las CCMs se estableció evaluando la Demanda Química de Oxígeno (DQO) al inicio y al final de cada ciclo, los datos se expresaron como porcentaje de remoción de materia orgánica (%MO). Para el análisis se recolectaron muestras de la cámara anódica de cada celda, se filtraron y se procesaron inmediatamente de acuerdo al método estándar 5220B, empleando un reactor de digestión (E&Q Termoreactor). Previamente se hizo una recta de calibrado preparando soluciones del patrón primario ftalato ácido de potasio en un intervalo de concentración equivalente a 100-1000 mg O₂/L. Cada punto de la recta se midió por triplicado y los resultados se expresaron como el dato \pm desviación estándar (d.e.).

Para medir el porcentaje de reducción de cromo hexavalente (%Cr(VI)) se cuantificó el Cr(VI) remanente en la solución catódica mediante el método estándar 3500D que usa la 1,5-difenilcarbazida. La determinación se realizó en muestras tomadas al inicio y al final de cada ciclo, posterior al tratamiento para cada solución se registró la lectura de absorbancia a 543 nm utilizando un espectrofotómetro Pharo 3000. Preliminarmente a este procedimiento se construyó una recta de calibrado preparando soluciones de K₂Cr₂O₇ en un intervalo de concentraciones adecuado. Para la calibración cada punto de la recta se evaluó por triplicado y se determinó además su rango lineal, precisión, exactitud, límite de cuantificación y límite de detección. Finalmente para determinar la concentración de Cr(VI) remanente en las CCMs los datos de absorbancia se interpolaron en la función lineal.

Determinación del desempeño eléctrico

Para el análisis del desempeño eléctrico de la CCM se realizaron mediciones de voltaje sobre la resistencia externa en circuito cerrado durante los tres ciclos de operación, para ello se utilizaron multímetros (marca Uni-Trend®), los valores medidos se registraron en formato digital y a partir de esos datos se calcularon Intensidad de corriente (I), Densidad de Potencia (DP) y Eficiencia Coulómbica (EC), según las ecuaciones descritas por Sharma y Li (2010) y Luo et al. (2010).

Diseño Experimental y análisis estadístico

Se aplicó un diseño multifactorial categórico con tres factores y sus respectivos niveles así: concentración de sustrato (0.25M, 0.1M, 0.05M), tipo de inóculo (lodos sulfidogénicos y agua de río Pasto) y ciclo de operación (ciclos 1, 2 y 3). Se evaluaron 6 unidades experimentales (3 celdas S y 3 celdas P) y las variables de respuesta fueron: %Cr(VI), %MO, DP y %EC. El análisis estadístico se hizo mediante un ANOVA multifactorial empleando el software Statgraphics Centurión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Remoción de materia orgánica en las CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI)

La concentración de materia orgánica en la cámara anódica se verificó evaluando la DQO, el balance de masa de esos experimentos expresado como mgO₂/L se muestra en la Tabla 1. En todas las celdas se observa que la concentración de materia orgánica inicial disminuyó, esta remoción demuestra la actividad microbiana a nivel de la cámara anódica llevada a cabo por los lodos anaerobios empleados. La actividad de los microorganismos ha sido ampliamente discutida para CCMs de cátodo aireado empleando diferentes tipos de sustratos (Rabaey et al., 2003; Kiely et al., 2011; Velasquez-Orta et al., 2011). En esta investigación se empleó como materia orgánica glucosa que puede ser degradada en sustratos no fermentables tales como acetato o etanol, lo cual presumiblemente estimula el crecimiento de diferentes poblaciones y explicaría la alta actividad electroquímica en el ánodo, donde las bacterias exoelectrogénicas pueden catalizar la oxidación de materia orgánica a dióxido de carbono, durante la transferencia extracelular de electrones hacia el ánodo (Song et al., 2014).

Para la mayoría de las celdas el tiempo de operación fue diferente en cada ciclo, se destaca que en general el primer ciclo de operación fue el más largo (datos no mostrados), además estuvo influenciado por la concentración de glucosa en la cámara anódica porque los ciclos más largos se presentaron a menores concentraciones de glucosa (0.05M, celdas S3 y P3) (Tabla 1). El análisis de varianza permitió evaluar el efecto de los ciclos, concentración de glucosa e inóculos sobre la variable dependiente (%MO), estableciéndose que el factor ciclo influye significativamente sobre el %MO ($p < 0.05$) y el análisis de efectos individuales mostró que los factores concentración de glucosa y tipo de inóculo lo hacen en menor medida.

Además se comprobó estadísticamente que el mayor %MO se presentó cuando la CCM se alimentó con las menores concentraciones de glucosa: 97.9% para P3 y 91.5% para S3, durante el ciclo 1 de estas celdas, en las que se alcanzaron los mayores valores de voltaje (Tabla 1). Sobresale que la celda inoculada con microorganismos provenientes del agua del río Pasto y operada con la menor concentración de sustrato (0.05 M) presenta el mayor % de reducción de materia orgánica y el mayor periodo de operación (1297 horas) en el ciclo 1.

