

**ESTUDIO, DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UNA CELDA DE
COMBUSTIBLE MICROBIANA DE UNA SOLA CÁMARA PARA
GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES**



OSCAR MANUEL TRIVIÑO CUELLAR

JAIME LOBOGUERRERO. Ph.D. Director

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE MECANICA
MAESTRIA EN INGENIERIA MECANICA
Bogotá, D.C. Enero de 2006**

**ESTUDIO, DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UNA CELDA DE
COMBUSTIBLE MICROBIANA DE UNA SOLA CÁMARA PARA
GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA Y TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES**



OSCAR MANUEL TRIVIÑO CUELLAR

TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar al
título de Magíster en Ingeniería Mecánica

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE MECANICA
MAESTRIA EN INGENIERIA MECANICA
Bogotá, D.C. Enero de 2006

MIM-2005-2-39

Bogotá, D.C., enero de 2006

Profesor:
Luis Mateus
Director Departamento Ingeniería Mecánica
Universidad de los Andes
Ciudad

Respetado Doctor:

Presento a usted mi tesis de grado “Estudio, diseño y construcción de una celda de combustible microbiana de una sola cámara para generación de energía eléctrica y tratamiento de aguas residuales” como requisito parcial para optar al título de Magíster en Ingeniería Mecánica.

Considero que cumple con los objetivos planteados y representa un aporte en el campo estudiado.

Atentamente

Oscar Manuel Triviño Cuellar

Bogotá, D.C., enero de 2006

Profesor:
Luis Mateus
Director Departamento Ingeniería Mecánica
Universidad de los Andes
Ciudad

Respetado Doctor:

Presento a usted la tesis de grado “Estudio, diseño y construcción de una celda de combustible microbiana de una sola cámara para generación de energía eléctrica y tratamiento de aguas residuales” elaborada por el estudiante Oscar Manuel Triviño Cuellar, como requisito parcial para optar al título de Magíster en Ingeniería Mecánica.

Certifico como director de esta tesis que cumplió con los objetivos propuestos y por lo tanto califica como requisito para optar al título de Magíster en Ingeniería Mecánica.

Atentamente,

Jaime Loboguerrero Uscategui
Profesor director

MIM-2005-2-39

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
JUSTIFICACION	2
1. OBJETIVOS	5
1.1. OBJETIVO GENERAL	5
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	5
2. MARCO TEORICO	6
2.1. Celdas de combustible	6
2.1.1. Celdas de combustible biológicas	7
2.1.1.1. Historia de las celdas de combustible biológicas	8
2.1.1.2. Tipos de celda de combustible biológicas	11
2.1.1.2.1. Celdas de combustible microbianas	11
2.1.1.2.2. Celdas de combustible enzimáticas	12
2.1.1.3. Aplicaciones de las celdas de combustible biológicas	12
2.1.2. Celda de combustible microbiana de una sola cámara	14
2.1.3. Consideraciones de Diseño	15
3. MATERIALES Y METODOLOGÍA	18
3.1. Cámara Principal	18
3.2. Cátodo y soporte	20
3.3. Anodos	24
3.4. Tapas	25
3.5. Elementos de fijación y sellado	26
3.6. Elementos de circuito	26
3.7. Experimentación	26
3.8. Parámetros de control	28
3.8.1. pH	28
3.8.2. Periodo de retención hidráulica	29
3.8.3. Temperatura	30
3.9. Toma de datos y parámetros de desempeño	31
3.9.1. Voltaje	31
3.9.2. Demanda biológica de oxígeno (DBO ₅)	32
3.10. Diseño Experimental	33
3.11. Análisis estadístico	34

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Cambios observados en los sustratos.	35
4.2. Análisis estadístico.	35
4.3. Evaluación de voltaje y DBO ₅ a través del tiempo	42

CONCLUSIONES	46
---------------------	----

RECOMENDACIONES	48
------------------------	----

BIBLIOGRAFIA	49
---------------------	----

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Ejemplos de celdas de combustible microbiana con mediadores	10
Tabla 2. Composición del sustrato No. 1	27
Tabla 3. Análisis de varianza para el voltaje obtenido	37
Tabla 4. Análisis de varianza para remoción de DBO_5	39

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de celda de combustible	7
Figura 2. Cámara principal	19
Figura 3. Soporte del cátodo	21
Figura 4. Activación y ensamble del Nafion® al cátodo	23
Figura 5. Anodos de grafito	24
Figura 6. Tapas de celda de combustible microbiana de una sola cámara	25
Figura 7. Celda de combustible microbiana de una sola cámara	27
Figura 8. Desarrollo del experimento	32
Figura 9. Cambios observados en los sustratos durante el experimento	36
Figura 10. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la generación de voltaje por cada sustrato	38
Figura 11. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la generación de voltaje a 25°C y a 35°C	38
Figura 12. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para las mejores horas de producción de voltaje	38
Figura 13. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO ₅ para cada sustrato	41
Figura 14. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO ₅ a 25°C y a 35°C	41
Figura 15. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO ₅ para cada uno de los sustratos a cada una de las temperaturas	42
Figura 16. Evolución del voltaje a través del tiempo	43

Figura 17. Curva típica de crecimiento microbiano	44
Figura 18. Remoción de la DBO_5 en las retenciones	45

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Cámara principal celda de combustible microbiana

ANEXO 2. Soporte cátodo celda de combustible microbiana

ANEXO 3. Tapas celda de combustible microbiana

INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación por los cambios climáticos, la contaminación, el aumento global de la demanda por recursos finitos como el petróleo y el gas natural, la sostenibilidad energética de los países y la inestabilidad política y económica de algunas naciones, son los principales impulsores en la búsqueda de alternativas para los combustibles fósiles¹.

Una de las opciones con mayor potencial como fuente limpia de energía, es el hidrógeno; sin embargo deberán existir materias primas renovables de las cuales se pueda extraer, para que sea verdaderamente considerado compatible con el ambiente. El hidrógeno puede ser producido biológicamente usando fuentes renovables como biomasa, sin embargo, sólo el 15% de la energía puede ser recuperada como hidrógeno gaseoso. Para que la recuperación biológica de hidrógeno sea factible, se deben encontrar métodos que permitan aprovechar el 85% de la energía restante.

Las principales limitaciones para la implantación sostenible de tecnologías basadas en el uso del hidrógeno, están relacionadas con la obtención, suministro y almacenamiento de éste. La obtención de hidrógeno se basa en la captura de energía desde otra fuente, es así, como más de la mitad de la producción involucra procesos de gasificación y termocatálisis que utilizan gas natural (52%) como materia prima. Otros métodos para conseguir hidrógeno recurren a aceites pesados y naftas (30%) y carbón (18%).

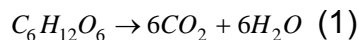
¹ "Veámoslo de forma sencilla. La diferencia más importante entre Corea del Norte e Irak es que, económicamente en Irak no teníamos alternativa. El país nada en un mar de petróleo". Secretario Adjunto de Defensa de Estados Unidos. Paul Wolfowitz en Singapur, 31 de Mayo de 2003.

JUSTIFICACION

Este estudio, pretende hacer evidente que no solamente el hidrogeno puede ser recolectado económicamente de sustratos como aguas residuales, sino principalmente que la tecnología de las celdas de combustible puede perfilarse como el mejor método para recuperar el 85% de la energía restante en éstas aguas² después de la recuperación del hidrógeno gaseoso.

En Estados Unidos, cerca de 126,000 millones de litros de aguas residuales domesticas son tratadas diariamente, a un costo anual de más de US\$ 25,000 millones³. La mayoría de estas aguas, es enviada a instalaciones que consumen gran cantidad de energía en su tratamiento debido a los procesos de aireación. Estos niveles de costos energéticos y económicos para saneamiento, requeridos por los países industrializados, no pueden ser alcanzados por países en desarrollo.

La cuantificación de la energía presente en las aguas residuales, permite realizar un análisis comparativo entre los requerimientos energéticos de aireación contra el potencial de generación del sustrato⁴. Para tal fin, se puede utilizar un modelo de oxidación completa de una molécula de glucosa (Ecuación 1), ya que las aguas residuales son ricas en este compuesto.

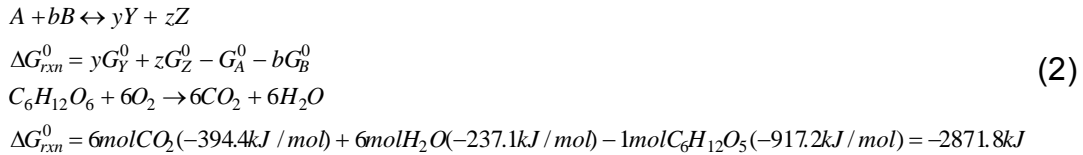


² Liu Hong / Ramnarayanan Ramathan / Logan Bruce. Department of Civil and Environmental Engineering, Department of Chemistry and The Penn State Hydrogen Energy (H₂E) Center. The Pennsylvania State University. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. Environmental Science & Technology. Vol. 38. No. 7. 2004. Pág. 2281 – 2285.

³ Water Infrastructure network. (WIN). Clean and safe water for the 21st century, 2001. <http://www.amsa-cleanwater.org/advocacy/winreport2000.pdf>.

⁴ Escalante M. Nicolás. Universidad de los Andes. Facultad de ingeniería. Departamento de Civil. Celda de combustible biológica aplicada al tratamiento de aguas.

El paso siguiente, es calcular la variación de energía libre estándar (ΔG_{rxn}^0), ésta, es igual a la diferencia de energía libre estándar de formación G^0 , entre productos y reactantes⁵ (Ecuación 2).



La energía total liberada será 2871.8 kJ por cada 6 moles de O_2 ⁶. La cantidad de materia orgánica presente en las aguas residuales, puede ser expresada como un equivalente de oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de ésta. (DBO₅ Demanda Bioquímica de Oxígeno). Ahora si se supone una población de 100.000 habitantes con una carga per cápita de materia orgánica de 50 g DBO₅ /habitantes.día y se tienen en cuenta los resultados anteriores se obtiene (Ecuación 3):

$$W = 50g \frac{DBO_5}{hab \cdot dia} \cdot \frac{DBO_u}{0.63DBO_5} \cdot \frac{1molO_2}{32g} \cdot \frac{2871.8kJ}{6molO_2} \cdot 100000hab \cdot \frac{1dia}{86400seg} = 1374kJ/seg = 1374kW \tag{3}$$

Ahora, se calcula la energía consumida por los sistemas mecánicos de aireación para lodos activados, en una planta de tratamiento. Estos ofrecen en promedio $1.8kgO_2 / kWhr$, entonces (Ecuación 4):

$$\begin{aligned}
 50 \frac{DBO_5}{hab \cdot dia} \cdot \frac{DBO_u}{0.63DBO_5} \cdot 100000hab \cdot \frac{1kg}{1000g} &= 7936.5 \frac{kgO_2}{dia} \\
 \Rightarrow 7936.5 \frac{kgO_2}{dia} \cdot \frac{kWhr}{1.8kgO_2} \cdot \frac{1dia}{24hr} &= 184kW
 \end{aligned} \tag{4}$$

⁵ Doran M. Pauline. Principios de ingeniería de los bioprocesos. Editorial Acribia. 1995. El superíndice ⁰ en ΔG_{rxn}^0 indica condiciones estándar.

⁶ Los valores para las energías estándar de formación son fuente del Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press. Boca Ratón.

Al relacionar los resultados anteriores, se observa que si existe un proceso de tratamiento de aguas que permita extraer 13,4% o más de la energía presente en éstas, dicho proceso puede ser autosostenible y rentable.

Adicionalmente, los procesos anaerobios, se constituyen en una de las alternativas efectivas para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, en condiciones carentes de oxígeno libre, altas concentraciones orgánicas y baja disponibilidad energética.

Teniendo en cuenta lo anterior, el estudio y diseño del prototipo propuesto se basa en estas condiciones de operación y en otros parámetros que permitan analizar el desempeño del mismo en cuanto a generación energética y tratamiento logrado

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar tecnologías que permitan el tratamiento de aguas residuales a bajo costo, mientras se genera energía eléctrica.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.2.1. Diseñar y construir un prototipo de celda de combustible microbiana de una sola cámara, económicamente viable, que se alimente de aguas residuales; dando tratamiento a estas y a su vez generar energía eléctrica a partir de este proceso.

