

Caracterización del rendimiento de sistemas bioelectroquímicos para el tratamiento de aguas de minería.

Marina Fajardo, Mira Sulonen, Albert Guisasola

Máster en ingeniería biológica y ambiental, EBA.

Grupo de investigación GENOCOV.

Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Ingeniería Biológica y Ambiental.

Correo: marina.fajardo@e-campus.uab.cat

Resumen: Hace tiempo que se está investigando sobre la utilización de celdas bioelectroquímicas (BES) para el tratamiento de las llamadas aguas de drenaje ácido (AMD), cuyas características (bajo pH, alta concentración de sulfatos, poca materia orgánica y presencia de metales) las hacen un reto por lo que respecta a la depuración. Las AMD representan un gran peligro medioambiental, pudiendo llegar a la destrucción del ecosistema en el que se encuentre. Actualmente, la actividad minera representa una de las actividades potencialmente más contaminantes de las aguas subterráneas, por lo que es necesario encontrar un tratamiento para estas. En el presente artículo, se propone una manera alternativa, a las ya existentes, del uso de las BES. Para analizar la viabilidad de la propuesta se estudiaron dos tipos de celdas BES: las celdas SRB y las celdas MES. Las celdas SRB son celdas ya estudiadas, donde trabajan bacterias sulfato-reductoras autótrofas, y las celdas MES son las celdas propuestas, donde se estudió la relación sintrófica de dos bacterias distintas: homoacetogénicas y sulfato-reductoras heterótrofas. Se observó la viabilidad del método, verificado por el incremento de la eficiencia catódica (r_{CAT}) y la existencia de una relación sintrófica entre ambas bacterias.

Palabras clave: aguas de drenaje ácido, bacterias sulfato-reductoras, bacterias homoacetogénicas, sistemas bioelectroquímicos, celdas de síntesis microbiana, eficiencia catódica.

1. Introducción

No es una novedad cuando se dice que las aguas de rechazo de minería son grandes focos contaminantes. Su bajo pH, la presencia de metales y su alta concentración de sulfato, hacen de estas un serio problema medioambiental y un reto para la depuración. Se sabe que la exposición a estas aguas, también llamadas drenajes ácidos de mina (Acid mine drainage, AMD), produce daños a la calidad del agua adyacente, llegando a afectar al ecosistema¹. Además, los suelos expuestos a

AMD se vuelven estructuralmente inestables y muy propensos a la erosión ². Se estima que la formación de AMD no cesará a corto plazo, por lo que es necesario la investigación de técnicas capaces de prevenir la formación de estas aguas y remediar las formadas. Actualmente, existen técnicas prometedoras en relación a la prevención ^{3,4}. Por lo que, la utilización de estos sistemas, junto con los sistemas de remediación, permiten la preservación del medioambiente.

Actualmente se están aplicando técnicas convencionales de remediación, como la neutralización, la adsorción, el intercambio iónico, las tecnologías de membrana y el enfoque electroquímico para reducir los impactos ambientales negativos de la AMD en los sistemas ecológicos y la salud humana⁵. Es cierto que, este tipo de técnicas requieren un tratamiento y suministro continuo de productos químicos y energía, y un monitoreo a largo plazo de los ecosistemas afectados³. Por ello, para tratar aguas con estas características, muchos autores^{2,6-11} han propuesto la utilización de sistemas bioelectroquímicos (Bioelectrochemical Systems, BES). Los BES son sistemas basados en celdas bioelectroquímicas que utilizan microorganismos como catalizadores en uno o ambos electrodos. Las reacciones que ocurren en los electrodos son catalizadas por microorganismos, mientras que al mismo tiempo los electrones se transfieren del sustrato oxidado al ánodo o los electrones son aceptados del cátodo para una reacción de reducción⁹.

Los BES más conocidos son las celdas de combustible microbianas (Microbial fuel cells, MFCs) y las celdas de síntesis microbianas (Microbial electrosynthesis, MESs). Las MFCs son capaces de usar el metabolismo bacteriano para producir una corriente eléctrica a partir de una amplia gama de sustratos orgánicos. En otras palabras, son capaces de producir energía sostenible a partir de residuos orgánicos¹². Es importante señalar que en las MFC las reacciones se dan espontáneamente y los microorganismos capaces de producir las reacciones de interés se localizan en el ánodo. En el cátodo se da la reducción del oxígeno. Por otro lado, las MESs utilizan la electricidad como fuente de energía para que las bacterias sean capaces de sintetizar materia orgánica¹², pues se trata de reacciones no espontaneas y donde los microorganismos capaces de producir las reacciones de interés se localizan en el cátodo. Existen diversos artículos que describen el uso de bacterias sulfato-reductoras (Sulphate reducing bacteria, SRB) en el diseño de celdas MFCs para la recolección de energía, pero las últimas investigaciones se han centrado en el diseño de MESs con diferentes finalidades, como por ejemplo: tratamiento de aguas residuales o tratamiento de aguas contaminadas con sulfato ^{6,8,13}.

En las MESs se ha visto que es posible la reducción del sulfato a sulfuro, catalizada a partir de las SRB en condiciones anaerobias, a la vez que se neutraliza el medio y se eliminan los metales. A pesar de que Blázquez et al.⁸, demostró que se puede tener un biocátodo con SRB autótrofas (SRB-aut) capaces de usar el hidrogeno como sustrato, muchos autores han expresado la necesidad de añadir materia orgánica como alimento. Por ello, el grupo de investigación GENOCOV del departamento de ingeniería biológica y ambiental de la Universidad Autónoma de Barcelona propone la utilización de celdas MESs con un cultivo mixto de bacterias homoacetogénicas y

bacterias sulfato-reductoras heterotróficas (SRB-het) para la remediación de las AMD. De esta manera, se podría combatir la falta de materia orgánica que suelen tener las aguas de minería, a la vez que se produce la reducción del sulfato gracias a las SRB-het y la precipitación de metales.

El nuevo modelo propuesto puede marcar un cambio por lo que respecta a la urgente necesidad de reducción del sulfato de las AMD. Es importante remarcar las diferencias que hacen de este nuevo método, un sistema con mayor oportunidad de mercado, respecto sus antecedentes, y con una mayor proyección de futuro. Pues, así como las celdas con SRB-aut son capaces de usar el hidrogeno como sustrato, las celdas con bacterias homoacetogénicas son capaces de transformar el hidrogeno, junto con CO₂, y formar acético¹⁴. Este es un punto esencial, ya que cuando haya un pico de intensidad y las bacterias no puedan asimilar todo el hidrogeno que se produce, en las celdas SRB el hidrogeno en exceso se perderá en forma de gas, mientras que en las celdas MES se solubilizará en forma de acético lo que permitirá tener energía almacenada.

Por otro lado, las SRB-Aut, como se ha dicho anteriormente, son microorganismos que usan el hidrogeno como sustrato. Esto, las hace más lentas que las SRB-het que usan el acético.

Las anteriores afirmaciones conducen a que, teóricamente, las celdas MES obtengan r_{CAT} más altas lo que lleva a un ahorro energético y como consecuencia un ahorro económico.

En la celda propuesta los microorganismos homoacetogénicos, presentes en el biocátodo, interactúan con la superficie del electrolito, permitiendo que estos, tomen los electrones y que utilicen el hidrogeno producido (en el mismo cátodo), y recuperar productos de valor agregado a expensas de la electricidad⁸. Gracias a la hidrólisis del agua producida en el ánodo (Eq. 1), los protones pasaran a través de la membrana catiónica (Cation exchange membranes, CEM) para dar lugar a la formación de hidrogeno (Eq. 2)¹⁵ que será usado por las bacterias homoacetogénicas (Eq. 3). Las bacterias homoacetogénicas serán capaces de sintetizar acetato a partir de CO₂¹² y el hidrogeno producido. Como las baterias homoacetogénicas son más rápidas que las bacterias SRB-het, se espera que el acetato se acumule en el cátodo dando lugar a una reserva energética. Posteriormente, el acetato producido, será consumido por las SRB-het dando lugar a la reducción del sulfato (Eq.4).