Tabla 1: Desempeño de las CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI).

| Celda | | Concentración (M) | No.de ciclo | Duración (horas) | Voltaje máximo (mV) | DP máxima (mW/m ²) | EC (%) | % Reducción de Cr (VI) | % remoción de MO (DQO en mg O ₂ /L) |
|--------------------|----|-------------------|-------------|------------------|---------------------|--------------------------------|--------|------------------------|--|
| Lodo Sulfidogénico | S1 | 0.25 | 3 | 81 | 37 | 0.472 | 0.0093 | 49.2 | 35.5 |
| | S2 | 0.1 | 2 | 719 | 40 | 0.557 | 0.1184 | 58.7 | 73.3 |
| | S3 | 0.05 | 1 | 1062 | 49 | 0.822 | 1.0415 | 70.0 | 91.5 |
| Agua del río Pasto | P1 | 0.25 | 1 | 697 | 99 | 3.393 | 0.0231 | 42.9 | 47.6 |
| | P2 | 0.1 | 1 | 874 | 94 | 3.03 | 0.0436 | 60.9 | 96.0 |
| | P3 | 0.05 | 1 | 1297 | 88 | 2.671 | 0.9232 | 86.3 | 97.9 |

Estos resultados sugieren que los microorganismos muestran capacidad de aprovechar la glucosa a distintas concentraciones y su influencia en el desempeño eléctrico en cada ciclo de operación, los datos indican que el incremento en la concentración de glucosa tiene efectos sobre el desempeño de la celda; diferentes investigadores han demostrado que altas concentraciones de sustrato disminuyen la actividad bioelectroquímica debido a la presión osmótica resultante de la fuente de sustrato concentrada, los ácidos orgánicos acumulados y el bajo valor de pH en el ánodo (Sharma y Li, 2010; Cirik, 2014). El análisis cinético de la inhibición del sustrato ha demostrado que a mayor concentración se presenta menor generación de energía en las CCMs, ya que más de una molécula de sustrato se une al sitio activo de la enzima, mediante contactos al azar, lo que puede conducir a la inactivación de las enzimas, la disminución de la actividad de transferencia de electrones y la baja generación de voltaje (Sharma y Li, 2010).

En esta investigación se observan resultados que están en concordancia con este análisis cinético, ya que a mayores concentraciones de glucosa disminuyen los %MO (Figura 1). Mediante el análisis de varianza se estableció que el factor ciclo influye significativamente sobre la variable dependiente ($p < 0.05$) y el análisis de efectos individuales muestra que los factores concentración de glucosa y tipo de inóculo lo hacen en menor medida; para confirmar el resultado anterior se realizó la prueba de múltiples rangos demostrándose que el ciclo 1 es el que más influye en el %MO. A mayor duración del ciclo mayor es la degradación de la MO, estos datos están en correspondencia con lo demostrado por Cirik (2014), quien obtuvo una eliminación de materia orgánica del 90% en un periodo de 15 días y de 56% en 10 días.

Combinando los diferentes factores se concluye que la mejor condición para obtener el mayor %MO se presenta utilizando una concentración de glucosa de 0.05 M, en el primer ciclo y empleando como inóculo microorganismos del agua contaminada del río Pasto. Bajo estas condiciones fue posible reducir significativamente el contenido de materia orgánica, de gran importancia para el futuro tratamiento de aguas residuales industriales. Como consecuencia de la remoción de materia orgánica se generan electrones, los cuáles son colectados por el ánodo y se transfieren a la cámara catódica donde se presenta el fenómeno de la reducción del Cr(VI).

Reducción de Cr(VI) en las CCMs de biocátodo

La concentración de Cr(VI) al inicio y al final de cada ciclo de operación en la CCM se determinó de acuerdo a la metodología mencionada anteriormente. En el proceso de análisis se obtuvo para la recta de calibrado un coeficiente de determinación de $r^2 = 0.998$ y un límite de detección de 0,0088 ppm. En la Figura 1 se puede observar que los %Cr(VI) son proporcionales a los %MO, los cuales a su vez dependen de la concentración de glucosa en la cámara anódica. Estos resultados son coherentes con los mecanismos propuestos para este tipo de dispositivos (Singh et al., 2011). Al respecto Perelomov y Chulin (2014) han establecido que existe una asociación directa entre la cantidad de materia orgánica adicionada y el grado de reducción de Cr(VI) y destacan que la actividad microbiana natural en muestras con materia orgánica, proporciona una reducción del 96% de los cromatos, en esta investigación se corrobora la asociación entre materia orgánica y reducción de Cr(VI), observándose que las celdas con menor concentración de glucosa (0.05 M) presentan el mayor porcentaje de reducción de Cr(VI) y remoción de MO (Figura 1).