1.2.2. Buscar alternativas de diseño, que faciliten la construcción del prototipo con materiales disponibles localmente, y adicionalmente incrementar la eficiencia en la producción de energía eléctrica teniendo en cuenta aproximaciones anteriores.

2. MARCO TEORICO

2.1. Celdas de combustible

Las celdas de combustible son dispositivos de conversión de energía de tipo electroquímico, que convierten hidrogeno y oxigeno en agua, generando electricidad en el proceso.

En una celda de combustible convencional, el gas de hidrogeno es inyectado al interior de la cámara del ánodo donde se separa en electrones (H^-) y protones (H^+) sobre un electrodo recubierto de platino. Los electrones pasan a través de un cable hacia el cátodo produciendo corriente, mientras tanto los protones son conducidos entre cámaras por medio de una membrana de intercambio protónico.

En el cátodo recubierto de platino, el oxigeno se combina con los electrones y protones para formar agua. A pesar de que se pueden usar diferentes combustibles como metanol o metano, estos han de ser reformados químicamente de manera previa para convertirlos en hidrogeno. (Figura 1).

A pesar de su buena eficiencia operacional y otras ventajas, éstas se ven opacadas por el uso de costosos catalizadores, las altas temperaturas de operación y los electrolitos corrosivos empleados.

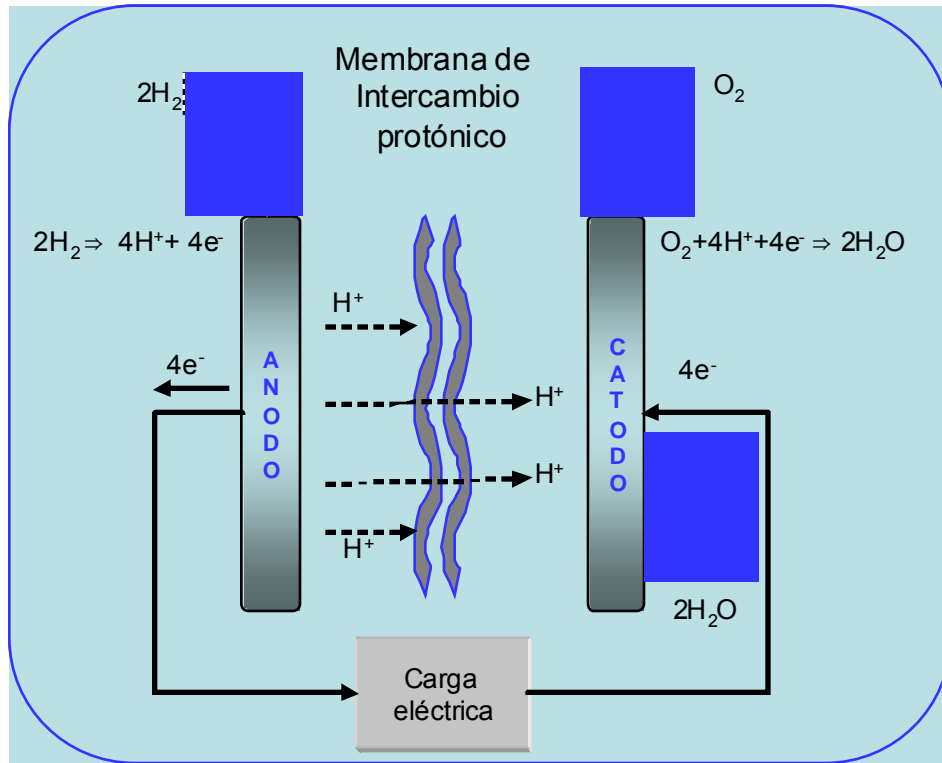


Figura 1. Esquema de celda de combustible.
 Modificado de Fuel Cell Handbook , 2002

2.1.1. Celdas de combustible biológicas.

A diferencia de las celdas de combustible tradicionales, las celdas de combustible microbianas operan en condiciones de reacción medias; como son temperaturas entre $25^\circ C$ y $50^\circ C$ y baja presión. También utilizan electrolitos neutros y catalizadores menos costosos ya que en estos casos se puede usar como catalizadores desde levaduras hasta enzimas.

2.1.1.1. Historia de las celdas de combustible biológicas.

En 1910 Michael Cresse Potter un profesor de botánica en la Universidad de Dirham (Reino Unido) demostró que los microorganismos pueden generar voltaje y entregar corriente. La idea de Potter fue revivida en Cambridge por Cohen en 1931 cuando con un conjunto de celdas de combustible biológicas produjo más de 35 V.

Pero no fue sino hasta 1960 cuando se profundizó en su estudio, gracias al interés de la agencia espacial estadounidense (NASA) de convertir desechos orgánicos en energía eléctrica durante sus vuelos de largo alcance. Algas y bacterias fueron los primeros microorganismos en ser utilizados en celdas de combustible biológicas.

Durante este mismo periodo Rohrback y sus colaboradores, diseñaron por primera vez una celda de combustible biológica en la que la bacteria *Clostridium butyricum* fue utilizada como material biológico para la producción de hidrogeno a través de fermentación de glucosa.

En 1963 las celdas de combustible biológicas ya estaban disponibles comercialmente para su uso en aplicaciones marinas como radios y señales luminosas. Sin embargo, con la aparición de tecnologías alternativas como las celdas solares este tipo de dispositivos no tuvo acogida y desapareció del mercado.

Posteriormente con la crisis del petróleo 1970 -1980 se revivió el interés acerca del desarrollo de celdas de combustible biológicas. Williams construyó una celda de combustible alimentada con cascarilla de arroz produciendo 40 mA a 6V. La cascarilla de arroz es una fuente potencial de lignocelulosa, la cual a través de fermentación produce muchas enzimas y biocombustibles

como el etanol que también puede ser usado en celdas de combustible biológicas.

En 1971 Yao y colaboradores mostraron que la glucosa puede ser utilizada como combustible en presencia de electrodos recubiertos de platino. Posteriormente, Karube y colaboradores reportaron la generación de 300 mA con una celda de combustible biológica utilizando microorganismos de la especie *Anabaena* y ácido fosfórico como sustrato.

Bennetto y colaboradores realizaron notables contribuciones a las celdas de combustible biológicas, ya que desarrollaron nuevos dispositivos utilizando combinaciones de mediadores y gran variedad de microorganismos (Tabla 1). Demostraron que el uso de mediadores puede incrementar tanto la eficiencia en la transferencia de electrones como el porcentaje de reacción del sustrato.

Recientemente, Chaudhury y Lovely, reportaron que el microorganismo *R. ferrireducens* puede recuperar hasta el 83% de electrones de la oxidación de la glucosa en presencia de Fe^{3+} sin la necesidad de mediadores.

Actualmente, los esfuerzos se dirigen hacia la mejora del desempeño de las celdas biológicas que no utilizan mediadores; basándose en estrategias como el uso de nuevos sustratos sin costo como subproductos o desechos y a encontrar una mejor manera para que las bacterias se adhieran a los electrodos mejorando de esta manera la transferencia de electrones. (18)

Tabla 1. Ejemplos de celdas de combustible microbiana con mediadores.

Microorganismo	Sustrato	Mediador	Voltaje celda	Anodo
<i>Pseudomonas methanica</i>	CH ₄	1-Naftol-2-sulfonato indo-2,6-diclorofenol	0.5-0.6 V	Pt negro 12.6 cm ²
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa	Azul de metileno	0.625 V	Pt 390 cm ²
<i>Proteus vulgaris</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>E. coli</i>	Glucosa	Tionina	0.64 V	C vítreo reticulado 800 cm ²
<i>Proteus vulgaris</i>	Glucosa	Tionina	350 mV (a 100 Ω)	C vítreo reticulado 800 cm ²
<i>E. coli</i>	Glucosa	Tionina	390 mV (a 560 Ω)	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptococcus lactis</i>	Glucosa	Fe (III) EDTA	0.2 V	-
<i>P. vulgaris</i>	Glucosa	2-Hidroxi-1,4- naftoquinona	0.75 mV	Filtro de grafito 1g
<i>E. coli</i>	Acetato	Rojo neutro	0.25 mV	Grafito 100 cm ²
<i>E. coli</i>	Glucosa	Rojo neutro	0.85 mV	Filtro de grafito 12 g

Es en este sentido que se desarrollan estudios en el Departamento de Ingeniería Civil de Pennsylvania State University utilizando como sustrato aguas residuales, nuevos catalizadores, geometrías y diseños para proveer un método mas directo para la recuperación de la energía presente en las aguas residuales, mientras que de manera simultánea se logra el tratamiento biológico de éstas aprovechando la tecnología y los conocimientos previos en celdas de combustible biológicas.

2.1.1.2. Tipos de celda de combustible biológicas.

Existen dos tipos de celdas de combustible biológicas a saber: celdas de combustible microbianas y celdas de combustible enzimáticas.

2.1.1.2.1. Celdas de combustible microbianas.

El uso de microorganismos en las celdas de combustible biológicas elimina el aislamiento de enzimas individuales, por lo tanto utilizan sustratos más baratos. Los microorganismos se pueden utilizar de cuatro formas diferentes para producir energía eléctrica:

- Los microorganismos producen de manera aislada sustancias activas electroquímicamente, a través de metabolismo o fermentación. Para producir energía los combustibles se originan en reactores separados y transportados a la cámara del ánodo de una celda de combustible convencional.
- En la segunda configuración el proceso mencionado anteriormente ocurre directamente en la cámara del ánodo.
- En el tercer caso, la transferencia de electrones se da gracias al transporte de éstos por mediadores entre el sistema biocatalítico microbiano y el electrodo, es decir, las moléculas de los mediadores aceptan electrones de la cadena biológica de transporte y los llevan al ánodo de la celda de combustible.

- Finalmente, se tienen bacterias reductoras de metal que poseen citocromos en su membrana exterior y pueden comunicarse eléctricamente con los electrodos de una celda de combustible sin la necesidad de mediadores.

2.1.1.2.2. Celdas de combustible enzimáticas.

Las enzimas son moléculas proteínicas de configuración compleja que pueden ser desestabilizadas por fuerzas relativamente débiles. Para el caso de su uso en las celdas de combustible, se aísla una enzima que actúa como biocatalizador de un sustrato liberando y transfiriendo electrones a un ánodo. La selección de la enzima depende de la cinética enzimática, en otras palabras, la velocidad de reacción de la enzima sobre el sustrato.

Presentan cierto grado de desventaja frente al uso de los microorganismos en las celdas de combustible biológicas, ya que estos compuestos han de ser aislados y/o previamente preparados para su utilización; lo que a su vez incrementa el costo de la operación. (18)

2.1.1.3. Aplicaciones de las celdas de combustible biológicas.

Al ritmo de consumo actual, las reservas de petróleo se habrán agotado aproximadamente en 200 años. Una alternativa limpia y más económica para los combustibles fósiles puede ser el uso de carbohidratos en celdas de combustibles biológicas.

La energía liberada durante la oxidación completa de un monosacárido como la glucosa es alrededor de 16×10^6 J/kg lo cual es cerca de los 5kWh de energía eléctrica y es tan solo poco menos de la mitad de la energía obtenida de cantidades similares de combustibles fósiles como el octano. Pero

adicionalmente la eficiencia de conversión de un carbohidrato en una celda de combustible es potencialmente más grande que la de la gasolina en un motor de combustión interna

Otro campo de aplicación de las celdas de combustible biológicas es la bioingeniería; en donde dispositivos de solo 0.07 cm^2 han generado $300 \mu\text{V}$ durante 2 horas. Esta cantidad de energía, es suficiente para operar pequeños sistemas tales como los de entrega microscópica de medicamentos. Con la llegada de la miniaturización, la micro y la nanotecnología y la necesidad de un suministro estable de energía; las celdas de combustible biológicas se convierten en una opción adecuada para proveer energía a BIOMEMS (sistemas bio - electromecánicos)

Investigaciones de la Universidad de California han demostrado que celdas de combustible miniaturizadas han podido ser integradas a BIOMEMS implantables en el cuerpo humano con ventajas sobre las baterías de litio, como tamaño mas pequeño, menor costo y una vida media mas larga.