Semirreacción en el ánodo:



Semirreacciones en el cátodo:



Reacción global:



En este tipo de celdas ocurren varias reacciones simultáneas y dependientes las unas de las otras, por lo que es necesario definir un buen método de caracterización donde se puedan ver reflejadas todas las reacciones y los parámetros relevantes en el sistema.

Para ver la viabilidad de la propuesta y realizar la caracterización de los BES, se ha analizado el comportamiento de cuatro MESs: dos de ellas con bacterias SRB-Aut (SRB5 y SRB6) y las otras dos con bacterias homoacetogénicas y SRB-Het (MES 7 y MES 8). Se ha observado y comparado la velocidad de reducción del sulfato (SRR), la velocidad de producción del acetato, los balances de electrones y la r_{CAT} para cada ciclo de cada celda. Entendiendo como ciclo al periodo de tiempo en el que se inyecta una cantidad determinada de sulfato inicial a un pH de 7, hasta una cantidad determinada de sulfato final y un pH de 10. Además, se ha estudiado la evolución del sulfuro con el pH y las sustancias en las que se transforma del sulfato reducido.

2. Materiales y método.

2.1 Montaje experimental.

La configuración usada para la recuperación de sulfuro elemental fue la C-BES. Esta consiste en un sistema de dos cámaras, de 35ml cada una, con el ánodo y el cátodo separados por una membrana de intercambio catiónico (CEM) para hacer posible el tránsito de los protones hacia el cátodo. Las CEM pasaron por un preacondicionamiento indicado por el fabricante, donde se sumergieron en una solución de cloruro de sodio al 5% en peso a 37°C durante 12h para hacer posible la hidratación y la expansión de la CEM (Membranes internacional inc, CMI-7000). El material que constituye las celdas bioelectrolíticas es metacrilato. Las celdas tienen una apertura lateral, de 3.8cm de diámetro, donde va ubicada la CEM. En el compartimento del cátodo, en la parte superior, se encuentra un cilindro de vidrio sellado herméticamente con una tapa de goma de PTFE (Politetrafluoroetileno). Este tubo tiene como función la recolección de gases generados en el cátodo, utilizando una bolsa hermética (0.1 L, enlace Cali-5, Ritter) conectada a través de la tapa de goma al cilindro de vidrio. El cátodo es un alambre de titanio conectado a un cepillo de fibra de grafito ¹⁵ (20 mm de diámetro x 30 mm de longitud) hecho con fibras de 7,2 mm de diámetro (tipo PANEX33 160 K, ZOLTEK). Al cepillo de fibra de grafito se le aplicó un pretratamiento térmico a 450°C durante 30min para favorecer la adhesión de la biomasa. El ánodo es una malla de titanio (Ti más 50 g/m² de Pt, Magneto, Países Bajos). Ambos electrodos se conectaron a una fuente de energía (HQ Power, PS-23023), y, además, la celda cuenta con un electrodo estándar de hidrogeno

(SHE) de referencia, cuya función es medir el potencial aplicado en el cátodo. En este procedimiento el potencial aplicado fue de 3.0V⁸.

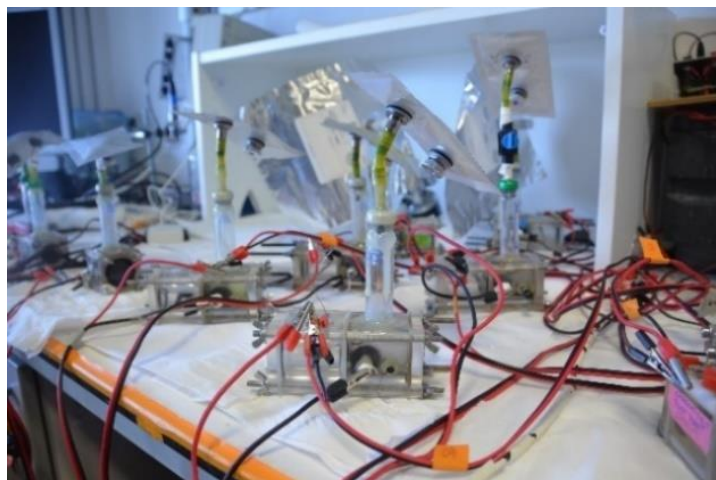


Fig. 1. Imagen de varias celdas en el laboratorio.

2.1.1 Celdas SRB

Las celdas SRB son aquellas en las que trabajaron las bacterias SRB-Aut. Para hacer la comparación con las celdas MESs, se estudiaron dos celdas SRB nombradas SRB5 y SRB6. A diferencia de las celdas MESs, en este tipo de celdas, se tuvieron las SRB-Aut desde la puesta en marcha de la celda. Y se trabajó durante 210 días en la celda SRB5, y durante 227 días en la celda SRB6.

Para ver la evolución de las celdas se operó en discontinuo y por ciclos. Entendiendo como ciclo, un periodo de tiempo en el que se inyecta una cantidad determinada de sulfato inicial a un pH de 7, hasta una cantidad determinada de sulfato final y un pH de 10. Es cierto que al tener un volumen de celda de 35ml, la toma de muestras hizo que la variación de volumen fuera significativa. Al final de cada ciclo, el volumen de la celda fue aproximadamente de 24ml. Esto se tuvo en cuenta en los cálculos. Una vez realizado el ciclo, se añadía más medio al cátodo y se reemplazaba la solución del ánodo. Este procedimiento se explicará más detenidamente en el siguiente apartado.

En las celdas SRB la reacción que se espera es la reducción del sulfato a sulfuro (Fig. 2a), pero al tratar-se de bacterias autótrofas, es posible que, simultáneamente, se sintetice acético si existe un exceso de hidrogeno, ya que hay CO_2 en el medio (Fig. 2b).

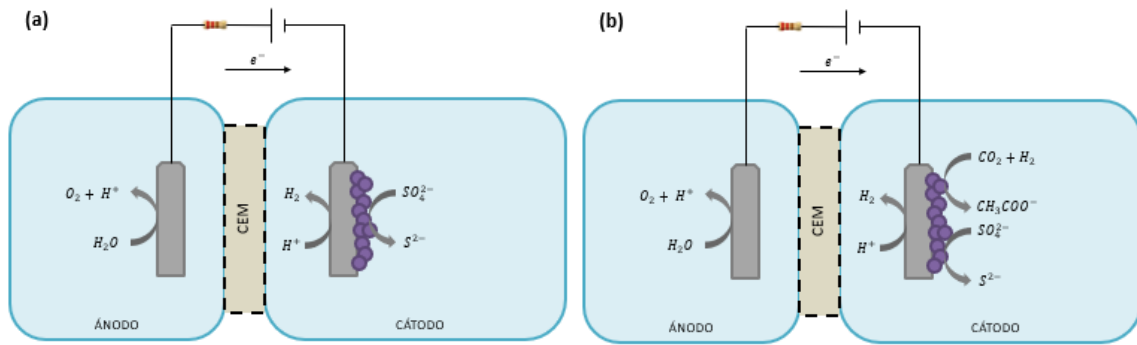


Fig. 2. a) Celda de electrólisis microbiana SRB con las semirreacciones deseadas. b) Celda de electrolisis microbiana SRB con todas las semireacciones.

2.1.2 Celdas MES

Las celdas MES son aquellas en las que trabajaron las bacterias homoacetogénicas junto con las bacterias sulfato-reductoras heterótrofas.

En la puesta en marcha, la celda contenía únicamente bacterias homoacetogénicas con la finalidad de asegurar la producción de acético, y así, garantizar la supervivencia de las SRB-het. Las celdas no empezaron a producir acético hasta haber transcurrido cierto tiempo: 46 días para la celda MES8 y 72 días para la celda MES7. La celda MES7 fue inoculada, con bacterias SRB-het. el día 100 desde su puesta en marcha, y la celda MES8, el día 88 desde su puesta en marcha. Se inoculó con tres cultivos de SRB-het diferentes para garantizar la supervivencia de alguna especie. El tiempo de operación total de las celdas MES7 y MES8, fue 147 y 130 días respectivamente.