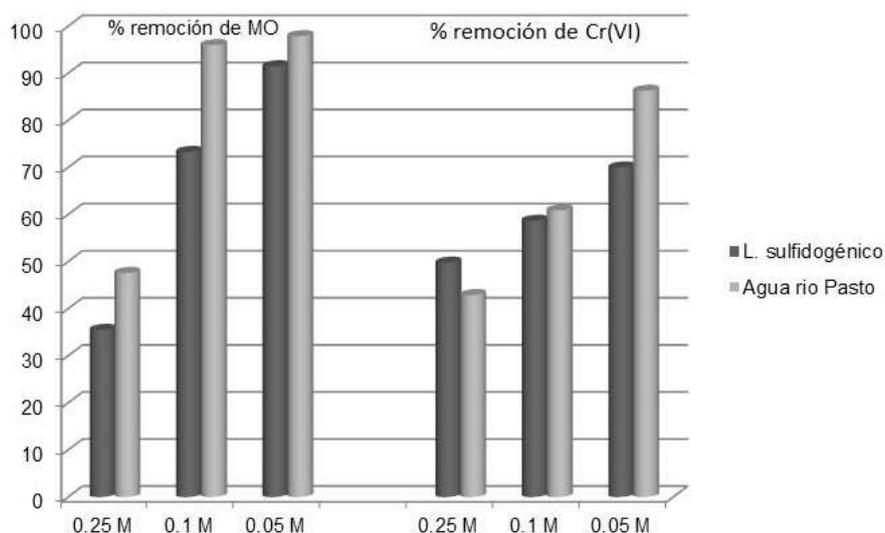


Fig. 1: Valores máximos en remoción de materia orgánica (MO) y reducción de Cr(VI) utilizando como inóculos lodo sulfidogénico o agua del río Pasto.

Se debe resaltar que la reducción de Cr(VI) catalizada microbiológicamente siempre requiere de la adición de una fuente de carbono orgánica externa (Wu et al., 2015). En las CCMs de biocátodo que fueron operadas en esta investigación se logró reducir Cr(VI) en un ambiente autotrófico como también lo han demostrado otros autores (Tandukar et al., 2009), en estos casos la glucosa se mantiene en la cámara anódica y los electrones fluyen hasta el biocátodo, donde las bacterias anaerobias pueden usar Cr(VI) como un aceptor final de estos electrones o reducir cromato en el espacio periplasmático por hidrogenasa o citocromo *c3* (Dhal et al., 2013). El uso directo de la fuente de carbono orgánico en la cámara catódica aumentaría el costo y reduciría la eficiencia debido a la competición por la fuente de carbono con otros microorganismos que fácilmente crecen en el ambiente heterotrófico y las BRC por la fuente de carbono (Wu et al., 2015).

Los mayores porcentajes de reducción de cromo los presentaron las celdas P3: agua del río Pasto, 0.05 M en glucosa (86,3%, 1297 horas de operación) y S3: *L. sulfidogénico*, 0.05 M en glucosa (70 %, 1062 horas de operación), esto sugiere una alta actividad bioelectroquímica para estas celdas (Tabla 1, Figura 1). Remociones de este orden, aunque con relativamente largos tiempos de operación de la celda, son de gran importancia debido al carácter tóxico de este ión. En otras investigaciones se han obtenido eficiencias de reducción del orden de 97% en 50 horas en CCM con cátodo de grafito y bajo similares concentraciones, pero utilizando membrana de intercambio protónico (MIP) como separador (Wang et al., 2008). En esta investigación por su bajo costo se empleó el puente salino y se obtuvieron importantes %Cr(VI) comparados con los reportados en otras publicaciones que emplearon MIP (Tandukar et al., 2009; Huang et al., 2010; Huang et al., 2011; Xafenias et al., 2014; Wu et al., 2015).

El análisis de varianza para el porcentaje de reducción de cromo mostró que los factores ciclo, inóculo y la interacción ciclo-concentración, tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el %Cr(VI) ($p < 0.05$), sin embargo, el análisis de los efectos individuales indicó que el factor ciclo produce el mayor efecto, seguido por el factor inóculo; la prueba de múltiples rangos tanto para ciclos como para inóculos mostraron diferencias significativas para ambos factores. Estos resultados demuestran la influencia de los ciclos discutida anteriormente para %MO, igualmente se observa que a mayor duración de los ciclos mayor %Cr(VI) (Tabla 1). También se debe destacar la relevancia de los microorganismos del cátodo, ya que estadísticamente se comprobó que los lodos sulfidogénicos realizaron un apreciable aporte en la reducción de cromo, aunque como se puede notar en la Figura 1, los microorganismos de las aguas del río Pasto presentes en la cámara catódica, parecen facilitar los procesos de reducción de Cr(VI), ya que el mayor porcentaje de reducción de cromo (86,3%) fue obtenido en la celda operada con este tipo de inóculo en el primer ciclo.