Otra aplicación importante de las celdas de combustible biológicas ya la que hace referencia este trabajo es la ingeniería de aguas residuales. Los microorganismos cumplen la doble función de degradar la materia orgánica y generar energía eléctrica. Cuando los microorganismos oxidan los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales se liberan electrones obteniéndose una fuente estable de corriente.

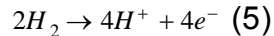
Si la generación de energía de estos sistemas puede ser incrementada, las celdas de combustibles microbianas pueden proveer un nuevo método para disminuir los costos operacionales de las plantas de tratamientos de aguas haciendo mas asequible ésta tecnología a los países en vías de desarrollo.

Se han probado diferentes diseños basados en los principios de la ingeniería química como reactores de lecho fluidizado, entre otros.

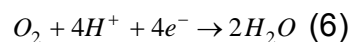
El diseño sobre el que hace referencia este trabajo está relacionado con las investigaciones de Bruce Logan del Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental de Pennsylvania State University, que utiliza una celda de combustible microbiana de una sola cámara.

2.1.2. Celda de combustible microbiana de una sola cámara.

En la celda de combustible microbiana de una sola cámara, bacterias que oxidan (pérdida de electrones) un sustrato son mantenidas separadas del aceptor de electrones (oxígeno) por una membrana de intercambio de protones (Ecuación 5).



Los electrones pasan de las bacterias a los electrodos (ánodos) en la misma cámara y luego vía circuito son llevados al cátodo donde se combinan con los protones y oxígeno para formar agua (Ecuación 6).



La diferencia en potencial generada por el flujo de electrones produce electricidad. Los electrones obtenidos a partir de la oxidación anaerobia de la materia orgánica (reacciones no fermentativas, acetogénesis) son transferidos a enzimas respiratorias que normalmente están ligadas a la membrana celular interna de las bacterias.

Portadores artificiales de electrones (mediadores), como rojo neutro y disulfonato de antraquinona, pueden ser utilizados para llevar los electrones desde el interior de la célula a un electrodo externo. Sin embargo, se necesitan concentraciones altas de estos mediadores, muchos de los cuales son tóxicos, por lo tanto, una celda de combustible con mediadores desvirtúa el objetivo de dar tratamiento a las aguas residuales.

2.1.3. Consideraciones de Diseño.

A diferencia de un proceso de tratamiento de aguas residuales de tipo anaerobio convencional, no se pretende la obtención de biogás compuesto por metano, dióxido de carbono y amoníaco al interior de la celda. Se busca la recuperación biológica del hidrógeno para ser aprovechado en la generación de electricidad, esto restringe el proceso a tres etapas como son:

- **Hidrólisis:** Es la primera etapa de la degradación anaerobia, la cual es efectuada sobre materia orgánica compleja como carbohidratos, proteínas y grasas. Se lleva a cabo, a partir de la acción de exoenzimas que producen moléculas más pequeñas o productos intermedios que si pueden ser degradados por las bacterias.
- **Acidogénesis:** En esta fase, los productos solubles de la hidrólisis son metabolizados de manera intracelular, generándose ácidos orgánicos débiles como: butirato, acetato y propionato; adicionalmente se da inicio a la generación de H_2 y CO_2 .
- **Acetogénesis:** A partir de la degradación de los ácidos orgánicos débiles, se genera el sustrato propicio para las bacterias metanogénicas. (H_2 , CO_2 y acetato). En las etapas de acidogénesis y acetogénesis, el crecimiento bacteriano es rápido ya que este tipo de reacciones brindan

un mayor rendimiento de energía que las reacciones destinadas a la producción de metano.

Una vez se ha alcanzado esta etapa, se debe inhibir la producción de metano a través del control de la cantidad de microorganismos metanogénicos, lo que a su vez se puede regular, mediante tiempos de retención hidráulica bajos, pH y/o condiciones hidrodinámicas de la celda tendientes a la restricción de la sedimentación y/o la eliminación de dispositivos de separación de fase. (12)

Adicionalmente, la teoría de diseño de reactores⁷ predice que si se favorece el desarrollo y permanencia de gran cantidad de microorganismos en la celda, se logran altas velocidades de tratamiento, lo que a su vez permite aplicar altas cargas orgánicas en tanques de volumen reducido.

La mayoría de los diseños de celdas de combustible microbianas están conformados por dos compartimentos separados para ánodo y cátodo; los que a su vez están interconectados por una de membrana de intercambio de protones. Este diseño de dos cámaras, puede resultar de difícil aplicación para escalas mayores y en sistemas de tratamiento continuo.

Con base en lo anteriormente enunciado, el prototipo observa tres características de ingeniería importantes:

- Permitir el crecimiento y desarrollo de bacterias, a través de la formación de biopelículas para aprovechar eficientemente la materia orgánica y ejercer control sobre los niveles de sedimentación.

⁷ Doran M. Pauline. Principios de ingeniería de los bioprocesos. Editorial Acribia. 1995.

- Facilitar un flujo continuo sin riesgo de obstrucción (alta porosidad) cuando no se opere en modo intermitente (batch).
- Mantener separada la biomasa de cualquier fuente de oxígeno disuelto.
- Adicionalmente, son objetivos su funcionalidad, bajo costo y facilitación del aprendizaje y observación durante su operación.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

A continuación se describen de manera detallada cada uno de los componentes de la celda de combustible, a partir de los materiales que la conforman y sus respectivos procesos de manufactura.

3.1. Cámara Principal.

La función esencial de la cámara principal es contener y separar las bacterias presentes en las aguas residuales del aceptor de electrones (O_2). La separación se logra en una cámara individual, a través de una operación de membrana, en este caso, una membrana de intercambio protónico Nafion® N-117.

Mediante un proceso de oxidación anaerobia, las bacterias capturan electrones de hidrógeno (H^-), que pueden ser transmitidos a la superficie de ánodos de grafito, gracias a la formación de películas de bacterias sobre estos.

Lo anterior, permite aprovechar un flujo de electrones (electricidad) a través de un circuito externo, que se cierra en el cátodo, después que los protones (H^+) atraviesen la membrana y se recombinan con los electrones (H^-) y el oxígeno del aire. Esto se logra, permitiendo una cavidad concéntrica y longitudinal en la cámara, que por una parte brinda soporte al cátodo y facilita la recombinación mencionada.

Cantidad: 1. Material. Acrílico. Cámara de forma cilíndrica con diámetro interior de 4" y longitud de 0.15 m; con conexiones tipo brida en los extremos de diámetro 6", espesor 15 mm y 6 agujeros de 3/8". Cuenta con dos

orificios, uno de alimentación y otro de descarga de 1." de diámetro y longitud de 100 mm. El espesor de las paredes de la cámara es de 5 mm. (Anexo 1)

La cámara se fabricó a partir de la conformación en caliente, perforado y aplicación de adhesivos de alta resistencia (Loctite 430), de laminas de acrílico de 5 mm de espesor. (Figura 2).



Figura 2. Cámara principal (Fuente: Oscar Triviño, 2005)

El diseño sólo está en capacidad de soportar una presión interna de 393.7 psi con un factor de seguridad de 2. Lo anterior surge, de las limitaciones para conformar un tanque a partir de laminas de acrílico y adicionalmente, el valor del tamaño de grieta de este material (8.16×10^{-2} mm) no permite el diseño del recipiente para falla por fuga.

El valor de presión estimado anteriormente, no se excede durante la operación intermitente, puesto que los aumentos de presión debidos a la generación de gases como H_2 y CO_2 se ven atenuados por factores como la captura y transferencia de H_2 por parte de las bacterias, así como la absorción de CO_2 correspondiente a los ánodos y al recubrimiento de carbón

activado del cátodo. Un hecho similar, ocurre cuando se opera la celda en flujo continuo, sin embargo al conectar el dispositivo a una línea de bombeo no se puede superar la presión calculada.

Como se ha mencionado, uno de los métodos para restringir la formación de metano es limitar el tiempo de retención hidráulica al interior de la celda. La oxidación bioquímica, es un proceso lento en teoría infinito, pero en 5 días se llega a consumir entre el 60 y 70% de la materia orgánica. En consecuencia la operación de la celda en modo batch o intermitente, se restringe a un máximo de 36 horas continuas.

Para la operación de la celda en condiciones de flujo continuo, se debe contar con un caudal que permita mantener el dispositivo libre de obstrucciones en su interior. Si se supone una velocidad de flujo de 2 m/seg y se cuenta con un diámetro efectivo de 1", el número de Reynolds (Re) es 4.9×10^4 aproximadamente, que indica un flujo turbulento correspondiente a un caudal $1.013 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{seg}$.

3.2. Cátodo y soporte.

El cátodo está conformado por un ensamble entre la membrana de intercambio protónico, una malla de carbón activado, cuya función es fijar el elemento catalizador y facilitar la conducción de energía eléctrica y una carga de Ni en polvo de $2.5 \text{ mg} / \text{cm}^2$ con tamaño de partícula entre 7 y 11 μm NOVAMET.

El soporte del cátodo, es un tubo de acrílico perforado con agujeros de 3 mm de diámetro, cada 3 mm, esto con el fin de permitir la recombinación de los protones y electrones del hidrógeno, con el oxígeno presente en el aire. Adicionalmente, cuenta con un surco helicoidal grabado en la superficie con

un paso de 6 mm que permite alojar el alambre de cobre que cierra el circuito eléctrico (Figura 3) (Anexo 2).



Figura 3. Soporte del cátodo. (Fuente Oscar Triviño 2005).

La membrana Nafion® N-117 pertenece a una familia de películas reforzadas a base de un copolímero de PTFE (Ácido perfluorosulfónico). Su estructura molecular posibilita que absorba agua y, una vez húmedo, conduzca selectivamente solamente iones de carga positiva bloqueando los iones de carga negativa.

Esta característica, asociada con la inercia química, resistencia mecánica y estabilidad de las resinas de teflón, torna la membrana útil como electrodo sólido separador para aplicaciones tales como celdas a combustible, en procesos de electrólisis de agua y producción de cloro-soda (2).

Adicionalmente, la membrana Nafion® N-117 permite su utilización en la operación de separación de las bacterias del oxígeno gracias a su baja tasa de transferencia de este elemento, la cual fue calculada teniendo en cuenta

la siguiente relación: la tasa de oxígeno transferido a través de la membrana (W) es producto del área transversal (A) y el flujo (J) (Ecuación 7):

$$W = JA = -DA \frac{dC}{dx} \cong -DA \frac{\Delta C}{\Delta x} \quad (7)$$

Para un área transversal efectiva de 121 cm^2 y asumiendo una saturación en la membrana de $3.7\text{-}6.2 \times 10^{-7} \text{ mol / cm}^3$, ausencia de oxígeno en los ánodos, un espesor de membrana de $190 \mu\text{m}$ y constantes de difusión de oxígeno en la membrana que varían entre $1\text{-}6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 / \text{s}$, el transporte de oxígeno al interior de la cámara será del orden de $1.36 \text{ mg O}_2 / \text{hr}$

Cantidad: 1. Materiales: Acrílico, Membrana de intercambio protónico Nafion® N-117, Malla en tela (muselina cuadrícula de $12 \mu\text{m}$), carbón activado en polvo (Malla 200), Ni en polvo (tamaño promedio $11.9 \mu\text{m}$, cable eléctrico flexible calibre 24 y adhesivos sellantes resistentes al agua (Loctite 410)

La fabricación del cátodo, comenzó con la activación de la membrana de Nafion® N-117 de la siguiente manera: se calentó secuencialmente a 80°C en peróxido de hidrógeno (H_2O_2 30%), agua deionizada, ácido sulfúrico (H_2SO_4 0.5 M) y agua deionizada cada vez durante una hora.