De esta manera, en las celdas MES se vieron dos fases: la inicial (Fig 3a), donde se realizó la producción de acético y la final (Fig. 3b) donde se observó la reducción del sulfato. La evolución de las celdas se analizó de la misma manera que en las celdas SRB. Únicamente se diferenció en que en la fase de producción de acético no se añadió sulfato al medio catódico, pues no había bacterias sulfato-reductoras. Al final de los ciclos correspondientes a la fase inicial, únicamente se ajustaba el pH y se añadía medio.

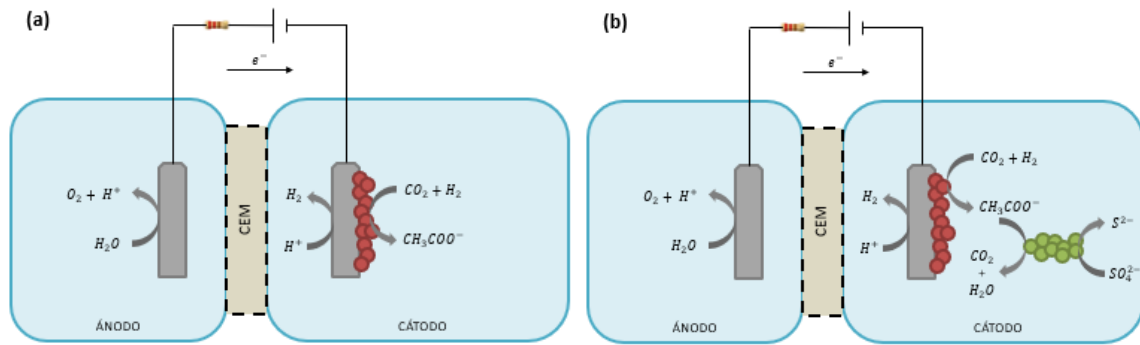


Fig. 3. a) Celda de electrólisis microbiana MES con las semirreacciones en la fase inicial. b) Celda de electrólisis microbiana MES con las semirreacciones en la fase final.

2.2. Medio

El medio del ánodo consistió en una solución acuosa 0.01M de H_2SO_4 (Ácido Sulfúrico 96%, Panreac).

El medio del cátodo consistió en una solución acuosa con 0.3g/L de NH_4Cl (Cloruro de amonio, Panreac), 2 g/L de $NaHCO_3$ (Bicarbonato de sodio, Scharlab), 2g/L de K_2HPO_4 (Potasio hidrogeno fosfato anhidro, Panreac), 0.2g/L de $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ (Manganeso (II) cloruro hexahidratado, Scharlau), 0.189 g/L de BESA (Sodio 2-bromoetanosulfonato 98%, Aldrich chemistry) y 1mL/L de TES (Solución de elementos traza) compuesta de: 0.078mg/ml de H_3BO_4 (Ácido bórico, Scharlab), 0.045mg/ml de $ZnCl_2$ (Cloruro de cinc, Scharlab), 0.009mg/ml de $CuCl_2$ (Cloruro de cobre (II), Scharlab), 0.039mg/ml de $MnCl_2$ (Cloruro de manganeso (II), Sigma), 0.008mg/ml de $CoCl_2$ (Cloruro de cobalto, Scharlab), 0.019mg/ml de $NiCl_2$ (Cloruro de níquel (II), Scharlab), 0.019mg/ml de Na_2SeO_4 (Selenato de sodio, Sigma-Aldrich), y 0.021mg/ml de Na_2MoO_4 (Molibdato de sodio, Sigma-Aldrich). Dicho medio se ajustó a pH 7 ya que es el pH ideal para las bacterias SRB⁸ ajuste se hace con una solución H_2SO_4 2M (Ácido Sulfúrico 96%, Panreac).

Durante el experimento se va rellenando el compartimento del cátodo, puesto que este se vacía a cada extracción de muestras realizadas durante los ciclos. El final de un ciclo viene marcado por el pH y la concentración de sulfuros. Cuando el pH esta alrededor de 10, la concentración de sulfuros es mayor que la concentración inicial, y es en ese momento, cuando se realiza el cambio de medio, añadiendo la solución descrita anteriormente para el cátodo, junto con sulfato preparado sintéticamente en forma de solución acuosa. El sulfato se encuentra en una concentración de 71 g/L de Na_2SO_4 (Sodio sulfato anhidro, Panreac). El siguiente paso es ajustar el pH a 7 y, mediante el borboteo de CO_2 durante 10 minutos, la desoxigenación de la celda. La solución acuosa del ánodo se debe cambiar una vez por semana.

2.3 Análisis de la comunidad microbiana

La comunidad microbiana de las celdas MES fue analizada al inicio i al final del experimento. Se cogió muestras en el momento de la inoculación con bacterias sulfato-reductoras heterótrofas y después de tres meses desde dicha inoculación. Aun no se tienen los resultados de las pruebas, pero en un futuro serán de gran utilidad para corroborar los resultados obtenidos.

2.4 Métodos analíticos

Se cogieron muestras 3 días a la semana para cada BES durante 5 meses por tal de ver la evolución de la actividad bacteriana en el tiempo.

Se vio la evolución del sulfuro disuelto a partir de las medidas de la conductividad realizadas con VWR International Eurolab S.L. (Symphony SB90M5), un electrodo selectivo de sulfuro. Para estas medidas fue necesario diluir previamente las muestras con SAOB, una solución tampón antioxidante sulfurante para evitar la oxidación del sulfuro^{8,16}. Cabe señalar, que la solución SAOB es capaz de evitar la oxidación del sulfuro porque las sustancias que conforman dicha solución son más susceptibles a ser oxidadas. Por lo que, con el paso del tiempo, dicha solución, deja de ser útil. Esto lleva a tener que realizar calibraciones diarias del conductímetro y, además, nos conduce a posibles errores de medida.

Para analizar las muestras en una columna cromatográfica, se filtraron previamente las muestras a 0.22 μ m (Milipore, Millex-GP). Para la columna iónica se prepararon viales con dilución 1:20 con agua ultra pura (Milli Q water) y para la cromatografía de gases se prepararon viales con una dilución 1:2 con agua ultra pura (Milli Q wáter) y se le añadió una solución conservadora AGV. Se usó una cromatografía iónica para analizar la concentración de sulfato y tiosulfato (Ultimate 3000 acoplado a una columna Dionex ICS-2000 RFIC). Y para analizar la concentración de acético se usó un equipo de cromatografía de gases (Agilent Technologies, 7820A).

2.5 Registro de intensidad

El registro de la intensidad se hizo a partir de dos pinzas conectadas una a cada lado de una resistencia de 10 Ω situada en el ánodo, y que a su vez estaban conectadas a un software (Addcontrol CVI) donde quedaron registrados los valores de la intensidad que pasaron por las celdas cada 10 minutos.

3. Cálculos

Para caracterizar las celdas se hicieron los balances de electrones y se calculó la r_{CAT} [Eq. 7]. La r_{CAT} se define como la relación entre los coulombios consumidos en la producción del producto de interés $((\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{experimental})$ y los coulombios que llegan al cátodo como intensidad de corriente $((\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{medida})$ ¹⁷. Los coulombios consumidos son los que se han usado por las bacterias para producir el producto de interés, suponiendo que el sustrato está en exceso. Y los coulombios que llegan al cátodo como intensidad de corriente son todos los coulombios que han circulado del ánodo al cátodo⁹. Se trata de un parámetro cuyos valores van del 0 al 1. Tener una r_{CAT} igual a 0, supondría que no se está aprovechando la energía aportada a la celda, y como consecuencia, que no se está produciendo el producto de interés, es decir, que todos los electrones aportados se están utilizando para producir hidrógeno. Por el contrario, una r_{CAT} igual a 1, supone que se está aprovechando el total de la energía aportada a la celda, y que, por tanto, la cantidad de producto producido es igual a la cantidad de producto teórico máximo. Por último, hay que añadir que se consideran r_{CAT} bajas aquellas que están entre un 20-50% y r_{CAT} altas aquellas que están entre un 50-80%. Este parámetro permite saber la eficiencia de la celda y es un indicador crucial para la optimización de los BES ya que un ahorro energético supondría un ahorro económico.

$$r_{CAT} = \frac{PM \int_0^{t_f} I dt}{F \cdot b \cdot v \cdot [P]} \quad (7)$$

Donde PM es el peso molecular de la sustancia de interés, I es la intensidad (C), F es la constante Faraday (96485 C/mol), b es el número de electores necesarios para la formación del producto de interés, v es el volumen de la celda (L) y [P] es la concentración del producto de interés (g/L).

