

Capítulo 4. Experimentos realizados

4.1 Origen de las CMB

El primer trabajo que da origen al desarrollo de las celdas de biocombustible pertenece a Michael Cresse Potter con su artículo titulado “Efectos eléctricos que acompañan la descomposición de compuestos orgánicos” publicado en 1911 en la revista The Royal Society.

Este artículo concluye con la siguiente cita: “La desintegración de compuestos orgánicos debida a los microorganismos está acompañada de la liberación de energía eléctrica” (Potter, 1911), la cual es mencionada en una infinidad de artículos en la actualidad. Debido al extenso trabajo que se realizó para la publicación de este artículo, solo se presentan los resultados obtenidos con las celdas en las cuales utilizó levadura, ya que son el inicio de lo que hoy conocemos como celdas microbianas de combustible. También realizó experimentos con celdas galvánicas, hidrólisis y enzimas como la invertasa y diastasa.

El siguiente trabajo en abordar este tema se publicó en 1931 por Cohen Barnett, el trabajo se tituló “El cultivo bacteriano como una media-celda eléctrica” (media-celda hace referencia a la cámara anódica) y fue dado a conocer en la treinta y dosava reunión anual de la sociedad americana de bacteriólogos. En este trabajo se experimentó con varios cultivos de bacterias, de los cuales reporta sus resultados correspondientes y también la conexión de celdas en serie, de las cuales logra obtener un voltaje de 35 V (Cohen, 1931).

4.1.1 Efectos eléctricos que acompañan la descomposición de compuestos orgánicos

4.1.1.1 El dispositivo

El dispositivo empleado en la Figura 4.1 consistió en una jarra de vidrio dentro de la cual se colocó un cilindro poroso. Un fluido nutritivo se colocó en la jarra y en el cilindro poroso; se utilizaron dos electrodos de platino, uno dentro del fluido contenido en la jarra y el otro dentro del cilindro. Después de la debida esterilización se procedió a inocular el aparato con los microorganismos bajo investigación. Cuando los cultivos de microorganismos fueron introducidos dentro del fluido en la jarra (fluido externo) o en el cilindro poroso (fluido interno), bajo condiciones adecuadas, se produjo una reacción química, dando como resultado que el aparato se comportara como una celda galvánica.

En todos los experimentos principales se utilizó platino como electrodo y para evitar la necesidad de utilizar largos alambres de platino, una pequeña longitud de este metal se soldó con plata a un alambre de cobre. Los cables de los electrodos se conectaron a un condensador de un micro-farad y éste se descargaba a través de un galvanómetro por medio de un telégrafo. Este arreglo fue adoptado en sugerencia de H. Morris Airey, para eliminar la resistencia del circuito. Una celda Clark fue descargada de la misma manera a través del galvanómetro para demostrar el buen funcionamiento en las deflexiones de este.

En este experimento se descartaron problemas de mal funcionamiento o lecturas erróneas debido a diferencias de temperatura entre el líquido interno y externo, efectos de ósmosis o evaporación. Puesto que el CO₂ es el único gas liberado en la fermentación, se asumió que no ocurrió oxidación en

los electrodos de platino. Después del debido aislamiento de los alambres fuera de la jarra, éstos se fijaron a la jarra para prevenir que se sacudieran o generaran otro tipo de disturbio mientras duraba el experimento.

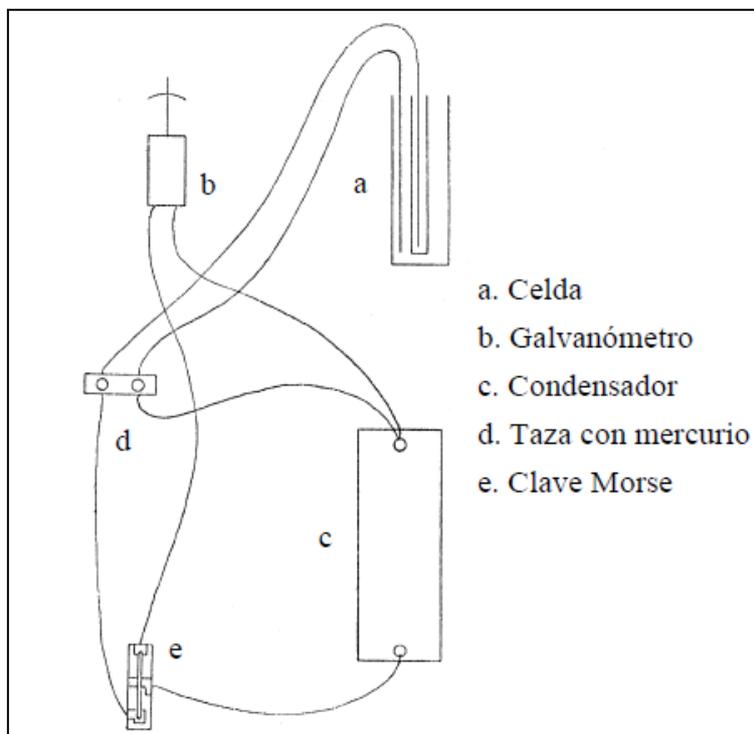


Figura 4.1 Dispositivo original de una CMB (Potter, 1911)