Posteriormente, la membrana se presionó por ambas caras en caliente contra la tela impregnada en carbón activado, la que a su vez contenía una carga de 2.5 mg / cm^2 de Ni en polvo con tamaño de partícula entre 7 y $11 \mu\text{m}$ NOVAMET. El proceso se llevó a cabo a una temperatura de 140°C y una presión de 1780 kPa durante tres minutos, después de los cuales se permitió el enfriamiento del ensamble sin liberar la presión.

De manera previa a la fijación del cátodo sobre el soporte, se embobinó el cable de cobre calibre 24 sobre la superficie de éste; siguiendo el camino helicoidal previamente trazado sobre la superficie. Una vez realizado el anterior proceso, el ensamble se posicionó sobre el soporte de acrílico vía adhesivo sellante, verificando de manera repetitiva el sellado efectivo de la superficie (Figura 4).

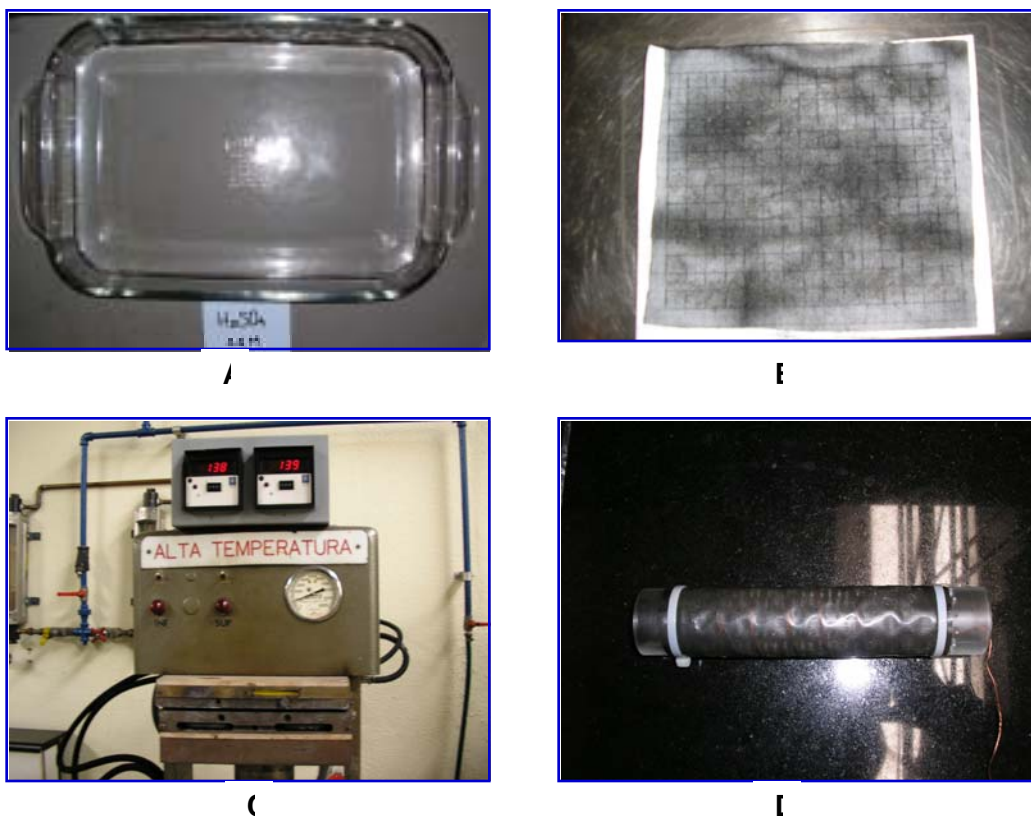


Figura 4. Activación y ensamble del Nafion® al cátodo. A) Activación de la membrana con H_2O_2 y H_2SO_4 . B) Recubrimiento con Ni C) Ensamble de la membrana con el Ni a $140\text{ }^\circ\text{C}$ y 1780 KPa . D) Cátodo recubierto. (Fuente: Oscar Triviño, 2005).

3.3. Anodos.

Los ánodos, son barras de grafito de 6 mm de diámetro y 150 mm de longitud colocadas de manera concéntrica alrededor del cátodo e interconectadas en sus extremos por cable flexible de cobre calibre 24 (Figura 5).

Los poros de las barras de grafito, permiten la migración de las bacterias a su interior, las que a su vez se adhieren a las superficies internas facilitando el crecimiento de biopelículas de gran concentración bacteriana (3). Adicionalmente, el grafito es un material resistente a la corrosión, al ataque químico, de baja toxicidad, buena conductividad eléctrica y bajo costo.

Cantidad: 6. Material: Grafito. Los ánodos, se fabricaron a partir del mecanizado en torno de barras cuadradas, el proceso debió realizarse a velocidades de avance y ataque mínimas, dada la fragilidad del material.



Figura 5. Anodos de grafito. (Fuente: Oscar Triviño).

3.4. Tapas.

Las tapas cumplen la función de sellar los extremos de la cámara, alojar los ánodos y el cátodo y permitir el flujo de aire del ambiente a través del centro del recipiente. Todo lo anterior se realiza, sin permitir ninguna clase de fuga.

Cantidad 2. Material: Superpol MX. Copolímero de estireno – acrílico nitrilo de alta resistencia al desgaste y abrasión, alta absorción de impacto, superficie autolubrificante, resistencia a la flexión y la fatiga, resistencia al ataque químico, dieléctrico, baja absorción de humedad y atóxico.

El método de fabricación de las tapas fue mecanizado en torno y fresa de discos de 6" de diámetro y 35 mm de espesor, se perforaron seis agujeros pasantes para asegurar las conexiones bridadas de la cámara en cada una de las tapas. Adicionalmente, se perforaron 6 agujeros pasantes en una y a la mitad del espesor en la otra para permitir la conexión y alojamiento de los ánodos. Por último, se perforó un agujero tipo reducción de 40 x 30 mm que permite el flujo del aire a través del centro de la cámara, posiciona el cátodo y facilita el sellado (Figura 6) (Anexo 3).



Figura 6. Tapas de celda de combustible microbiana de una sola cámara.
(Fuente: Oscar Triviño, 2005)

3.5. Elementos de fijación y sellado.

Los principales elementos para asegurar el ensamble y sellado de la celda de combustible microbiana son: tornillería de acero inoxidable de 3/8" x 2.5" cantidad: 8, varilla roscada de acero inoxidable de 3/8" x 300 mm de longitud cantidad: 2 tuercas y arandelas de presión de 3/8" cantidad: 16, o-rings de caucho de tipo nitrilo ideales para aplicaciones de baja presión y dureza, cantidad: 2.

Adicionalmente, se usaron adhesivos para dos tipos de aplicaciones: fijación y sellado. En el primer caso se manipularon los siguientes: súper adhesivo acrílico Loctite® 319 (cámara principal), adhesivo insensible a superficies reforzado Loctite® 406 (membrana Nafion® N-117 – soporte cátodo, circuito). Por último, para el sellado y formación de empaques se utilizó silicona RTV Loctite®.

3.6. Elementos de circuito.

El circuito que permite aprovechar la electricidad generada a partir de la acción bacteriana dentro de la celda de combustible, está constituido por: cable de cobre flexible calibre 24 (6 m), una resistencia de 508 Ω , y cubierta plástica tubular termoencogible (6 m).

3.7. Experimentación.

Con el propósito de evaluar el desempeño de la celda de combustible bacteriana (Figura 7); se realizaron pruebas para medir aspectos relacionados con parámetros de control, y prácticos como la producción de energía y remoción de la demanda biológica de oxígeno (DBO₅). Esto a

través de la alimentación intermitente (batch) del dispositivo con dos sustratos definidos.



Figura 7. Celda de combustible microbiana de una sola cámara
(Fuente Oscar Triviño, 2005).

En primer lugar, se alimentó la celda con un sustrato modificado (Sustrato No. 1) de la siguiente composición en mg / l (Tabla 2):

Tabla 2. Composición del sustrato No. 1 (mg/ml)

Componentes	Concentración en mg / l
Glucosa	1400
Peptona	400
Extracto de Levadura	250
NH ₄ Cl	200
KH ₂ PO ₄	45
Na ₂ S.9H ₂ O	35
CaCl ₂ .2H ₂ O	30
MgSO ₄ .7H ₂ O	25
FeSO ₄ .7H ₂ O	20
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,5
H ₃ BO ₃	0,05
ZnCl ₂	0,05
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,05
NiCl ₂	0,05
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,03

El inóculo correspondiente, fue una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922⁸.

En segunda instancia, la celda se cargó con un sustrato de aguas residuales filtradas provenientes de procesamiento de alimentos (Sustrato No.2) con un inóculo de 10 ml de lodos anaerobios.

3.8. Parámetros de control.

Durante el desarrollo del proyecto, se realizaron mediciones de variables consideradas parámetros de control para la operación de la celda de combustible microbiana. A continuación se explica la relevancia de mantener supervisión sobre las variables seleccionadas.

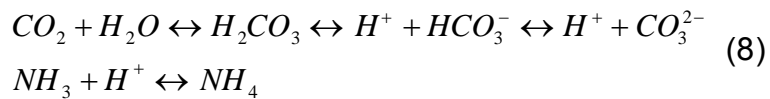
3.8.1. pH.

La actividad enzimática y el desempeño de la celda de combustible bacteriana están influenciados por el pH. La mayoría de las bacterias anaerobias tienen un crecimiento óptimo en un rango de 6.8 – 7.2. El pH inicialmente decrece con la producción de ácidos volátiles, sin embargo cuando las bacterias consumen los ácidos se genera la alcalinidad suficiente para incrementar y estabilizar el pH.

Cuando se opera la celda en el rango mencionado de pH, los ácidos volátiles se convierten en dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄; tiempos de retención hidráulica mayores a cinco días), mientras tanto la degradación de proteínas y aminoácidos libera grupos amino (-NH₂).

⁸ American Type Culture Collection. Es una organización privada, sin ánimo de lucro dedicada a la recolección, preservación y distribución de cultivos auténticos de microorganismos vivos, virus, muestras de ADN y células humanas, animales y vegetales

La liberación de CO_2 , resulta en la producción de ácido carbónico, bicarbonato y carbonato. La liberación de los grupos amino produce amoníaco y amonio. Algunos de estos productos, no alcanzan a transformarse completamente ya que los iones de hidrogeno se utilizan en la producción de electricidad, sin embargo se mantiene la alcalinidad (Ecuación 8).



Se trata de mantener un equilibrio entre los productos de la degradación de compuestos orgánicos y los de la de proteínas y aminoácidos, lo cual se consigue manteniendo niveles elevados de alcalinidad en la celda, hecho que a su vez resulta de la alimentación de ésta con sustratos ricos en proteínas.

Durante la operación de la celda de combustible microbiana, se tomaron 3 mediciones de pH (carga, intermedia y descarga) con el fin de verificar las condiciones adecuadas para la generación de energía.

3.8.2. Periodo de retención hidráulica.

Existen dos tiempos de retención significativos, el tiempo de retención de sólidos (SRT) y el tiempo de retención hidráulica (HRT). El tiempo de retención de sólidos es el tiempo promedio que las bacterias permanecen en el interior de la celda de combustible. El tiempo de retención hidráulica es el tiempo que las aguas residuales permanecen en la celda de combustible.

Ambos tiempos se asumen iguales en este caso, ya que se trata de un diseño de película fija o de crecimiento suspendido que favorece el desarrollo

de concentraciones de masa bacteriana, que previenen la remoción de gran cantidad de bacterias cada vez que se cambia el sustrato.

Debido a que la metanogénesis se da entre los 3 y 12 primeros días de retención, se decidió controlar el fenómeno de generación de biogás mediante la detención de sustratos durante periodos de 36 horas.

3.8.3. Temperatura.

Se hizo necesario mantener una temperatura uniforme y adecuada a través de la celda de combustible con el ánimo de prevenir actividad bacteriana no deseada. Variaciones mínimas en la temperatura afectan casi toda actividad biológica, incluyendo la inhibición de algunas bacterias anaerobias. La mayoría de estas bacterias, son activas en rangos de entre 25°C - 40°C.