Para obtener el valor de la r_{CAT} de la celda, se calculó la [Eq. 8], que relaciona la intensidad/volumen respecto el tiempo experimental con la intensidad/volumen respecto el tiempo teórico. Fue necesario incluir el volumen en la integral ya que, la variación de este parámetro (causado por la extracción de muestras) a lo largo de un ciclo, era significativa.

$$r_{CAT} = \frac{C_{exp}}{C_{teo}} = \frac{(\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{experimental}}{(\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{medida}} \quad (8)$$

Por lo que respecta al valor de $(\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{teórica}$, a partir de los datos de intensidad registrados cada 10 minutos, se pudo calcular la integral de la intensidad en el tiempo, utilizando el método de integración de trapecios [Eq. 10]. Como se ha dicho, el volumen del reactor no se consideró constante ya que la variación a lo largo de un ciclo era significativa. Por ello, se representaron el punto inicial de volumen y el punto final de volumen respecto el tiempo, y a partir del pendiente de la ecuación de la recta, se calculó dicha variación [Eq. 9] y se tuvo en cuenta en la integral de la intensidad.

$$V(t) = 0.035 - X \cdot t \quad (9)$$

Donde X es el pendiente de la recta para cada ciclo, t el tiempo (s) y V el volumen de la celda (ml).

$$\int_{t_i}^{t_f} I/V dt = \sum_{i=0}^n \frac{(\frac{I}{V_{n+1}} + \frac{I}{V_n})}{2} \cdot (t_{n+1} - t_n) \quad (10)$$

Y, por lo que respecta al valor de $(\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{experimental}$ para las celdas MES7 y MES8, se calculó a partir de la [Eq. 11], donde la concentración de acético producido se calculó con los datos medidos experimentalmente obtenidos a partir del análisis del acético y sulfuro [Eq. 12].

$$\int_{t_i}^{t_f} I/V dt = \frac{F \cdot b \cdot [Ac_{producido}]}{PM} \quad (11)$$

$$Ac_{producido} = \Delta Ac + Ac_{S^{2-}} + Ac_{muestras} \quad (12)$$

Donde $Ac_{producido}$ es el acético producido, ΔAc es el incremento de acético en la celda, es decir, la diferencia entre el acético final y el acético al inicio del ciclo. $Ac_{muestras}$ es el acético extraído con las muestras y $Ac_{S^{2-}}$ es el acético usado para reducir el sulfato en la celda. Se suma el incremento de sulfuro en la celda debido a que teóricamente, el sulfuro ha sido reducido por acción de la respiración celular de las SRB-het. Es decir, el acético es el donador de electrones y el sulfato el aceptor. Lo que indica que para que exista una producción de sulfuro tiene que existir un consumo de acético y la única manera de ver este consumo con los medios de los que se ha disfrutado, es ver el incremento de sulfuro y cuantificarlo en términos de acético.

Para las celdas SRB5 y SRB6, el valor de $(\int_{t_i}^{t_f} I/V dt)_{experimental}$ se calculó con los datos experimentales obtenidos a partir del análisis de sulfato [Eq. 13].

$$\int_{t_i}^{t_f} I/V dt = \frac{F \cdot b \cdot [(S - SO_4^{2-})_{reducido}]}{PM} \quad (13)$$

$$(S - SO_4^{2-})_{reducido} = \Delta(S - SO_4^{2-}) - (S - SO_4^{2-})_{muestras} \quad (14)$$

El sulfato reducido experimentalmente $(S - SO_4^{2-})_{reducido}$ se calculó [Eq. 14] a partir del muestreo de sulfato. Donde, $\Delta(S - SO_4^{2-})$ es la diferencia entre el sulfato inicial y el sulfato final, y $(S - SO_4^{2-})_{muestras}$ es el sulfato extraído con las muestras.

Cabe señalar, que es necesario suponer que los sustratos (CO_2 y/o H_2) están en exceso. Ya que, si no fuera así, el parámetro de r_{CAT} no estaría únicamente condicionado por la capacidad de aprovechamiento de electrones de los microorganismos, sino que también, dependería de la concentración de estos dos sustratos.

Por otro lado, además de examinar los valores de r_{CAT} , es recomendable calcular la concentración teórica máxima de producto de interés (acético para las celdas MES7 y MES8 o sulfato para las

celdas SRB5 y SRB6) a la que puede llegar la celda con la energía subministrada. Así se podrá cuantificar las diferencias entre el valor teórico máximo y los resultados experimentales en términos de cantidad de sulfato o cantidad de acético. Este cálculo [Eq. 15 o 16] se hace a partir de la suposición de una r_{CAT} del 100%, es decir, se supone que todos los coulombios consumidos se destinaron a la producción de acético / la reducción de sulfato.

$$[Acético] = \frac{PM \cdot \int_0^{t_f} I/v dt}{F \cdot b} \quad (15)$$

$$[Sulfuro] = \frac{PM \cdot \int_0^{t_f} I/v dt}{F \cdot b} \quad (16)$$

Donde PM es el peso molecular de la sustancia de interés, acético (60 g/mol) o sulfuro (32 g/mol), I es la intensidad en coulomb por segundo, F es la constante Faraday (96485 C/mol), b es el número de electores necesarios para la formación del acético (8 electrones) o, el número de electores necesarios para la formación del sulfuro (8 electrones) y v es el volumen de la celda.

Por otra parte, otro de los factores clave en la caracterización de los sistemas de síntesis microbiana es la velocidad de producción del producto de interés. Se conoce que las SRB-Aut tienen velocidades de reducción del sulfato menores que las SRB-Het. Por ello es interesante ver si existen diferencias en términos de velocidad entre las celdas SRB y las celdas MES.

La velocidad de reducción del sulfato se calculó para los 5 primeros días de cada ciclo a partir de la siguiente ecuación:

$$SRR = \frac{(S-SO_4^{2-})_{inicial} - (S-SO_4^{2-})_{día 5} - (S-SO_4^{2-})_{muestras}}{5} \quad (17)$$

Se calculó un valor de la velocidad de reducción de sulfato para los 5 primeros días de cada ciclo debido a que los ciclos podían tener duraciones distintas (entre 7 y 14 días). Los antecedentes a este trabajo confirmaron que las SRR más altas se producían los primeros días de un ciclo¹⁸, por lo que, si el ciclo fuera muy largo, podría ser que el 90% del sulfato reducido se hubiera obtenido durante los 5 primeros días y que por tanto la velocidad calculada fuera errónea.

La velocidad de producción del acético [Eq. 18] y la velocidad de consumo del acético [Eq. 19] se calcularon para cada ciclo a partir de las siguientes ecuaciones:

$$APR = \frac{Acético_{final} - Acético_{inicial}}{días ciclo} \quad (18)$$

$$ACR = \frac{(S-SO_4^{2-})_{inicial} - (S-SO_4^{2-})_{final} - (S-SO_4^{2-})_{muestras}}{días ciclo} \cdot \frac{1 mol S}{32 g} \cdot \frac{60 g}{1 mol Ac} \quad (19)$$

4.Resultados y discusión

4.1 Eficiencia catódica (r_{CAT})

En la figura 4, se puede observar la r_{CAT} para cada tipo de celda. En el caso de las celdas SRB (Fig. 4a), se observa una aparente regularidad de la r_{CAT} a lo largo del tiempo para ambas celdas. La r_{CAT} media para la celda SRB5 fue $57.4\% \pm 16.8$. La celda SRB6 obtuvo un valor inferior, con una r_{CAT} media de $31.3\% \pm 11.5$. Las diferencias entre ambas celdas se atribuyeron a la diferencia de intensidad entre estas, siendo $1.9\text{mA} \pm 0.5$ la intensidad media para la celda SRB5 y $3.3\text{mA} \pm 1.1$ para la celda SRB6.