En general las celdas con menor concentración de glucosa (S3 y P3) mostraron durante el primer ciclo el mayor %Cr(VI) con 70.0 y 86.3 % respectivamente (Figura 1), el mayor valor de la celda P3 que utiliza como inóculo aguas del río Pasto, puede explicarse posiblemente por la amplia diversidad metabólica de bacterias presentes en el agua contaminada procedente de las curtiembres aledañas.

En esta investigación se muestra que bajo las condiciones experimentales propuestas, tanto los microorganismos procedentes de las aguas del río Pasto contaminadas con efluentes de curtiembres como los presentes en los lodos sulfidogénicos, formaron biocátodos para la reducción de Cr(VI). Es importante destacar que este trabajo aporta conocimiento sobre microorganismos reductores de Cr(VI) que se encuentran en la región y a futuro podrían emplearse como inóculo para el tratamiento de aguas residuales. En varios estudios se ha demostrado que salvo algunas excepciones, las bacterias aisladas a partir de sitios contaminados con Cr(VI) son reportadas como altamente resistentes (Dhal et al., 2013), probablemente por esta razón el mayor %Cr(VI) se obtuvo en la celda P3; sin despreciar el desempeño de las celdas S, ya que los lodos sulfidogénicos provienen de ambientes anóxicos y enriquecidos con SO_4^{2-} , donde habitan las BRS que son consideradas anaerobias estrictas con una amplia gama de aceptores finales de electrones (Márquez-Reyes et al., 2013) que pueden llevar a cabo la reducción de Cr(VI) 100 veces más rápido que las BRC (Barrera-Díaz et al., 2012).

En las soluciones catódicas inoculadas con lodos sulfidogénicos se reemplazó el MgSO_4 por MgCl_2 (Huang et al., 2010), considerando que diferentes especies bacterianas pueden acumular cromo por transporte activo de Cr(VI) por la vía de sulfato, debido a que el cromato (con cuatro átomos de oxígeno dispuestos tetraédricamente y dos cargas negativas) se asemeja al sulfato (Vaiopoulou y Gikas, 2012). Como se mencionó anteriormente, en esta investigación las condiciones establecidas permitieron que los lodos sulfidogénicos contribuyeran a la reducción de Cr(VI) de manera importante (Figura 1), con %Cr(VI) cercanos a los reportados por otros investigadores quienes han empleado este tipo de bacterias en reactores diferentes de las CCMs (Smith y Gadd, 2000; Singh et al., 2011; Pagnanelli et al., 2012; Márquez-Reyes et al., 2013).

Es importante destacar que los consorcios microbianos provenientes de las aguas del río Pasto y de los lodos sulfidogénicos fueron resistentes a 50 ppm de Cr(VI), otros consorcios microbianos provenientes de ambientes contaminados con Cr(VI) mostraron resistencias a menores concentraciones, tales como 2.6 ppm (Márquez-Reyes et al., 2013) o 5 ppm y 25 ppm (Ryu et al., 2011). Además estos microorganismos formaron biocátodos que contribuyeron a la reducción de Cr(VI), en una solución catódica a la cual no se le adicionaron mediadores exógenos de electrones. Tal como lo discuten Huang et al. (2010), la unión directa de las células al electrodo pudo asegurar un transporte de electrones por medio de mediadores endógenos o nanoconductores tipo pili. La transferencia de electrones es un aspecto a considerar en futuros estudios, para aportar al naciente conocimiento que existe sobre biocátodos reductores de Cr(VI), sus mayores eficiencias y ventajas en comparación con los procesos convencionales de remediación de sitios contaminados con Cr(VI) (Huang et al., 2010).

Evaluación del desempeño eléctrico de las CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI)

La magnitud del voltaje generado en las diferentes CCMs de biocátodo evaluadas en este estudio presentó un comportamiento similar, es decir, se observa que al inicio del ciclo el voltaje es relativamente alto y posteriormente es fluctuante con tendencia a disminuir hasta aproximarse a cero, como se muestra en la Figura 2 para la celda S1. Las diferencias que se presentaron entre las diversas celdas son con respecto al tiempo de duración de cada ciclo (discutido anteriormente), los máximos voltajes y los valores de DP y EC (Tabla 1).

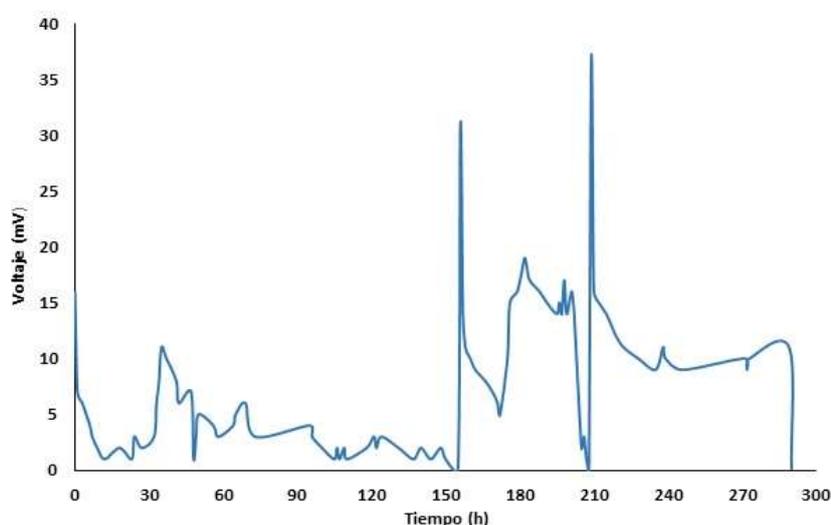


Fig. 2: Generación de voltaje en la CCM de biocátodo S1.