A pesar de que la digestión anaerobia puede ocurrir en un rango amplio de temperaturas, las experiencias en tratamiento de aguas indican que ésta es óptima a una temperatura de 35° C. Por debajo de este nivel, se puede romper el equilibrio entre acidez y alcalinidad al interior de la celda o retardar el proceso y por encima se puede inhibir la actividad bacteriana. (6)

Teniendo en cuenta lo anterior y con el fin de corroborar estos comportamientos, se tomaron 2 temperaturas de operación controladas de 25° C y 35° C para la celda de combustible microbiana. Por lo tanto, el montaje experimental de la celda se realizó en el interior de una incubadora de tipo industrial y se tomaron datos de desempeño con los dos sustratos a las respectivas temperaturas mencionadas anteriormente.

3.9. Toma de datos y parámetros de desempeño

A continuación se presentan las variables de desempeño del dispositivo medidas y la forma de recolección y organización de datos para su análisis estadístico y posterior discusión.

3.9.1. Voltaje

El principal parámetro de desempeño evaluado es el voltaje, generado a partir del flujo de electrones (H^-) liberados durante la digestión anaerobia sobre los ánodos.

Fue medido con un multímetro digital con interfase a computador (UNI-T UT60A) cada 60 segundos, durante cinco periodos de retención hidráulica para cada sustrato a 25° y 35° C. Debido a la poca variación entre las mediciones tomadas cada sesenta segundos se decidió trabajar con 18 datos tomados cada dos horas para cada periodo de retención hidráulica (Figura 8).

El voltaje de salida, se midió y se convirtió en potencia de acuerdo a la relación $P=VI$, para luego ser normalizada por el área total de los ánodos. La corriente, se obtiene colocando una resistencia de 508 Ω en el circuito y utilizando la relación $V=IR$.

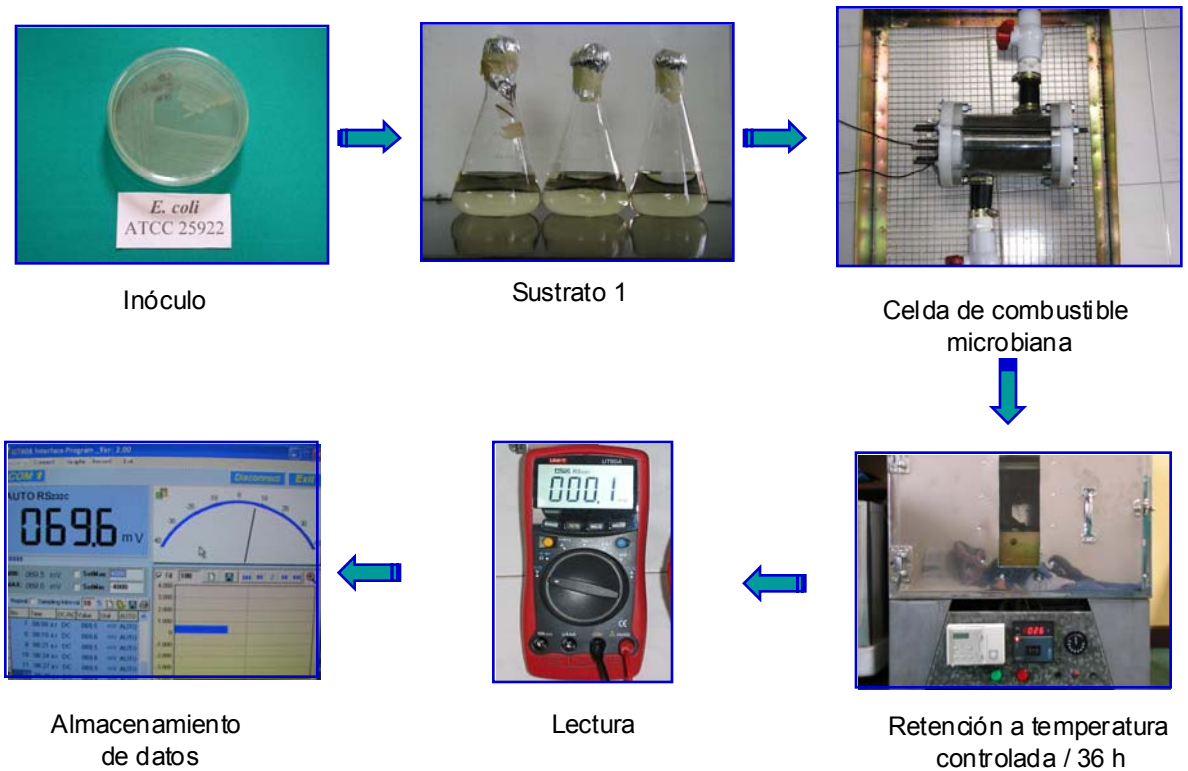


Figura 8. Desarrollo del experimento. (Fuente: Oscar Triviño, 2005)

3.9.2. Demanda biológica de oxígeno (DBO₅).

Para evaluar el tratamiento recibido por los sustratos, a partir de la digestión anaerobia de la materia orgánica contenida en éstos. Se midió la demanda biológica de oxígeno DBO₅, tomando muestras del sustrato al inicio y al final de los periodos de retención hidráulica, calculando la diferencia entre los dos resultados para obtener la remoción de DBO₅.

La demanda biológica de oxígeno es uno de los parámetros de contaminación orgánica más ampliamente empleado, aplicable tanto a aguas residuales como a aguas superficiales. La determinación del mismo está relacionada con la medición del oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en el proceso de oxidación bioquímica de la materia

orgánica. El análisis de las muestras, se llevó a cabo por el laboratorio ambiental PRODYCON, a través de la técnica de titulometría.

3.10. Diseño Experimental.

El diseño experimental para la toma de datos y posterior análisis estadístico, se basa en un diseño de bloques completos al azar, con arreglo factorial.

A continuación, se explican los motivos para la estructuración del diseño experimental bajo este modelo.

En ocasiones en un experimento un factor perturbador es desconocido y no controlable, es decir, se desconoce la existencia de ese factor e incluso puede tener niveles variables mientras se realiza el experimento. La aleatorización es la técnica de diseño que se utiliza para protegerse contra estos factores perturbadores. (16)

Por otra parte, cuando la fuente de variabilidad perturbadora es conocida y controlable, puede usarse una técnica de diseño llamada formación de bloques para eliminar de manera sistemática su efecto sobre las comparaciones estadísticas entre los cuatro tratamientos del experimento (cada sustrato a cada una de las temperaturas).

La forma tradicional de controlar la variación local en un área experimental es bloqueando el área, de tal forma que los datos dentro de un bloque varían menos que los que se encuentran en bloques diferentes. Hecho esto, se pueden comparar los tratamientos (cada sustrato a cada una de las temperaturas), que se encuentran en las unidades experimentales (celda de combustible microbiana de una sola cámara) dentro de los bloques (periodos

de retención hidráulica). De esta manera, se eliminan del error experimental las diferencias entre bloques

Con base en lo anterior, las repeticiones, hacen referencia al número de veces, en este caso cinco (5), que se toman 18 lecturas de voltaje cada dos horas y 2 mediciones de DBO_5 (inicial y final), durante 5 periodos de retención hidráulica de 36 horas, que para este caso serían los bloques del diseño⁹. Como se había mencionado anteriormente, estos datos tienen un arreglo factorial 2×2 correspondiente al factor A (los dos sustratos utilizados) y al factor B (las dos temperaturas de evaluación de éstos).

3.11. Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos recolectados, se llevó a cabo a través de un análisis de varianza con hipótesis de igualdad de producción de voltaje y remoción de DBO_5 entre los tratamientos (cada sustrato a cada una de las temperaturas) con un porcentaje de confiabilidad del 95%.

Al encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos (cada sustrato a cada una de las temperaturas) y con el ánimo de comparar cual sustrato y a que temperatura tuvo una mayor producción de voltaje y remoción de DBO_5 , se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey.

Los procedimientos anteriores se realizaron utilizando el programa de análisis estadístico SAS[®] Versión 9.0.

⁹ Es bueno diferenciar entre bloques y repeticiones. Repetición tiene que ver con el número de repeticiones sobre los sustratos del experimento; en cambio el bloqueo implica solamente agrupación de unidades para medición, que para el caso del experimento son los periodos de retención hidráulica

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Cambios observados en los sustratos.

Durante la realización de los experimentos a 25° C y 35° C se observaron cambios en la apariencia de los sustratos utilizados, así:

- En el momento de la carga de la celda de combustible microbiana, ambos sustratos tenían una ligera turbiedad, pero eran transparentes.
- A las 18 horas de incubación los sustratos se observaban mucho más turbios, y se evidenciaba la presencia de burbujas. Esto es concordante con la fase de acidogénesis donde se da inicio a la producción de H₂ y CO₂.
- A las 36 horas de incubación, el sustrato se ha oscurecido y presenta formación de espuma lo que indica producción de CO₂ y posible acidificación con la respectiva inhibición de producción de voltaje. (Figura 9).

4.2. Análisis estadístico

Se obtuvieron 360 mediciones de voltaje y 20 datos de remoción de DBO₅. Inicialmente se realizó una prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos obtenidos cumplieron con el supuesto de normalidad para así proceder a realizar el análisis de varianza.

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para los análisis de varianza de los datos de voltaje.



Figura 9. Cambios observados en los sustratos durante el experimento.
(Fuente: Oscar Triviño, 2005)

Procedimiento: ANOVA.

Porcentaje de confianza: 95 %

Clase	Niveles	Valores
Bloques:	5	1, 2, 3, 4,5
Sustratos:	2	1,2
Temperaturas:	2	25° C, 35° C
Horas	18	2, 4, 6,...36

Tabla 3. Análisis de varianza para el voltaje obtenido.

Fuente de variación	GL	SC	CM	Pr > F	S/cia	CV (%)	Media
BLOQUE	4	179.76	44.94	0.0651			
SUST	1	2806.18	2806.18	<.0001	*		
TEMP	1	930.26	930.26	<.0001	*		
HORA	17	3873.73	227.86	<.0001	*		
SUST*TEMP	1	1353.73	1353.73	<.0001	*		
SUST*HORA	17	1098.91	64.64	<.0001	*	45.66	9.81
TEMP*HORA	17	1869.73	109.98	<.0001	*		
SUST*TEMP*HORA	17	880.08	51.76	0.0007	*		
Error	284	5702.47	20.07				
Total	359	18694.87					

GL: grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

CM: Cuadrado medio

S/cia: significancia al 5%

*: significativo al 5%

CV: Coeficiente de variación.

Como se puede observar, solamente los bloques no presentan diferencias significativas entre si. Esto significa que existieron características homogéneas en cada uno de los ensayos realizados. Lo que a su vez ratifica el logro del objetivo de reducir el error experimental.

Por otra parte, se encontró que existen diferencias significativas entre los datos de voltaje para cada uno de los sustratos, a cada una de las temperaturas y a cada una de las horas.

Para evaluar cual de los sustratos (Figura 10), a que temperatura (Figura 11) y en que periodo de tiempo se obtuvo una mejor generación de voltaje (Figura 12) se realizó la prueba del rango estudentizado de Tukey encontrándose los siguientes resultados.

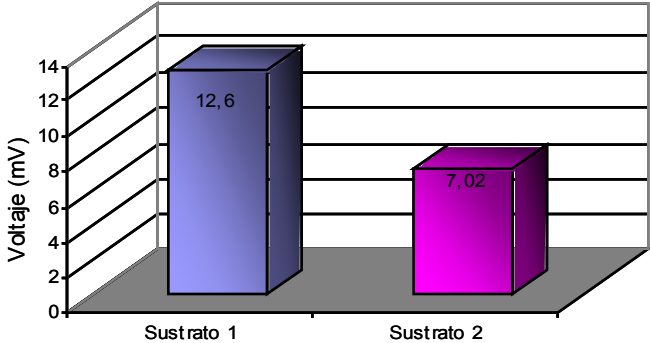


Figura 10. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la generación de voltaje por cada sustrato.