La actividad fermentativa de la levadura sobre soluciones de azúcar resultó ser un objeto prometedor de investigación, por lo cual se utilizó levadura con glucosa como medio de alimentación debido a su facilidad de comercio y a su rápida y marcada fermentación que puede desarrollar. El tipo de levadura utilizada fue la denominada “levadura alemana” y no descartó el uso futuro de cultivos puros de las variedades de *Saccharomyces* con diferentes tipos de azúcares con sus correspondientes comparaciones.

Como una medida arbitraria estándar se encontró conveniente tomar 5 g de levadura y mezclarlos con 100 cm³ de agua para repartir 10 cm³ en cada celda. Por este método, aproximadamente la misma cantidad de levadura se utilizó en cada celda y así los resultados de los experimentos pudieron ser comparables unos con otros. Mientras tanto en las celdas se vertieron 100 cm³ de solución de glucosa dentro del cilindro y de la jarra.

Después de lo anterior, la levadura fue vertida dentro del fluido externo. Por un corto tiempo después de la introducción de la levadura no se registró algún voltaje, pero cuando los microorganismos comenzaron su actividad, se registró un incremento gradual de voltaje.

Al desconectar la celda de glucosa-levadura y sustituirla por una celda estándar, siempre se encontró que la solución de glucosa con levadura actuaba como el zinc en una celda galvánica ordinaria, con

lo que la corriente dentro de la celda pasaba de la solución glucosa-levadura a la solución de glucosa. Además, cuando el fluido interno era inoculado en lugar del fluido externo la dirección de la corriente se invertía.

4.1.1.2 Varias concentraciones del medio

La Figura 4.2 muestra las variaciones de voltaje con soluciones de distintos grados de concentración. Con la medida estándar de 5 g de levadura a una temperatura de 25°C y una solución de 10% de glucosa se registró un voltaje de 0.32 durante 7 minutos, después de esto, el voltaje cayó gradualmente hasta que al final de 40 minutos era de 0.25. Con 20% de glucosa, el máximo voltaje fue de 0.32, con 5% de 0.3. La de 10% pareció ser la mejor concentración, pero como se observa más adelante en la gráfica las concentraciones de 5, 10 y 20 %, aunque variaron poco en su acción inicial rápida, lograron un voltaje muy similar y tiempo después las curvas siguieron casi el mismo curso. Con 30% de glucosa se observó un desarrollo más lento, el máximo voltaje fue de 0.26 y se logró luego de 23 minutos. Con 40% solamente se registraron 0.18 volts después de 90 minutos y con 50%, 0.08 volts después del mismo periodo. Con estas observaciones se concluyó que altos grados de concentración desarrollaron una acción más lenta en la levadura con un voltaje más bajo.