Se debe resaltar que al cerrar el circuito y en el momento de realimentar con inóculo y solución fresca las cámaras anódica y catódica (después de cada ciclo), el voltaje máximo alcanzado para la mayoría de las celdas fue al inicio del ciclo, sin embargo, en las celdas P2 y P3, el voltaje máximo se presentó en el transcurso del ciclo 2 y en la celda S2 durante los ciclos 2 y 3. Los voltajes altos al inicio del ciclo pueden corresponder al potencial acumulado en el momento de cerrar el circuito o cuando se alimenta con medio fresco, ya que en circuito abierto los electrones no pueden fluir del ánodo al cátodo y como resultado las bacterias son incapaces de usar el ánodo como aceptor externo de electrones (Sevda et al., 2014). Otros investigadores obtuvieron altos valores de voltaje y DP cuando las reacciones de oxidación de la glucosa en la cámara anódica fueron dominantes, especialmente al inicio de la reacción, evidenciándose un mayor flujo de electrones desde el ánodo hacia el cátodo (Cirik, 2014).

La fluctuación de voltaje puede estar relacionada con la actividad microbiana en la biopelícula anódica, donde actúan bacterias exoelectrogénicas y también las que no son capaces de transferir electrones al ánodo pero degradan la materia orgánica (Song et al., 2014). Según Kiely et al. (2011) la combinación de poblaciones microbianas está relacionada con los productos que se generan en el medio durante la formación de la biopelícula lo que incide en la generación de voltaje, ya que los procesos sintróficos son claves en la exoelectrogénesis de un sustrato.

Los altos voltajes obtenidos durante el transcurso del ciclo podrían deberse a la rápida utilización de productos finales de la fermentación por exoelectrógenos que inhiben la retroalimentación de los consorcios fermentativos, permitiendo un rápido metabolismo de los compuestos orgánicos (Kiely et al., 2011). Por otra parte, la finalización de cada ciclo se estableció por la disminución de voltaje hasta un valor mínimo, con relación a esto Picioreanu et al. (2010) interpretan que cuando se consume el sustrato adicionado no se podría presentar una caída de voltaje a cero ya que se conserva la actividad microbiana debida al metabolismo endógeno o a la degradación de un sustrato intracelular almacenado.

Un parámetro importante para el análisis del desempeño eléctrico es la DP, la cual refleja la generación de voltaje con relación al área de los electrodos de la celda. En la Tabla 1 se muestra que en el primer ciclo de la celda P1 (agua del río Pasto, 0.05 M) se alcanza una máxima DP de 3.3 mW/m². Otras investigaciones muestran diferentes resultados, por ejemplo, Xafenias et al. (2013) en el proceso de reducción de Cr(VI) empleando una CCM de biocátodo constituida por una MIP y que usa como fuente de carbono lactato, lograron una DP de 1.7 mW/m² que es menor a la conseguida en esta investigación, sin embargo, Tandukar et al. (2009) en el procedimiento de reducción del Cr(VI) mediante una CCM de biocátodo, (MIP, acetato), obtuvieron una DP máxima de 55.5 mW/m², que es significativamente mayor. Por último, en la investigación de Singhvi and Chhabra (2013) para la reducción de Cr(VI) mediante una CCM de doble cámara con puente salino, cátodo abiótico y usando biomasa de algas en la cámara anódica, lograron una máxima DP de 207 mW/m², que igualmente es mucho mayor a la alcanzada en esta investigación.

Eficiencia coulombica de las CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI)

La EC es otro parámetro que se utiliza para el análisis del desempeño eléctrico de una CCM y cuantifica la producción de corriente eléctrica durante todo el ciclo, a diferencia de la DP cuya medición refleja la generación de voltaje en un solo punto del ciclo. El cálculo de la EC se basa en determinar la carga eléctrica que circula por la resistencia externa con relación a la carga generada en la cámara anódica, la que se establece a partir de la remoción de materia orgánica al final del ciclo. Los máximos valores de EC obtenidos en las celdas de este estudio se muestran en la Tabla 1.