En el caso de las celdas MES (Fig.4b), no se empezó a producir acético hasta haber transcurrido cierto tiempo; la celda MES7 empezó alrededor del día 72 y la celda MES8 alrededor del día 46. La tardanza en la producción de acético se pudo deber a la adaptación de las bacterias a la celda. El cultivo de bacterias homoacetogénicas provenía de otra celda electroquímica que mostró tener actividad, pero no se hizo un análisis microbiano previo por lo que se desconocen las condiciones reales en las que estuvo el cultivo. Por ello, las r_{CAT} al inicio del experimento fueron cercanas a 0%. Se tuvo que esperar hasta que las celdas empezaran a producir acético para poder introducir las bacterias SRB-het. Finalmente, la inoculación se produjo en el ciclo 7 para ambas celdas, que corresponden al día 100 para la celda MES7 y el día 88 para la celda MES8.

En adición, se puede observar la falta de los valores de r_{CAT} en los ciclos 4, 6 y 8 de la celda MES8. La ausencia del valor de r_{CAT} en el ciclo 4 se debe a un error experimental donde se añadió sulfato en el cambio de medio, por lo que no es comparable con los demás ciclos de la celda. El valor de r_{CAT} del ciclo 6 se excluyó debido a que se observó una reducción de sulfato que hizo que la r_{CAT} fuera 84%. Pero dicha reducción no tuvo lugar, ni por la presencia de SRB-het, puesto que aún no se había inoculado la celda, ni por una contaminación con SRB-Aut, debido a que la intensidad media en el ciclo fue 0.08mA y las bacterias SRB-Aut no hubieran podido actuar. La aparente reducción tuvo lugar debido al muestreo, por lo que el valor de r_{CAT} calculado fue erróneo. Y el ciclo 8 se eliminó debido a que se inició con una concentración de sulfato de 61.6mg/L , valor muy inferior al de los demás ciclos.

Dejando de lado los ciclos eliminados, se observaron diferencias entre la intensidad media de cada celda significativas a partir del momento de la inoculación, siendo $1.8\text{ mA} \pm 0.4$ la intensidad media para la celda MES7 y $2.8\text{ mA} \pm 0.6$ la intensidad media para la celda MES8. De nuevo, el valor de r_{CAT} medio más alto lo consiguió la celda con una intensidad más baja, siendo $64.8\% \pm 32.1$ la r_{CAT} para la celda MES7, después de la inoculación con SRB-het, frente a un $45.0\% \pm 19.9$ de la celda MES8. Cabe señalar que, en un primer lugar, a partir de la inoculación con SRB-het, las r_{CAT} de las celdas MES fueron altas, lo que indica un buen aprovechamiento de los electrones que circulan por la celda, pero posteriormente se observa una tendencia descendente. El posterior decrecimiento

de la r_{CAT} en las celdas MES, pudo tener diversos orígenes; el paso del tiempo pudo favorecer a la obturación de la membrana catiónica y, además, al trabajar en condiciones no estériles, puede ser que la celda se hubiera contaminado con bacterias SRB-Aut. Habría que ver la evolución de las celdas con el paso del tiempo ya que si se observa la figura 4a se puede ver que hasta el día 140 las celdas SRB también presentaban una tendencia descendente.

Aun así, los resultados son prometedores ya que demuestran conseguir unas r_{CAT} altas, es decir, un mejor aprovechamiento de la energía que circula a través de las celdas respecto las celdas SRB.

Analizando las dos figuras, se observó una clara relación entre la intensidad y la r_{CAT} . Ya que para intensidades menores a 1.9mA se obtuvieron r_{CAT} mayores respecto a intensidades superiores a 3.1mA. Una intensidad elevada en el cátodo produce un exceso de hidrogeno en fase gas lo que resulta en una perdida innecesaria de electrones¹⁸ y de ahí la menor r_{CAT} . Cabe señalar que con la r_{CAT} no se está cuantificando la eficiencia de la celda para la reducción del sulfato, sino la capacidad de aprovechamiento de los electrones que circulan a través de esta. Que en la celda MES 7, en el ciclo 11, haya una eficiencia de 17.9%, no significa que la reducción del sulfato haya disminuido. Esta afirmación se corrobora en el siguiente apartado.

4.1.1 $r_{\text{CAT}} > 100\%$

Es importante señalar que, en ocasiones, si las concentraciones iniciales de sulfato son superiores a 2000mg/L, se pueden obtener r_{CAT} superiores al 100%. Lo que significa que se está produciendo más acético del que se puede producir o reduciendo más sulfato del que se puede reducir, lo que es totalmente imposible.

Existen diferentes razones que pueden haber conducido a la obtención de valores de r_{CAT} superiores al 100% más allá del error humano. Por ejemplo, la acumulación de algunos compuestos orgánicos distintos al acético, que podrían haber servido como donantes de electrones en la reducción del sulfato o la posibilidad de que parte del sulfato haya pasado por la CEM hasta el ánodo, lo que podría conducir a una sobreestimación del sulfato reducido.

Otra posibilidad es que, a pH bajos y concentraciones altas de sulfato, este tiende a formar H_2S que se acumula en la bolsa de gas, pero a medida que el pH aumenta debido a la basificación del medio causada por la reducción del sulfato, el H_2S vuelve a convertirse en S^{2-} . Si la toma de muestras inicial no se realizó justo después de cambiar el medio, puede que el muestreo no reflejara la concentración real añadida de sulfato, sino una menor.

Por estas razones, los ciclos donde la concentración inicial fue superior a 2000 mg/L no se utilizaron para exponer los resultados.

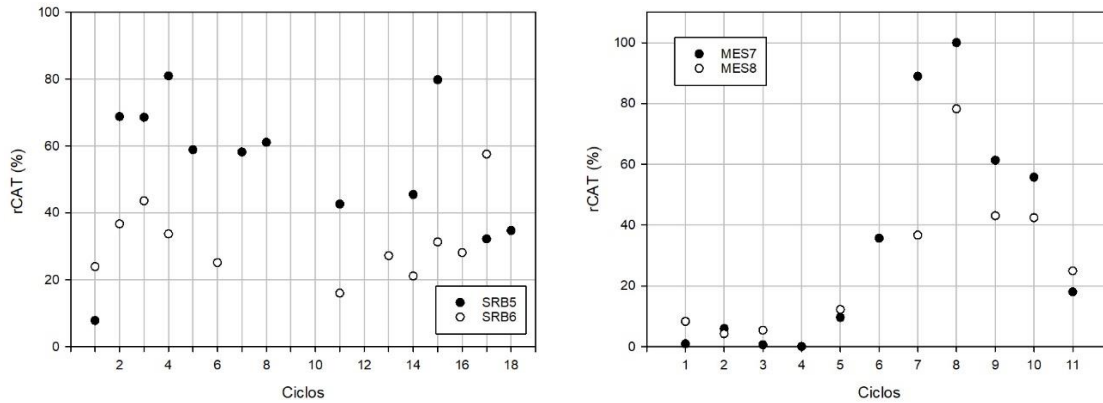


Fig. 4 a) Eficiencias catódicas para las celdas SRB. B) Eficiencias catódicas para las celdas MES.

4.2 Balances de materia.

Para caracterizar las celdas se realizó el balance de electrones, también conocido como balance redox. A partir de estos balances se pudieron calcular el valor teórico de acético máximo producido, para las celdas MES, y/o el valor teórico de sulfato máximo reducido para las celdas SRB. Es interesante ver, además del valor de la r_{CAT} , qué sustancias se han producido y en qué cantidad. Para ello se confeccionaron las figuras 5 y 6, donde se puede ver el porcentaje de producto obtenido a final de ciclo, respecto el producto máximo teórico que constituye el 100%.

Cabe señalar que, al igual que en el apartado anterior, se descartaron aquellos ciclos que empezaron con concentraciones de sulfato superiores a 2000 mg/L. El eje de ordenadas representa el porcentaje de acético producido (MES7 y MES8) o sulfato reducido (SRB5 y SRB7) conseguido en cada ciclo, siendo 100% la cantidad de acético teórico o la cantidad de sulfato reducido teórico.