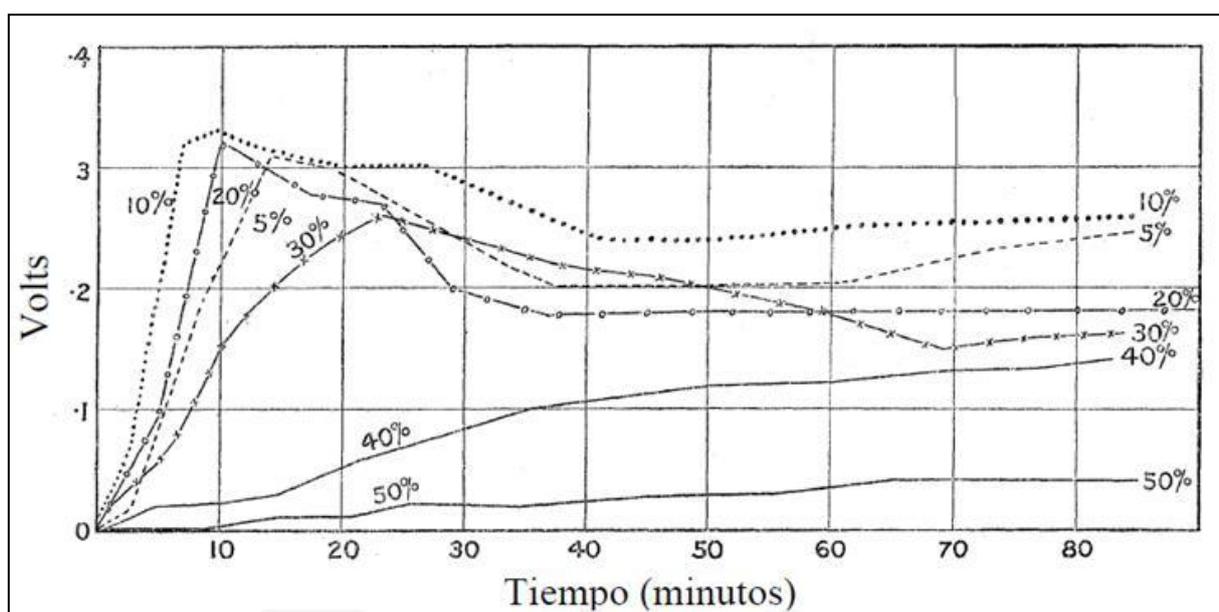


Figura 4.2 Desarrollo de voltaje en las celdas microbianas utilizando soluciones de glucosa al 5, 10, 20, 30, 40 y 50% y 5g de levadura en cada caso (Potter, 1911)

4.1.1.3 Variando la cantidad de levadura

La Figura 4.3 muestra los resultados de los experimentos para determinar el efecto de diferentes cantidades de levadura. Se utilizaron tres celdas, las cuales fueron cargadas a la misma temperatura (23.5°C) con la misma solución de glucosa; a la primera se le agregaron 5 g de levadura, a la segunda 2.5 g y a la tercera 0.05 g. Con 5 g de levadura se alcanzó un voltaje máximo de 0.36 en 10 minutos. Con 2.5 g el crecimiento de la curva fue más gradual, alcanzando un voltaje máximo de 0.3 al final de 2 horas. Con 0.5 g mostró un voltaje de solo 0.04 después de 80 minutos con un máximo de 0.3 V después de un periodo de 3 horas.

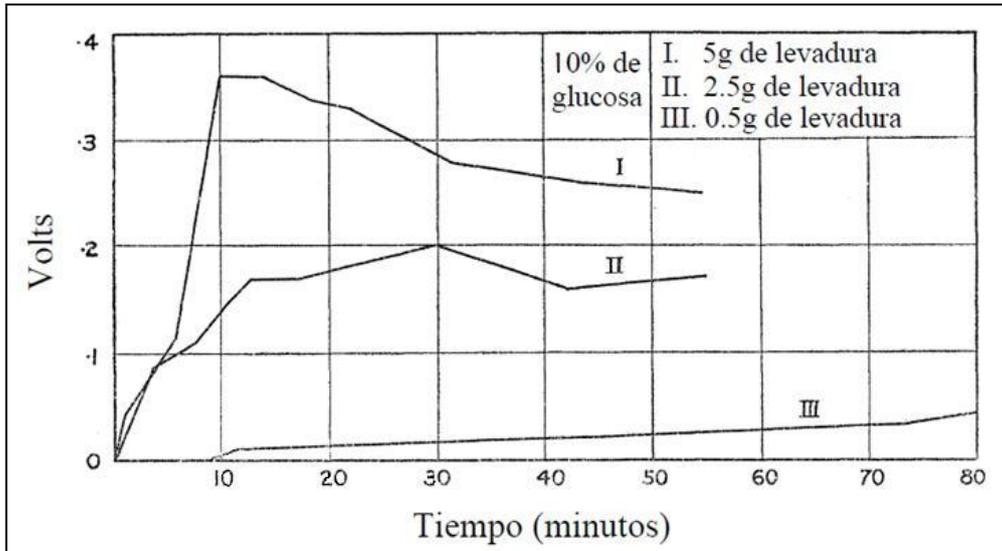


Figura 4.3 Desarrollo del voltaje variando cantidades de levadura (Potter, 1911)

4.1.1.4 Condiciones de temperatura

En la Figura 4.4 se muestran los resultados de utilizar diferentes temperaturas. Cuando la levadura fue introducida en una solución de 10% de glucosa a 25°C se logró un voltaje de 0.3 en 9 minutos, y el máximo de 0.32 en 15 minutos. Pero a 17°C el voltaje de 0.3 no fue alcanzado sino hasta después de 20 minutos, y el máximo de 0.32 después de 25 minutos. A 10°C el comienzo fue muy lento, después de 34 minutos se alcanzó un voltaje de 0.45 y en 45 minutos el máximo.