En esta investigación la máxima EC se logró en el primer ciclo de la celda S3 (1.04%), este valor es bajo si se compara con lo publicado por Li et al. (2008) quienes obtuvieron una EC de 12% en una CCM reductora de Cr(VI) de cátodo abiótico. Es conocido que la EC está asociada a las diferentes condiciones de operación de la celda, como pH (Singhvi and Chhabra, 2013), tipo de electrodos (Hou et al., 2012), separador (Sharma y Li, 2010) y diferentes inóculos (Choi et al., 2003), que afectan la resistencia interna de las celdas. En este trabajo se demuestra que es posible la generación de electricidad (aunque baja) utilizando CCMs de biocátodo fabricadas con elementos de bajo costo. Se destaca que la máxima EC se alcanzó en la celda S3 (ciclo 1) y la máxima DP se logró para la celda P1 (ciclo 1) (Tabla 1), como se mencionó anteriormente esto se puede explicar porque el cálculo de la EC involucra el tiempo de duración del ciclo que fue más largo para el caso de la celda S3, mientras que el cálculo de la DP es una medida puntual.

Como se puede observar en la Tabla 1, la EC de algunas CCMs está directamente relacionada con la remoción de materia orgánica, de manera que a mayor %MO mayor EC, que es análogo con lo publicado por Cirik, (2014). Sin embargo en este estudio valores altos de %MO necesariamente no implicaron valores

altos de EC, lo que podría explicarse por el bajo desempeño eléctrico de las celdas que revela un escaso flujo de los electrones liberados en el ánodo y que circulan por el circuito externo de la celda que ocasionan valores significativamente bajos de corriente eléctrica. Diferentes autores señalan particularidades que podrían afectar la circulación de los electrones en la celda, entre ellas: la ineficiencia del puente salino (Li et al., 2010), la existencia de otros aceptores finales de electrones, material y porosidad del electrodo, entre otros (Chae et al., 2009; Li et al., 2010).

El análisis de varianza realizado para la EC, indicó que la concentración de glucosa en la cámara anódica, es el factor que tiene un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$) sobre esta variable. Las celdas S3 y P3 con la menor concentración de glucosa mostraron los valores más altos de EC (1.0415% y 0.9232% respectivamente), mientras que las celdas S1 (sulfidogénico, 0.25 M) y P1 (agua del río Pasto, 0.25 M) con mayor concentración de glucosa presentaron valores más bajos de EC (Tabla 1). Esta tendencia se confirmó mediante la prueba de múltiples rangos, se observó que existen dos grupos homogéneos que pertenecen a las celdas con concentración de glucosa (0.25M y 0.1M) que no presentan diferencias estadísticamente significativas y que producen una EC similar, mientras que las celdas con menor concentración de glucosa (0.05 M) fueron las que generaron la mayor EC. Este comportamiento se podría valorar igualmente con base en el análisis cinético realizado para explicar el efecto de la concentración de glucosa sobre el %MO. Sharma y Li (2010) determinaron la EC en una CCM de cámara sencilla, utilizando como fuente de carbono glucosa demostrando que los valores de EC decrecen significativamente al aumentar la concentración de materia orgánica, lo que limita la generación de energía en la CCMs. En esta investigación logró obtener una EC máxima de 19% utilizando glucosa a una concentración 0.5 M.

Se debe considerar que la eficiencia de la glucosa como combustible es baja, debido a que es un sustrato fermentable y en su proceso de degradación participan diversos metabolismos competitivos (Chae et al., 2009; Sharma y Li, 2010). Además, se ha discutido que en la cámara anódica se presentan vías metabólicas que consumen electrones, siendo la metanogénesis una de las más importantes ya que más del 26% del total de electrones se pierden durante esta vía, sin embargo, aún se debe explorar cómo suprimir la producción de metano en una CCM (Tandukar et al., 2009).

Finalmente es importante resaltar que el ciclo más largo lo presentó la celda P3, experimentando igualmente el máximo %Cr(VI) (86.3%), máximo %MO (97.9%) y una EC relativamente alta (0.92%) (Tabla 1), que coincide con lo reportado por Cirik (2014). En el primer ciclo de la celda S3, utilizando glucosa en menor concentración, las bacterias generaron electricidad y hubo apreciable remoción de materia orgánica y Cr(VI), sin embargo, pese a la adición de sustrato fresco en los ciclos 2 y 3, en esta celda no se determinaron los valores de EC debido al bajo voltaje generado (datos no mostrados), aparentemente en estos ciclos las bacterias mantuvieron un metabolismo endógeno con baja generación de voltaje, sin aprovechar el sustrato para la generación de electricidad. Estos resultados particulares y los discutidos previamente demuestran la incidencia del inóculo sobre el desempeño de la CCM y revelan la importancia de llevar a cabo futuros estudios relacionados con la estructura y dinámica poblacional de las comunidades microbianas de las biopelículas establecidas en los electrodos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que utilizando CCMs de biocátodo reductoras de Cr(VI) construidas con materiales de bajo costo fue posible eliminar materia orgánica, reducir Cr(VI) y generar simultáneamente electricidad.