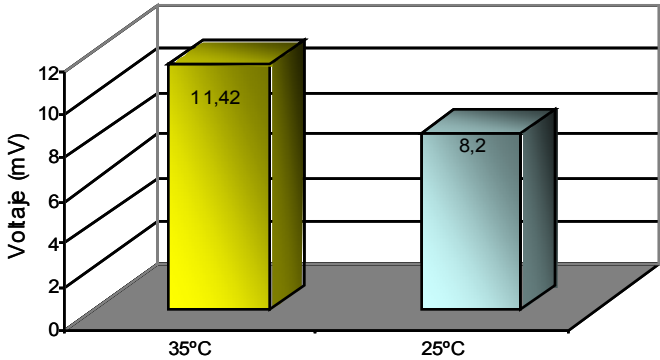


Figura 11. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la generación de voltaje a 25°C y a 35°C.

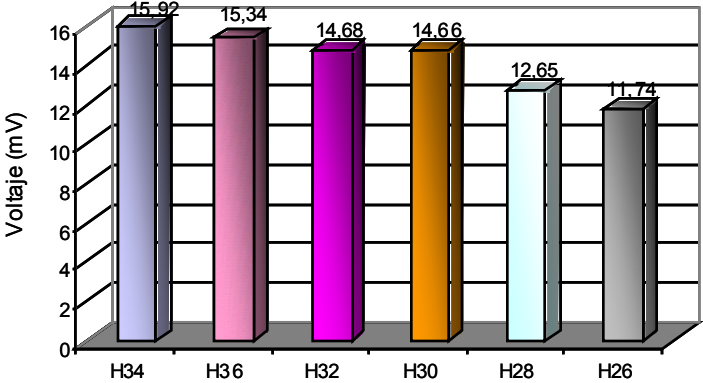


Figura 12. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para las mejores horas de producción de voltaje

Del análisis de las graficas anteriores se tiene que en cuanto a generación de voltaje el sustrato No. 1 tuvo el mejor desempeño, a 35° C entre las horas 26 y 36.

Con respecto a los datos de remoción de DBO₅, se obtuvieron los siguientes resultados para el análisis de varianza (Tabla 4):

Procedimiento: ANOVA.

Porcentaje de confianza: 95 %

Clases	Niveles	Valores
Bloques:	5	1, 2, 3, 4,5
Sustratos:	2	1,2
Temperaturas:	2	25° C, 35° C

Tabla 4. Análisis de varianza para remoción de DBO₅

Fuente de variación	DF	SC	CM	Pr > F	S/cia	CV (%)	Media
BLOQUE	4	9942.7	2485.67	0.1047			
SUST	1	41952.8	41952.8	<.0001	*		
TEMP	1	232416.8	232416.8	<.0001	*		
SUST*TEMP	1	86592.8	86592.8	<.0001	*	9.58	333.8
Error	12	12272.1	1022.67				
Total	19	383177.2					

GL: grados de libertad

SC: Suma de cuadrados

CM: Cuadrado medio

S/cia: significancia al 5%

*: significativo al 5%

CV: Coeficiente de variación

Nuevamente se observó, que no existen diferencias significativas entre bloques lo que ratifica el logro del objetivo de la reducción del error experimental.

Se observan diferencias significativas entre los datos de remoción de DBO_5 para cada uno de los sustratos a 25° y 35°C . Con el fin de determinar, a que temperatura y en que sustrato se presentó la mayor remoción de DBO_5 se llevó a cabo la prueba del rango estudentizado de Tukey cuyos resultados se observan en las figuras 13, 14 y 15.

El análisis estadístico corrobora los comportamientos observados como es el caso de que la mayor generación de energía coincidió con la mayor remoción de DBO_5 : Sustrato 1. Temp. 35°C . Voltaje. 69.6 mV. Remoción DBO_5 : 570 mg / l O_2

Sin embargo se observaron remociones de DBO_5 de este mismo orden sin una generación de energía comparable. Puede suceder que la remoción de DBO_5 se haya dado por procesos que no generan electricidad.

Para incrementar la eficiencia en la producción de voltaje del sistema se deben encontrar métodos para incrementar la fracción de materia orgánica en energía. Adicionalmente, los cambios en las cantidades removidas pueden reflejar diferencias en la biodegradabilidad de la materia orgánica presente en las aguas residuales.

Sin embargo, al presentarse remoción de la demanda biológica de oxígeno gracias a la generación de energía eléctrica u otros procesos se cumple el objetivo de dar tratamiento a las aguas residuales. Al parecer en este caso la remoción de DBO_5 no asociada con generación de voltaje, se debió a la transferencia pasiva de oxígeno al interior de la celda ocasionada por la difusión a través de la membrana de intercambio protónico.

La reducción de la DBO_5 causada por la transferencia pasiva de oxígeno puede ser beneficiosa comparada con los costosos sistemas de aireación

forzada para el tratamiento de aguas residuales. Claro está que se requiere trabajo adicional para tener una mejor comprensión de cómo la generación de electricidad afecta la remoción de DBO_5 y como factores operacionales como los tiempos de retención hidráulica, y flujo de aire a través del cátodo pueden ser optimizados.

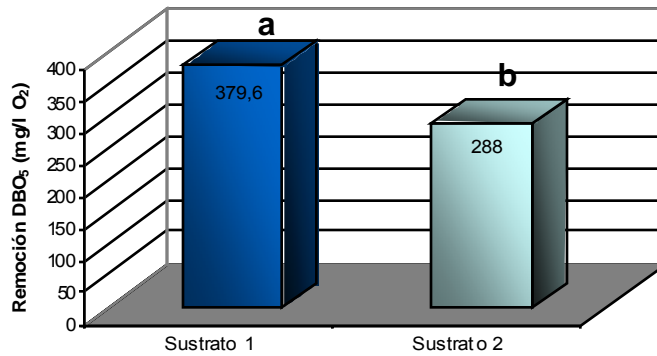


Figura 13. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO_5 para cada sustrato.

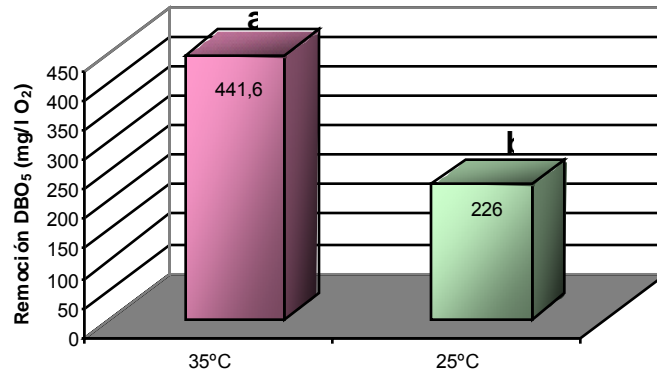


Figura 14. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO_5 a 25°C y a 35°C.

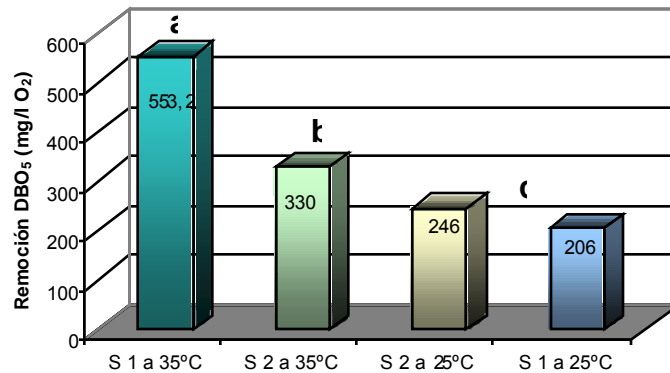


Figura 15. Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la remoción de DBO₅ para cada uno de los sustratos a cada una de las temperaturas.

4.3. Evaluación de voltaje y DBO₅ a través del tiempo.

A continuación se presentan y discuten los comportamientos de las lecturas de voltaje a lo largo de los periodos de retención hidráulica, así como la remoción de DBO₅ en los mismos tiempos. (Figura 16).

Para el sustrato No. 1 a 25° C el voltaje generado se mantuvo en una tendencia creciente entre 5 y 10 mV durante las 36 horas, mientras que a 35°C se evidenció una tendencia constante entre 20 y 30 mV; con la presencia de un pico de generación de 69.6 mV durante la primera retención.

En cuanto el sustrato No. 2 a 25° C, se observó una producción de voltaje con tendencia constante entre 6 y 10 mV y para 35° C una con tendencia creciente entre 4 y 12 mV.

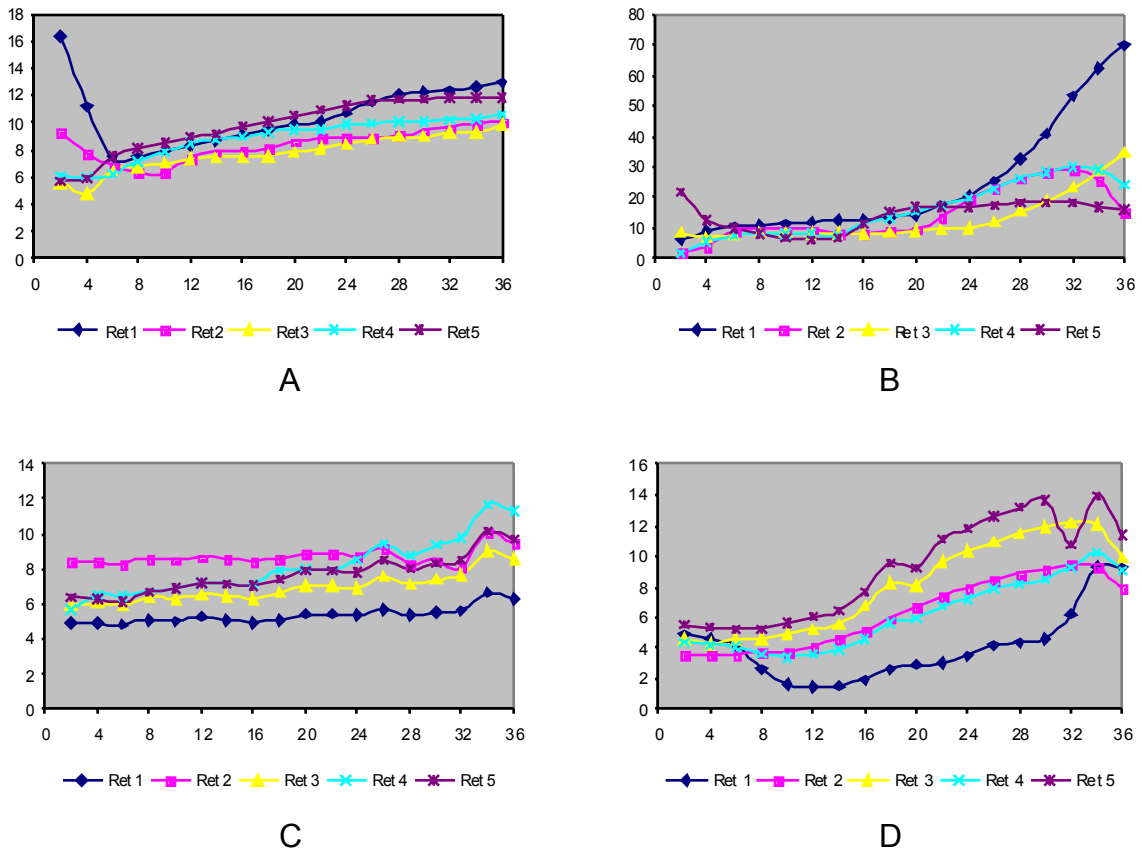


Figura 16. Evolución del voltaje a través del tiempo. A) Sustrato 1 a 25°C. B) Sustrato 1 a 35°C. C) Sustrato 2 a 25°C. D) Sustrato 2 a 35°C.

De estos resultados se puede concluir que el comportamiento experimental de producción de voltaje, es consistente con la capacidad digestora de un reactor anaerobio, la cual es óptima a una temperatura de 35°C, pero es un poco mas lenta y/o imposible a temperaturas menores (5).