Analizando la figura 5, correspondientes a las celdas SRB, se pudo ver que la celda SRB5 (Fig. 5a), como se anunció en el apartado anterior, consiguió un mayor aprovechamiento de los electrones que circulan a través de la celda (superior al 50% en la mayoría de los casos). Por otro lado, la celda SBR6 (Fig. 5b) estuvo por debajo del 50% y únicamente superó este valor en un ciclo. Pero, el móvil de estos gráficos fue poder apreciar (en algunos ciclos) la formación de acético debida al exceso de hidrogeno. Para poder observar la aparición del acético en los gráficos, se representó el porcentaje equivalente al sulfato que se podría haber reducido si los electrones consumidos para la formación del acético se hubieran usado para la reducción de sulfato. Es importante tener vigilada la formación de acético en las celdas SRB ya que la formación de esta sustancia conduce a una disminución de la r_{CAT} que, en términos económicos, se traduce en más costes.

Sin embargo, a pesar de que la celda SRB6 tubo r_{CAT} inferiores, cuando se observa la tabla 1 se puede ver que el porcentaje de reducción del sulfato, en términos generales, fue superior en la celda

SRB6. Esto se debió a que una mayor intensidad condujo a una mayor producción de sustrato, lo que hizo posible una mayor reducción de sulfato, pero al mismo tiempo provocó r_{CATs} bajas.

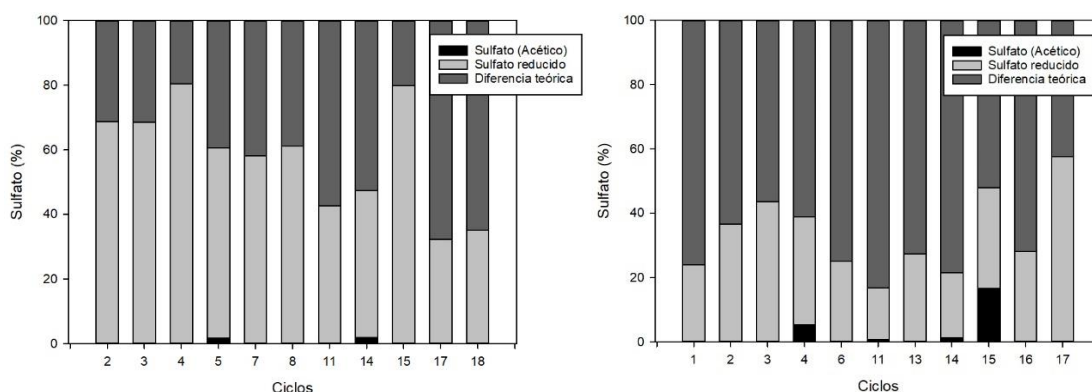


Fig. 5 a) Sulfuro obtenido respecto el sulfuro teórico para la celda SRB5. b) Sulfuro obtenido respecto el sulfuro teórico para la celda SRB6.

En las celdas MES7 y MES8 se diferenció, dentro del acético producido, el acético que aún no había sido usado por las SRB-het, el acético que había sido usado para la reducción del sulfato y el acético que había sido extraído con el muestreo. Como se había anunciado en el anterior apartado, el aprovechamiento de electrones fue mayor en la celda MES7 (Fig. 6a), que tuvo una intensidad media de $1.8 \text{ mA} \pm 0.4$ a partir de la inoculación con SRB-het. Sin embargo, sucedió lo mismo que en las celdas SRB, ya que la celda MES8 (Fig.6b), con una intensidad media de $3.1 \text{ mA} \pm 0.3$ después de la inoculación con SRB heterótrofas, consiguió porcentajes de reducción de sulfato ligeramente superiores a MES7 ($79.2\% \pm 34.1$ vs $74.3\% \pm 23.2$).

Los resultados obtenidos para las celdas MES durante los 2-3 primeros ciclos después de la inoculación con SRB-het., son muy prometedores ya que muestran la existencia de una relación sintrófica entre ambas bacterias que aumentan la r_{CAT} y mantienen la reducción de sulfato respecto las celdas SRB.

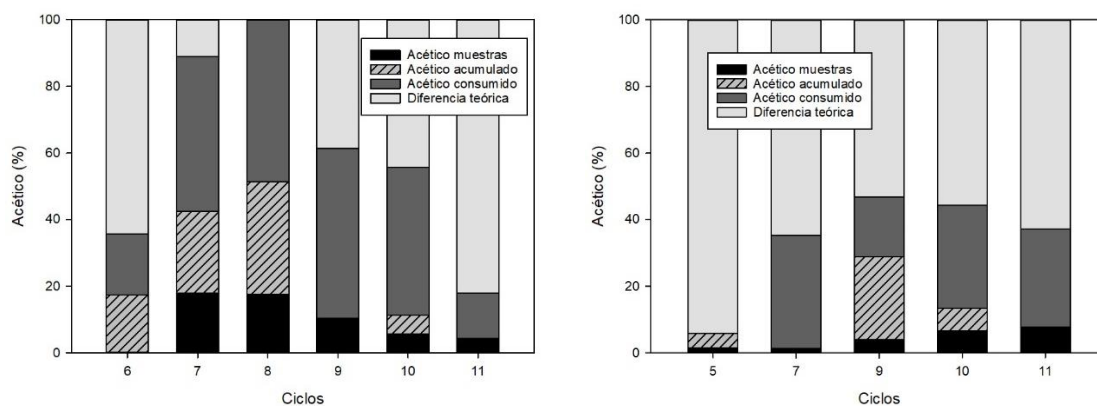


Fig. 6 a) Acético producido respecto el acético teórico MES7. b) Acético producido respecto el acético teórico MES8.

Taula 1. Reducción del sulfato en %

CICLOS	SRB5	SRB6	MES7	MES8
1	-	97.7	-	-
2	89.1	97.4	-	-
3	70.0	88.1	-	-
4	56.0	95.8	-	-
5	63.4	-	-	-
6	-	75.6	-	-
7	86.5	-	99.8	94.6
8	92.7	-	60.3	-
9	-	-	45.6	28.2
10	-	-	95.8	97.2
11	68.1	43.6	69.9	96.9
12	-	-	-	-
13	-	66.9	-	-
14	66.9	73.4	-	-
15	98.5	68.4	-	-
16	-	88.4	-	-
17	44.9	86.0	-	-
18	20.1	-	-	-
REDUCCIÓN MEDIA	68.8	80.1	74.3	79.2
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	23.1	16.5	23.2	34.1

4.3 Velocidades de reducción del sulfato, producción de acético y de consumo de acético.

Fue necesario evaluar la velocidad de reducción del sulfato para ambos tipos de celda, ya que, teóricamente las SRB-het son más rápidas que las SRB-Aut, por lo que a la reducción del sulfato se refieren. Por esta razón, se debería observar velocidades de reducción de sulfato (Sulphate reducing rate, SRR) más altas en las celdas MES.

Dados los resultados (Fig. 7), no se observaron diferencias significativas entre las celdas SRB y las celdas MES en términos de SRR. Las SRR más bajas se atribuyeron a las intensidades más bajas para cada celda, consiguiendo una SRR máxima de 5.9 mg/d en la celda SRB 5 y de 4.7 mg/d en la celda MES 7, así como unas SRR medianas prácticamente idénticas, siendo $3,5\text{mg/d} \pm 1.8$ la SRR para SRB5 y $3,5\text{mg/d} \pm 1$ la SRR para la celda MES7. Mientras que las SRR máximas en las celdas SRB6 y MES8 fueron 8.3 mg/d y 5.8 mg/d, respectivamente. Las SRR medianas fueron $4,6\text{mg/d} \pm 2.1$ para la celda SRB6 y $4,5\text{mg/d} \pm 1.3$ para la celda MES8.

No se trata de los resultados esperados, pues las velocidades en las celdas MES fueron prácticamente iguales que las de las celdas SRB. Aun así, las celdas MES eran mucho más jóvenes que las SRB lo que podría llevar a pensar que poseían una población microbiana de bacterias SRB más pobre en comparación con las últimas. En otras palabras, podrían haber estado en fase de latencia (adaptación)¹⁹. Para confirmar esta hipótesis se deberá observar la evolución de la celda.