Los altos porcentajes de biorremediación microbiana de cromo hexavalente (86,3 %) y glucosa (97,9 %) logrados en este trabajo son un primer paso no solo hacia la formulación de estrategias para convertir la reducción de Cr(VI) a Cr(III), el cual es relativamente insoluble, ambientalmente amigable y considerablemente menos tóxico, sino también una forma de disminuir el impacto ambiental de los desechos orgánicos generados por la industria.

Se logró determinar que el %MO y la EC dependen de la concentración de la fuente de carbono. En este trabajo se estableció que la EC aumenta al disminuir la concentración de glucosa. Bajo las condiciones de la celda se determinó que a la menor concentración de sustrato utilizada (0.05 M de glucosa) se generó la máxima EC (1.0415%, celda S3).

El aprovechamiento de consorcios microbianos que se encuentran en la región es de gran relevancia para futuras investigaciones que involucren estudios genéticos de las bacterias y en su aplicación práctica en celdas reales que usen sustratos complejos (desechos líquidos de la industria) ya que en esta investigación se demuestra que el inóculo incide en el desempeño de la celda.

En el dispositivo ensamblado se logró reducir en corto periodo de tiempo materia orgánica (glucosa) y Cr(VI), sin embargo, la mayor EC (1,0415%) que se obtuvo en la celda S3 a una concentración de glucosa de 0.05M, no es suficientemente alta para postular la CCM como una alternativa energética, esto demuestra que de los electrones liberados en la cámara anódica muy pocos llegan al electrodo, por lo tanto se debe profundizar en el entendimiento de los mecanismos involucrados y en los factores que influyen en la resistencia al flujo de electrones de la celda, un aspecto importante en su comportamiento eléctrico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico brindado por la Vicerrectoría de Investigaciones Postgrados y Relaciones Internacionales– VIPRI – UDENAR y al Relleno Sanitario Antanas por su colaboración en el suministro de las muestras.

REFERENCIAS

- Barrera-Díaz, C., V. Lugo-Lugo y B. Bilyeu, *A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous*, Journal of Hazardous Materials: 223-224, 1-12 (2012)
- Cirik, K., *Optimization of Bioelectricity Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cell: Effect of Electrode Material, Initial Substrate Concentration, and Cycle Time*, Applied Biochemistry and Biotechnology: 173(2), 205-214 (2014)
- Cha, J., S. Choi, H. Yu, H. Kim y C. Kim, *Directly applicable microbial fuel cells in aeration tank for wastewater treatment*, Bioelectrochemistry: 78(1), 72-79 (2010)
- Chae, K.-J., M.-J. Choi, J.-W. Lee, K.-Y. Kim, y I. Kim, *Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells*, Bioresource Technol. 100(14), 3518-3525 (2009)
- Choi, Y., N. Kim, S. Kim y S. Jung, *Dynamic behaviors of redox mediators within the hydrophobic layers as an important factor for effective microbial fuel cell operation*, Bulletin Korean Chemical Society: 24(4), 437–440 (2003)
- Dhal, B., H.N. Thatoi, N.N. Das y B.D. Pandey, *Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical soil waste: A review*, Journal of Hazardous Materials: 250–251, 272–291 (2013)
- Du, Z., H. Li y T. Gu, *A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy*, Biotechnology Advances: 25(5), 464-482 (2007)
- Hou, B., Y. Hu y J. Sun, *Performance and microbial diversity of microbial fuel cells coupled with different cathode types during simultaneous azo dye decolorization and electricity generation*, Bioresource Technology: 111, 105–110 (2012)
- Huang, L., J.M. Regan y X. Quan, *Electron transfer mechanism, new applications, and performance of biocathode microbial fuel cells*, Bioresource Technology: 102(1), 316-323 (2011a)
- Huang, L., X. Chai, G. Chen y B.E. Logan, *Effect of set potential on hexavalent chromium reduction and electricity generation from biocathode microbial fuel cells*, Environmental Science & Technology: 45(11), 5025-5031 (2011b)
- Huang, L., J. Chen, X. Quany, y F. Yang, *Enhancement of hexavalent chromium reduction and electricity production from a biocathode microbial fuel cell*, Bioprocess and Biosystems Engineering: 33(8), 937–945 (2010)
- Kiely, P.D., J.M. Regan y B.E. Logan, *The electric picnic: Synergistic requirements for exoelectrogenic microbial communities*, Current Opinion in Biotechnology: 22(3), 378-385 (2011)
- Li, Z., X. Zhang y L. Lei, *Electricity production during the treatment of real electroplating wastewater containing Cr⁶⁺ using microbial fuel cell*, Process Biochemistry: 43(12), 1352–1358 (2008)
- Li, W.-W., G.P. Sheng, X.W. Liu y H.Q. Yu, *Recent advances in the separators for microbial fuel cells*, Bioresource Technology: 102 (1), 244-252 (2010)
- Luo, Y. y otros cinco autores, *Electricity generation from indole and microbial community analysis in the microbial fuel cell*, Journal of Hazardous Materials: 176(1-3), 759-764 (2010)
- Márquez-Reyes, J.M., U.J. López-Chuken, A. Valdez-González y H.A. Luna-Olvera. *Removal of chromium and lead by a sulfate-reducing consortium using peat moss as carbon source*, Bioresource Technology: 144, 128–134 (2013)