La temperatura es uno de los factores más importantes que afectan la actividad microbiana en las celdas de combustible microbianas y los digestores anaerobios. Las fluctuaciones en la temperatura, pueden ser

ventajosas para unos grupos de bacterias y desventajosas para otros. Por ejemplo, un incremento de 10° C puede inhibir las bacterias metanogénicas durante 12 horas, mientras que la producción de ácidos volátiles se incrementa. Los cambios en las cantidades de estos ácidos que son usados directa e indirectamente como sustratos para la producción de H₂ y/o CH₄ afectan directamente el desempeño de la celda.

Por otra parte, se observó que la forma de las curvas de generación de voltaje se asemeja a la de las curvas típicas de crecimiento celular. Es decir durante la fase de adaptación se obtuvieron voltajes pequeños con tendencia al incremento, durante la fase de crecimiento se observó la producción máxima de voltaje, cuando los nutrientes se consumieron o se acumularon productos inhibidores, la producción de voltaje disminuyó coincidiendo con la fase de desaceleración (Figura 17).

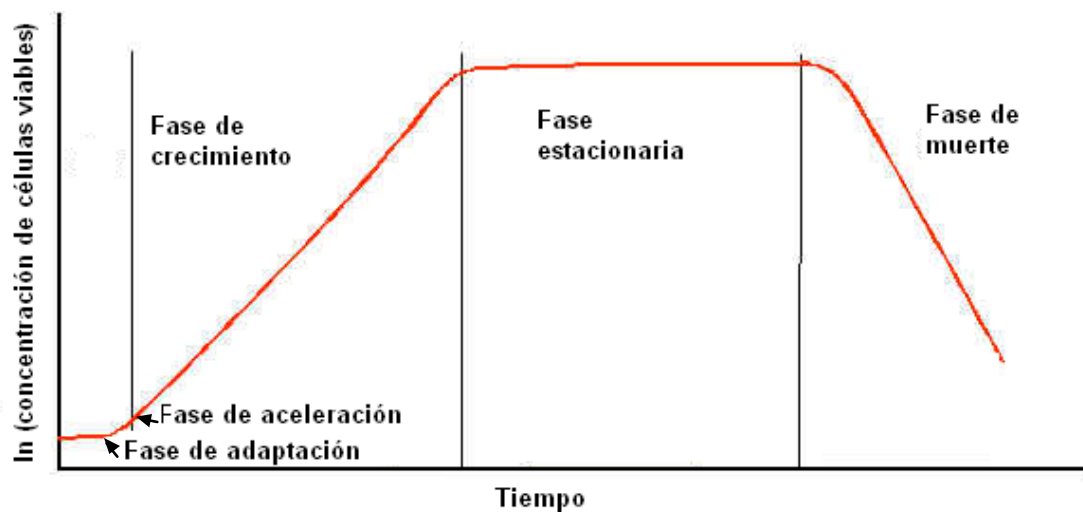


Figura 17. Curva típica de crecimiento microbiano. (Doran, 1998)

En cuanto a las diferencias de generación de voltaje de los sustratos se puede decir que la variabilidad en la biodegradabilidad y tipo de la materia

orgánica (lípidos, carbohidratos, etc) presente en las aguas residuales pueden retardar el proceso o inhibir parcial o totalmente la actividad bacteriana y por lo tanto la producción de voltaje.

El comportamiento de la remoción de DBO_5 para cada uno de los sustratos a su respectiva temperatura, y para cada tiempo de retención hidráulica se presenta en la figura 18.

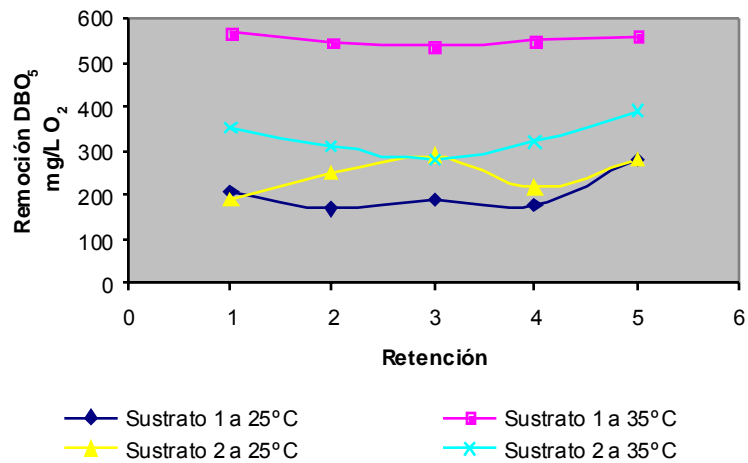


Figura 18. Remoción de la DBO_5 en las retenciones

Como se puede observar, las remociones mas altas de DBO_5 se presentaron durante las retenciones del sustrato No. 1 a 35° C, este hecho parece evidenciar una relación entre los mayores niveles de voltaje generados y la mayor remoción de DBO_5 . En otras palabras, a una mayor actividad bacteriana de digestión se tendrán mayores voltajes producidos y mayores remociones de materia orgánica presente en los sustratos.

CONCLUSIONES

- La celda de combustible microbiana de una sola cámara construida para el desarrollo de este estudio, alcanzó los objetivos de generación de energía eléctrica y de tratamiento de aguas residuales a niveles comparables con investigaciones desarrolladas en Pennsylvania State University, University of Massachusetts y el Indian Institute of Science, entre otras. Sin embargo, durante ésta serie de experimentos se utilizó un catalizador menos costoso como es el níquel y no se tuvo en cuenta el uso de mediadores para apoyar la transferencia de electrones.
- A pesar de que la mayor generación de voltaje y remoción de DBO_5 se dio en el sustrato preparado, también se produjo voltaje y tratamiento de las aguas residuales. Lo que a su vez, invita a profundizar en la optimización de procesos y/o componentes involucrados con la construcción y operación del dispositivo.
- El uso de materiales disponibles localmente, permitió fabricar un diseño funcional y económico que hizo posible la generación de electricidad a través de la degradación bacteriana de sustratos. Los mayores componentes de costo en cuanto a la fabricación y operación del dispositivo fueron la membrana de intercambio protónico con un 31.8% de participación y los análisis de DBO_5 con un 23.8%.
- Se encontró que los inóculos seleccionados, pudieron catalizar efectivamente la transferencia de electrones provenientes de la oxidación anaerobia a electrodos de grafito, sin la necesidad de compuestos mediadores.

- El voltaje generado siempre se incrementó o mantuvo niveles similares después de cada reemplazo de sustrato. Esto sugiere que la generación de energía eléctrica se debió principalmente a la transferencia directa de electrones de bacterias adheridas en forma de biopelículas a los ánodos de grafito.
- La duración del dispositivo, se encuentra relacionada con la limpieza, mantenimiento y vida útil de su principal elemento: la membrana de intercambio protónico, la cual puede tener una duración comprobada de 5000 horas en los ambientes más agresivos, si se le realiza una limpieza cada 1000 horas.
- Con la selección de tiempos de retención hidráulica de 36 horas, se controló efectivamente la generación de metano, sin embargo es posible que se haya permitido la formación de sustancias inhibitoras de la producción de voltaje como ácidos debido a los excesos de CO₂ en el interior de la celda.
- Se corroboró que la temperatura de 35°C ofrece las mejores condiciones para la operación de digestores anaerobios, ya que se conserva el equilibrio entre alcalinidad y acidez permitiendo una mayor producción de H₂ que finalmente se tradujo en una mayor producción de voltaje.

RECOMENDACIONES

- Evaluar el desempeño de las celda combustible microbiana de una sola cámara variando los catalizadores, los sustratos (aguas residuales provenientes de diferentes fuentes); la utilización de mediadores no tóxicos como azul de metileno, rojo neutro, etc.; aireación forzada a través del cátodo y el flujo continuo de sustrato en el interior de la cámara.
- Utilizar diferentes inóculos microbianos para incrementar la producción de electricidad en la celda de combustible.
- Realizar nuevos diseños de celdas de combustibles microbianas de menores tamaños y eficaces para la producción de electricidad con aguas residuales.
- El circuito de la celda de combustible microbiana se puede mejorar al aumentar la densidad y la uniformidad del cable embobinado; y al disminuir el espesor del soporte del cátodo para facilitar la reacción de recombinación.
- Disminuir la permeabilidad de O_2 con otras membranas y mejorar el sellado para evitarla.
- Reducir costos de fabricación utilizando membranas alternativas que no requieran o minimicen el uso de catalizadores.
- Continuar el estudio y optimización de este tipo de tecnologías, dados los elevados costos de infraestructura para el tratamiento de aguas.

BIBLIOGRAFIA

(1) Bond R. Daniel / Lovely R. Derek. *Electricity production by Globate sulfurreducens attached to electrodes. Department of Microbiology. University of Massachusetts. 2002.* Doran M. Pauline. *Principios de ingeniería de los bioprocesos.* Editorial Acribia. 1995.

(2) Dieter E. George. (2000) *Engineering Design. A materials and processing approach.* 3rd. Ed. Mc. Graw Hill. .

(3) Doran M. Pauline. (1995) *Principios de ingeniería de los bioprocesos.* Editorial Acribia. .

(4) DuPont Polymers. 2003. *Material Safety Data Sheet. Nafion PFSA Membranas listed on NAF002* Willmington. Estados Unidos.

(5) Escalante M. Nicolás. Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. *Celda de combustible biológica aplicada al tratamiento de aguas.* Bogotá D.C.

(6) Gerardi Micahel H. *The microbiology of anaerobic digesters.* John Wiley & Sons Inc. 2003.175.

(7) Jung Rae Kim / Booki Min / Bruce E. Logan. (2005). *Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production.* *Applied Microbiology Biotechnology.* Vol. 68. Pág. 23-30.

(8) Liu Hong / Ramnarayanan Ramathan / Logan Bruce. Department of Civil and Environmental Engineering, Department of Chemistry and The Penn State Hydrogen Energy (H₂E) Center. The Pennsylvania State University.

Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. Environmental Science & Technology. Vol. 38. No. 7. 2004. Pág. 2281 – 2285.

(9) Liu Hong / Ramnarayanan Ramathan / Logan Bruce. Department of Civil and Environmental Engineering, Department of Chemistry and The Penn State Hydrogen Energy (H₂E) Center. The Pennsylvania State University. *Electricity generation using an air – cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane.* Environmental Science & Technology. Vol. 38. No. 14. 2004. Pág. 4040 – 4046.

(10) Logan Bruce / Oh San-geun / Kim In / Van Ginkel Steven. Department of Civil and Environmental Engineering. The Pennsylvania State University and Department of environmental science and engineering. Kwang – Ju Institute of science and technology. K-JIST. Kwang –Ju. Korea. *Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers.* Environmental Science & Technology. Vol. 36. No. 11. 2002. Pág. 2530 – 2535.

(11) Logan Bruce. The Pennsylvania State University. *Extracting hydrogen electricity from and renewable sources.* Environmental Science & Technology. Mayo 1, 2004. Pág. 160A-167A.

(12) Mantilla Maria R. Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería. Departamento de Civil y Ambiental. *Evaluación del desempeño de un bioreactor anaerobio con membrana de filtración inmersa.* Bogotá.D.C.2003.

(13) Martínez R. / Martínez N. (1997). *Diseño de experimentos.* Fondo Nacional Universitario. Santafe de Bogotá. D.C. 479.

(14) Metcelf & Eddy. *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización*. Tercera Edición. Mc. Graw Hill. 1995.

(15) Min Booki / Logan Bruce. Department of Civil and Environmental Engineering and The Penn State Hydrogen Energy (H₂E) Center. The Pennsylvania State University. *Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell*. Environmental Science & Technology. Vol. 38. No. 21. 2004. Pág. 5809 – 5814.