Por otro lado, se sabe que una mayor intensidad debería conducir a una mayor generación de substrato y como consecuencia a una mayor SRR¹⁸. Esta afirmación sí que se vio reflejada en los

resultados, ya que se observaron SRR más altas para las celdas con intensidades medias más altas (SRB6 y MES8). Y observando la tabla 1 del apartado anterior, se pueden observar que los porcentajes de reducción del sulfato medio para las celdas SRB6 y MES8 fueron más altos que para las otras celdas. En resumen, intensidades más elevadas conducen a un aumento de la velocidad de formación de substrato lo que lleva a un aumento de la SRR y como consecuencia a un porcentaje de reducción de sulfato, para un tiempo determinado, más alto.

Cabe resaltar, que en un primer momento (Fig.7), hubo una disminución en la SRR de la celda SRB6 que se atribuyó a la aparición de acético en algunos ciclos. De todas formas, la SRR de las celdas SRB es muy sensible a la intensidad, pues, una intensidad elevada conduce, además de la producción de un exceso de hidrogeno, a la formación de acético. Es decir, conduce a un mal aprovechamiento de los electrones que circulan hacia el cátodo, ya que, en este tipo de celdas, el acético no es un producto de interés. Por tanto, una intensidad elevada, además de inducir a una disminución de la r_{CAT} , conduce a una disminución de la SRR.

Por lo que respecta a la velocidad de producción de acético (Acetate Production Rate, APR), la APR media más alta se atribuyó a la celda con intensidad media más alta, es decir, a la celda MES8, consiguiendo una APR media de $6.9 \text{ mg/d} \pm 1.3$. Mientras que la APR media para la celda MES7 fue $6.1 \text{ mg/d} \pm 2.5$. Por otro lado, las velocidades de consumo del acético (Acetate Consumed Rate, ACR) medias fueron $4.5 \text{ mg/d} \pm 1.4$ y $5.2 \text{ mg/d} \pm 2.0$ para las celdas MES7 y MES8, respectivamente. Observando la figura 8, se puede ver que en ocasiones la ACR fue superior a la APR. Lo que indicó que se estuvo consumiendo más acético del que se estuvo produciendo. No interesa que suceda esto, sino que la APR y la ACR sea exactamente igual. Lo que será una señal de que todo el acético que se esté produciendo se estará utilizando para reducir el sulfato. Para conseguir que esto suceda se debe llegar al punto óptimo de intensidad, tal que, además de conseguir una velocidad de producción de acético igual a la velocidad de consumo de acético, la r_{CAT} y la SRR sean lo más altas posible.

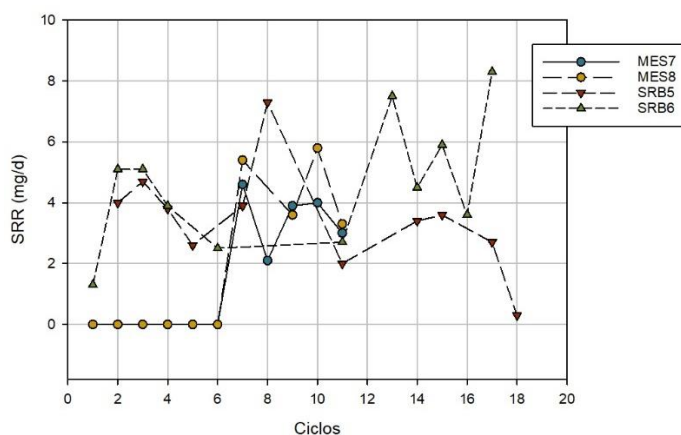


Fig. 7 SRR para cada una de las celdas.

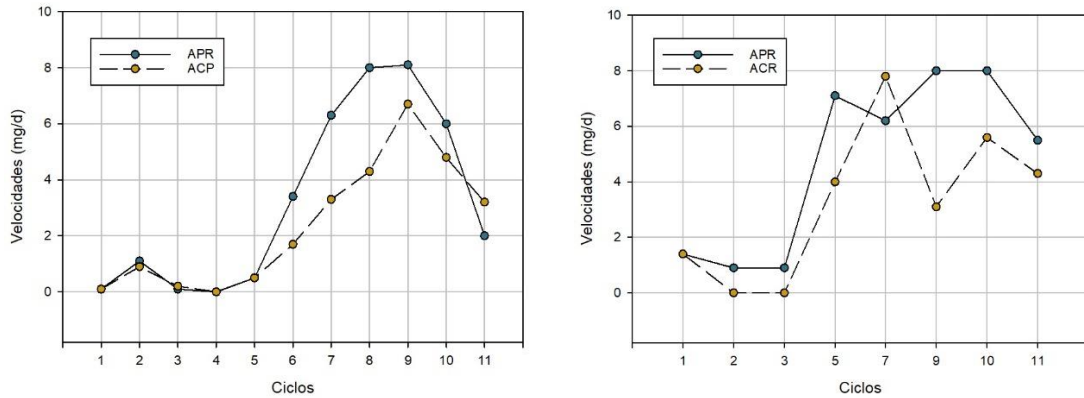


Fig. 8 a) Velocidades en la celda MES7. b) Velocidades en la celda MES8.

4.4. Composición del sulfato reducido.

Por último, se quiso comprobar en que sustancia final se transformó el sulfato reducido.

La reducción del sulfato pasa por cuatro estados de oxidación diferentes, por lo que, hay cuatro posibles productos de la reducción del sulfato:



Estado de oxidación: +4



Estado oxidación: +2



Estado oxidación: 0



Estado oxidación: -2

Las reacciones 20 y 21, únicamente pudieron tener lugar de forma química o a partir de la oxidación de sulfuro si no se consiguió un medio anaerobio. La reacción 23, fue la reacción esperada, pues la reacción 22 no se debería dar, ya que no se inoculó con bacterias oxidantes de sulfuro (SOB).

La figura 9 muestra las especies obtenidas a partir de la reducción del sulfato. Pudiendo cuantificar únicamente, los porcentajes de sulfuro y tiosulfato, debido a la falta de medición de las demás especies. Los resultados mostraron que el producto de la reducción del sulfato no fue únicamente sulfuro, sino que se pudo observar la aparición de tiosulfato y otras especies.

Como se explica en el apartado de materiales y métodos, la forma de conseguir un ambiente anaerobio fue inyectando gas CO_2 en el cátodo durante 10min. Una vez transcurridos los 10min se consideraba que se había conseguido un medio anaerobio, pero realmente era probable que en los pelos del electrolito quedarán pequeñas burbujas de oxígeno. Lo que explicaría la aparición de tiosulfato en todas las celdas. Y a pesar de que no se inoculó con bacterias SOB, la falta de condiciones estériles y la alta manipulación de las celdas debida al continuo cambio de ciclo, además de una posible presencia de oxígeno, pudo llevar a la aparición de este tipo de bacterias.

Por último, hay que señalar que, como se explica en el apartado de materiales y métodos, la utilización de la solución SAOB pudo conducir a errores de medida, por lo que la presencia de otras especies derivadas del azufre podría no ser tan abundante como se ve reflejado en la figura 9.

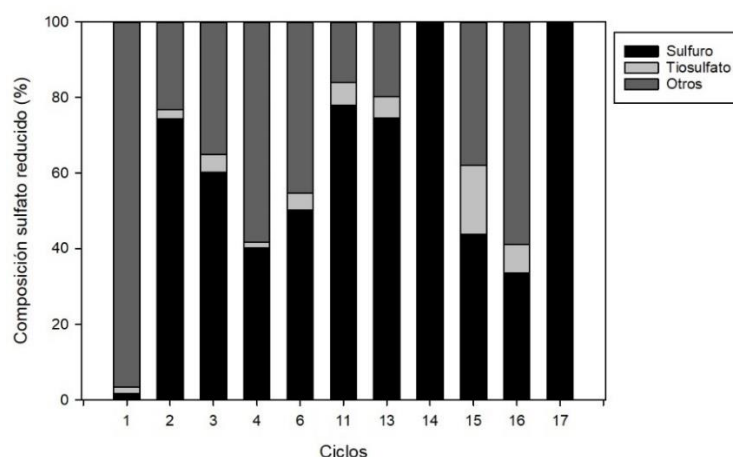


Fig. 9 Composición del sulfato reducido en la celda SRB6.