- Mathuriya, A. y J. Yakhmi, *Microbial fuel cell to recover heavy metals*, Environmental Chemistry Letters: 12(4), 483-494 (2014)
- Pagnanelli, F. y otros cinco autores, *Biotreatment of Cr(VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol*, Journal of Hazardous Materials: 199–200, 186–192 (2012)
- Perelomov, L.V. y A.N. Chulin, *Molecular Mechanisms of Interaction of Microelements with Microorganisms in the Environment. Direct Biological Transformation of Microelement Compounds*, Biology Bulletin Reviews: 4(4), 285–299 (2014)
- Picioeanu, C., K.P. Katuri, M.C.M. van Loosdrecht, I.M. Head y K. Scott, *Modeling microbial fuel cells with suspended cells and added electron transfer mediator*, Journal of Applied Electrochemistry: 40(1), 151–162 (2010)
- Rabaey, K., G. Lissens, S. Siciliano y W. Verstraete, *A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency*, Biotechnology Letters: 25(3), 1531–1535 (2003)
- Revelo, D., N. Hurtado y J. Ruiz, *Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un reto para la remoción de materia orgánica y generación de energía eléctrica*, Información Tecnológica: 24(6), 17-28 (2013)
- Ryu, E.Y., M. Kim y S-J. Lee, *Characterization of Microbial Fuel Cells Enriched Using Cr(VI)-Containing Sludge*, Journal of Microbiology and Biotechnology: 21(2), 187–191 (2011)
- Saha, R., R. Nandi y B. Saha, *Sources and toxicity of hexavalent chromium*, Journal of Coordination Chemistry: 64(10), 1782-1806 (2011)
- Sevda, S. y otros cinco autores, *Evaluation and enhanced operational performance of microbial fuel cells under alternating anodic open circuit and closed circuit modes with different substrates*, Biochemical Engineering Journal: 90,294–300 (2014)
- Sharma, V. y P.P. Kundu, *Biocatalysts in microbial fuel cells*, Enzyme and Microbial Technology: 47(5), 179-188 (2010)
- Sharma, Y. y B. Li, *The variation of power generation with organic substrates in single-chamber microbial fuel cells (SCMFCs)*, Bioresource Technology: 101 (6), 1844-1850 (2010)
- Singh, R. y otros seis autores, *Removal of sulphate, COD and Cr(VI) in simulated and real wastewater by sulphate reducing bacteria enrichment in small bioreactor and FTIR study*, BioresourceTechnology:102 (2), 677–682 (2011)
- Singhvi P. y M. Chhabra, *Simultaneous Chromium Removal and Power Generation Using Algal Biomass in a Dual Chambered Salt Bridge Microbial Fuel Cell*, Journal of Bioremediation & Biodegradation: 4(5), 1-4 (2013)
- Song T-s, X-y Wu y C.C. Zhou, *Effect of different acclimation methods on the performance of microbial fuel cells using phenol as substrate*, Bioprocess and Biosystems Engineering: 37(2), 133–138 (2014)
- Smith, W. y G. Gadd, *Reduction and precipitation of chromate by mixed culture sulphate-reducing bacterial biofilms*, Journal of Applied Microbiology: 88(6), 983-991 (2000)
- Tandukar, M., S. Huber, T. Onodera y S.G. Pavlostathis, *Biological chromium (VI) reduction in the cathode of a microbial fuel cell*, Environmental Science & Technology:43(21), 8159-8165 (2009)
- Vaiopoulou, E., y P. Gikas, *Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review*, Water Research: 46(3), 549-570 (2012)
- Velasquez-Orta, S.B. y otros cinco autores, *Evaluation of hydrolysis and fermentation rates in microbial fuel cells*, Applied Microbiology and Biotechnology: 90 (2), 789–798 (2011)
- Wang, G., L. Huang y Y. Zhang, *Cathodic reduction of hexavalent chromium [Cr(VI)] coupled with electricity generation in microbial fuel cells*, Biotechnology Letter: 30(11), 1959-1966 (2008)
- Wu, X. y otros cinco autores, *Effect of acclimatization on hexavalent chromium reduction in a biocathode microbial fuel cell*, Bioresource Technology: 180(1), 185–191 (2015)
- Xafenias, N., Y. Zhang y C. Banks, *Enhanced performance of hexavalent chromium reducing cathodes in the presence of Shewanella oneidensis MR-1 and lactate*, Environmental Science and Technology:47(9), 4512-4520 (2013)
- Xafenias, N., Y. Zhang y C. Banks, *Evaluating hexavalent chromium reduction and electricity production in microbial fuel cells with alkaline cathodes*, International Journal of Environmental Science and Technology: DOI 10.1007/s13762-014-0651-7. (2014)