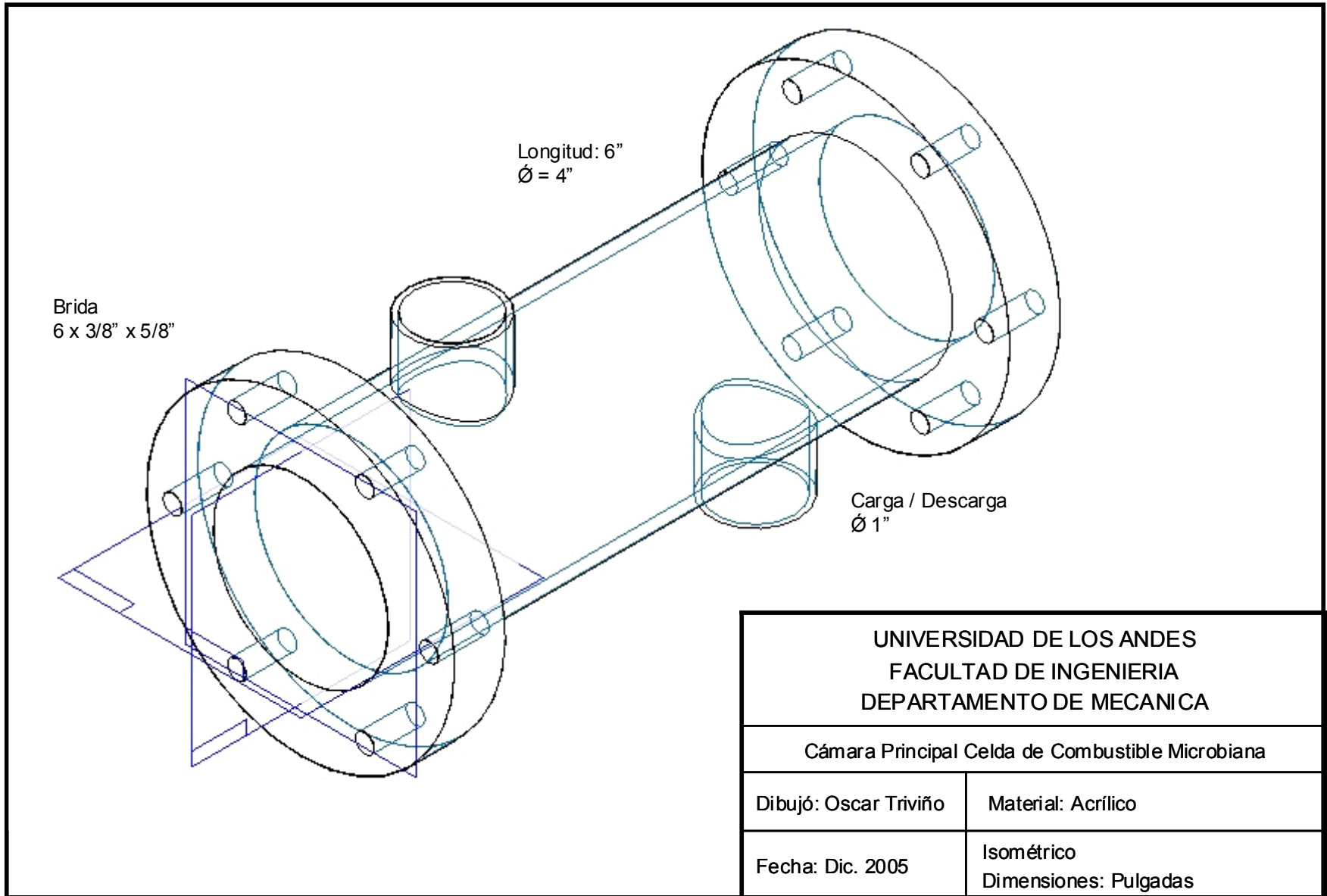
(16) Montgomery Douglas C. *Diseño y analisis de experimentos*. Segunda Edicion. Universidad Estatal de Arizona. Editorial Limusa S.A. de C.V. 2004.

(17) Oh San-geun / Min Booki / Logan Bruce. Department of Civil and Environmental Engineering and The Penn State Hydrogen Energy (H₂E) Center. The Pennsylvania State University. *Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells*. Environmental Science & Technology. Vol. 38. No. 18. 2004. Pág. 4900 – 4904.

(18) Shukla A. K / Suresh P / Berchmans S / Rajendran A. *Biological fuel cells and their applications*. Current Science, Vol. 87, No. 4, 25 August 2004 Pág. 455 -468.

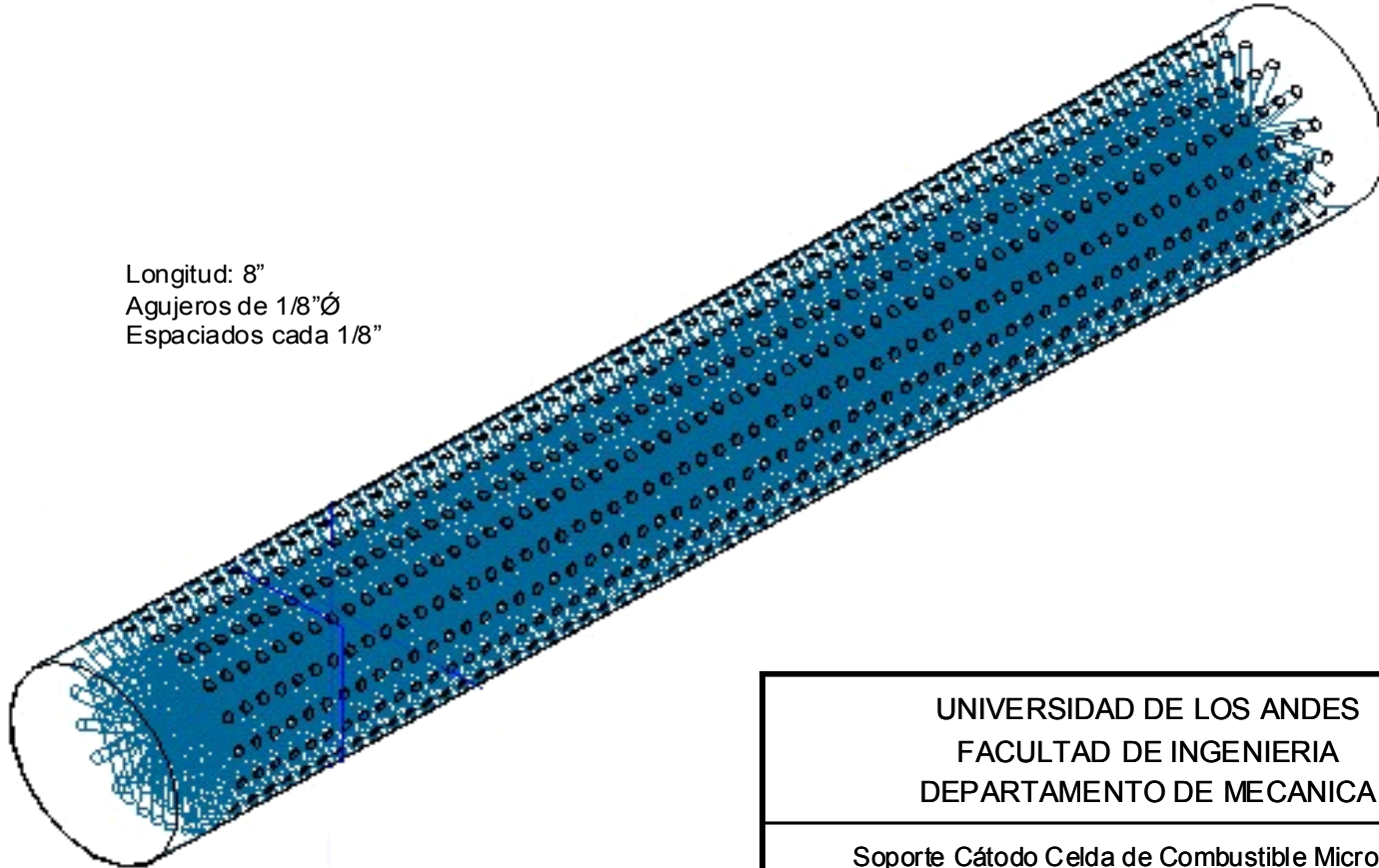
(19) Zhang Jian-jun / Li Xiao-yan / Oh San-geun / Logan Bruce. Department of Civil Engineering. The University of Hong Kong. Department of Civil and Environmental Engineering. The Pennsylvania State University. *Physical and hydrodynamic properties of flocs produced during biological hydrogen production*.

ANEXO 1. CÁMARA PRINCIPAL CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA



ANEXO 2. SOPORTE CATODO CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA

Longitud: 8"
Agujeros de 1/8"Ø
Espaciados cada 1/8"



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE MECANICA

Soporte Cátodo Celda de Combustible Microbiana

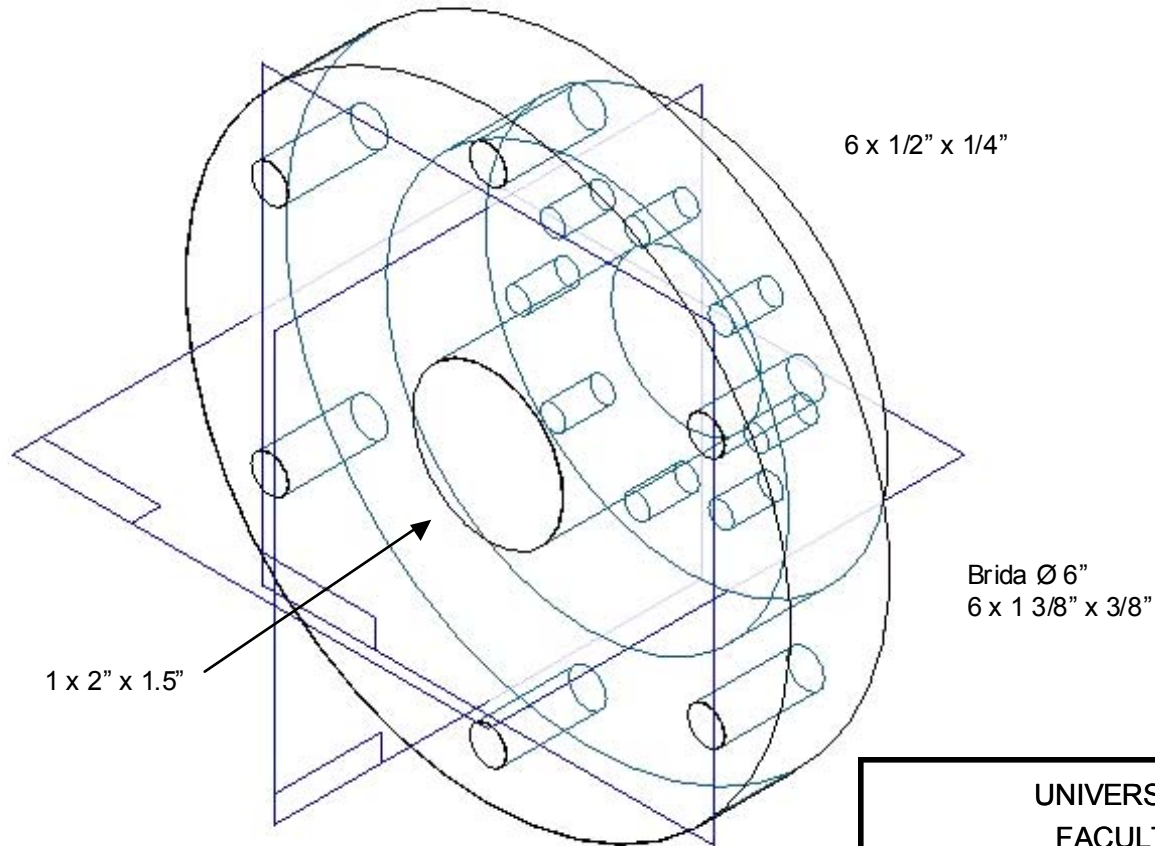
Dibujó: Oscar Triviño

Material: Acrílico

Fecha: Dic. 2005

Isométrico
Dimensiones: Pulgadas

ANEXO 3. TAPA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERIA
DEPARTAMENTO DE MECANICA

Tapa Celda de Combustible Microbiana

Dibujó: Oscar Triviño

Material: Superpol MX
Cantidad: 2

Fecha: Dic. 2005

Isométrico
Dimensiones: Pulgadas