5. Conclusiones

Es necesario resaltar la diferencia de r_{CAT} proporcional a la diferencia de intensidad. Las intensidades más altas conducirán a r_{CAT} más bajas, pues un aumento en la intensidad conduce a un exceso de producción de hidrogeno que se pierde en forma de gas. Para obtener r_{CAT} s altas, es decir, superiores a 50%, la intensidad utilizada deberá ser inferior a 1.9mA.

Analizando los resultados de r_{CAT} , se confirman las predicciones respecto a una r_{CAT} superior por parte de las celdas MES. Siendo $65\% \pm 32$ la r_{CAT} media para la celda MES7 frente a $57\% \pm 17$ para la celda SRB5. Los resultados confirman la capacidad de las bacterias homoacetogénicas de solubilizar el hidrogeno en forma de acético y poder tener reservas energéticas, además de un mayor aprovechamiento de los electrones.

Los resultados de los balances de materia confirman la relación sintrófica entre las bacterias homoacetogénicas y las bacterias SRB-het, ya que se observa la producción de acético y el consumo de éste. A pesar de que debe haber un proceso de optimización, poder confirmar la posibilidad de coexistencia de ambas bacterias en las condiciones dadas, es un gran paso en el ámbito de la remediación de las AMD, por lo que a las MES representa.

En adición, los rendimientos de la reducción de sulfato son similares para ambos tipos de celdas. Siendo ligeramente mayores en aquellas celdas cuya intensidad media fue superior a 3.1mA, pues una mayor intensidad conduce a una mayor generación de sustrato y como consecuencia una mayor reducción de sulfato.

En relación con las velocidades de reducción de sulfato no se obtuvieron las esperadas. Pues las velocidades de reducción de las celdas SRB fueron prácticamente iguales a las de las celdas MES dependiendo de la intensidad empleada en cada celda. Las celdas cuya intensidad media fue superior a $3.1\text{mA} \pm 0.3$ obtuvieron SRR más elevadas, pues como se ha dicho anteriormente, una intensidad más alta conduce a una mayor generación de sustrato.

Por otro lado, los cultivos de las celdas MES son cultivos más jóvenes lo que podría traducirse en una población de microorganismos menos poblada en relación con las SRB. Lo que explicaría que se obtuvieran velocidades similares a las SRB. Para confirmar esta hipótesis, se deberá observar la evolución de la celda.

7. Pasos de futuro

A raíz de estos resultados, este trabajo ha abierto una ventana de investigación por lo que respecta a las celdas MES con cultivo mixto de bacterias homoacetogénicas y bacterias SRB-het.

Se deberá hacer un seguimiento a largo plazo para poder ver la evolución que toma el cultivo y como interactúan ambos tipos de bacterias.

Por otro lado, la optimización del método es un factor clave para la proyección de futuro de este sistema. Llegar a un equilibrio entre la producción de acético y el consumo de este, consiguiendo buenos rendimientos en la reducción de sulfato, será uno de los propósitos a conseguir en un futuro. La utilización de un paso de electrones intermitente (es decir, apagar y encender la fuente de alimentación) podría ser una de las propuestas para llegar a dicho equilibrio. De esta manera, no se permitiría la acumulación de acético en el medio (derivada de una mayor velocidad de la producción de acético que de la reducción de sulfato) a la vez que disminuiría el consumo eléctrico.

8. Referencias

1. Soucek, D. J. & Kennedy, A. J. Effects of hardness, chloride, and acclimation on the acute toxicity of sulfate to freshwater invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, 1204–1210 (2005).
2. RoyChowdhury, A., Sarkar, D. & Datta, R. Remediation of Acid Mine Drainage-Impacted Water. *Curr. Pollut. Reports* **1**, 131–141 (2015).
3. Park, I. *et al.* A review of recent strategies for acid mine drainage prevention and mine tailings recycling. *Chemosphere* **219**, 588–606 (2019).
4. Johnson, D. B. & Hallberg, K. B. Acid mine drainage remediation options: A review. *Sci. Total Environ.* **338**, 3–14 (2005).
5. Runtti, H., Tolonen, E. T., Tuomikoski, S., Luukkonen, T. & Lassi, U. How to tackle the stringent sulfate removal requirements in mine water treatment—A review of potential methods. *Environ. Res.* **167**, 207–222 (2018).
6. Coma, M., Puig, S., Pous, N., Balaguer, M. D. & Colprim, J. Biocatalysed sulphate removal in a BES cathode. *Bioresour. Technol.* **130**, 218–223 (2013).
7. Pozo, G., Pongy, S., Keller, J., Ledezma, P. & Freguia, S. A novel bioelectrochemical system for chemical-free permanent treatment of acid mine drainage. *Water Res.* **126**, 411–420 (2017).
8. Blázquez, E., Gabriel, D., Baeza, J. A. & Guisasola, A. Treatment of high-strength sulfate wastewater using an autotrophic biocathode in view of elemental sulfur recovery. *Water Res.* **105**, 395–405 (2016).
9. Sleutels, T. H. J. A., Darus, L., Hamelers, H. V. M. & Buisman, C. J. N. Effect of operational parameters on Coulombic efficiency in bioelectrochemical systems. *Bioresour. Technol.* **102**, 11172–11176 (2011).
10. Luo, H. *et al.* Autotrophic biocathode for high efficient sulfate reduction in microbial electrolysis cells. *Bioresour. Technol.* **167**, 462–468 (2014).
11. Su, W. *et al.* Sulfate reduction with electrons directly derived from electrodes in bioelectrochemical systems. *Electrochem. commun.* **22**, 37–40 (2012).
12. Franks, A. E. & Nevin, K. P. Microbial fuel cells, a current review. *Energies* **3**, 899–919 (2010).
13. Gacitúa, M. A., Muñoz, E. & González, B. Bioelectrochemical sulphate reduction on

- batch reactors: Effect of inoculum-type and applied potential on sulphate consumption and pH. *Bioelectrochemistry* **119**, 26–32 (2018).
14. Diekert, G. & Wohlfarth, G. Metabolism of homoacetogens. *Antonie Van Leeuwenhoek* **66**, 209–221 (1994).
 15. Logan, B., Cheng, S., Watson, V. & Estadt, G. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* **41**, 3341–3346 (2007).
 16. Dutta, P. K., Rabaey, K., Yuan, Z., Rozendal, R. A. & Keller, J. Electrochemical sulfide removal and recovery from paper mill anaerobic treatment effluent. *Water Res.* **44**, 2563–2571 (2010).
 17. Ruiz, Y., Baeza, J. A. & Guisasola, A. Revealing the proliferation of hydrogen scavengers in a single-chamber microbial electrolysis cell using electron balances. *Int. J. Hydrogen Energy* **38**, 15917–15927 (2013).
 18. Blázquez, E., Gabriel, D., Baeza, J. A. & Guisasola, A. Evaluation of key parameters on simultaneous sulfate reduction and sulfide oxidation in an autotrophic biocathode. *Water Res.* **123**, 301–310 (2017).
 19. Dev, S., Roy, S. & Bhattacharya, J. Understanding the performance of sulfate reducing bacteria based packed bed reactor by growth kinetics study and microbial profiling. *J. Environ. Manage.* **177**, 101–110 (2016).

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer al grupo GENOCOV, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación. Especialmente agradecer al Dr. Albert Guisasola por haber ejercido de tutor en este proyecto y por todo el apoyo y la orientación recibida. En segundo lugar, agradecer a la Dra. Mira Sulonen su paciencia y los conocimientos transmitidos. Agradecer también, a todas las personas del laboratorio de Bioelectroquímica del Departamento de ingeniería biológica y ambiental de la UAB, la ayuda con los equipos de medida, así como a mis compañeras de Astrea por sus consejos. Finalmente, agradecer a todos aquellos con los que he compartido este máster, especialmente a Eudald Alibés por la ayuda y el apoyo dedicado.