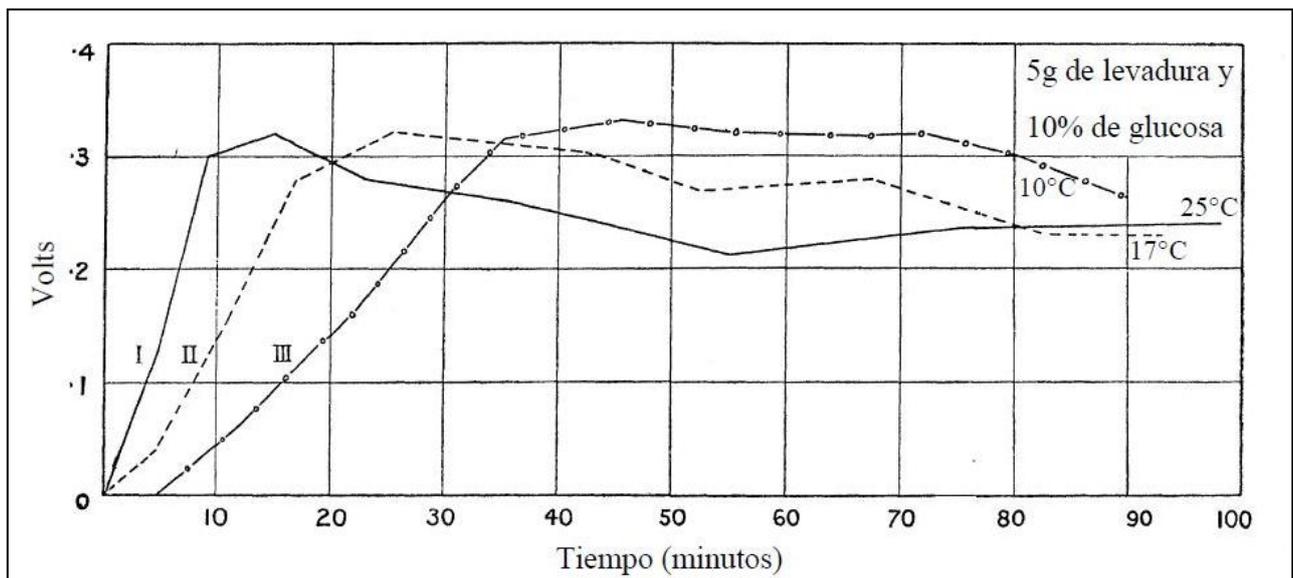


Figura 4.4 Voltaje obtenido variando la temperatura (Potter, 1911)

Es interesante notar que después del voltaje máximo obtenido en cada caso le siguió una pequeña caída en la curva, siguiendo la caída gradual de temperatura. A 0°C no se detectaron deflexiones, pero cuando la temperatura de estas celdas fue aumentando gradualmente en una incubadora, pronto se observó aumento en el voltaje y continuó en incremento conforme la temperatura era más favorable. En el punto de congelación la levadura no está muerta, sino que la ausencia de acción eléctrica a esta temperatura muestra que este efecto se encuentra suspendido. Cuando las celdas se mantuvieron a 50°C no se detectaron deflexiones en el galvanómetro y cuando la temperatura bajó a 25°C otra vez no se detectó algún efecto eléctrico, mostrando que la levadura había sido destruida.

Estos resultados demostraron que el voltaje desarrollado solo puede ser atribuido a la acción fermentativa de la levadura y los efectos eléctricos son una medida de la actividad de la levadura. Se ha observado que la característica del medio de cultivo eleva los efectos eléctricos producidos y que los grados de concentración que son muy altos para el crecimiento favorable de la levadura se reflejan en la disminución de voltaje registrado y en la disminución de la velocidad de la reacción. Además, la velocidad de la reacción varía con la cantidad de levadura activa presente en las celdas y el gradiente de la curva está directamente influenciado por este factor. También se encontró que el gradiente de la curva que indica el crecimiento del potencial es muy inclinada cuando la levadura es introducida en una solución de glucosa a una temperatura óptima, pero la curva es mucho menos inclinada cuando la temperatura se acerca a los límites máximos y mínimos de tolerancia de los microorganismos, es decir, a los 0°C y a los 50°C.

El máximo voltaje registrado con levadura y glucosa o azúcar de caña fue de 0.3 a 0.4, y el voltaje dentro de este rango nunca fue excedido en alguno de los experimentos bajo alguna condición especial.

Siempre se detectó una pequeña corriente eléctrica en las celdas glucosa-levadura. Cuando se realizaba un corto circuito debido a la unión de los electrodos, el voltaje se reducía considerablemente. Pero cuando los electrodos se separaban de nuevo, el voltaje aumentaba de forma gradual debido a la actividad de la levadura. La Figura 4.5 muestra el efecto de corto circuito y la recuperación de potencial después de separar los electrodos. Se utilizaron 5 g de levadura en una solución de glucosa al 10% a 28°C. El corto circuito se realizó a los 15, 22, 36, 60 y 78 minutos después de la introducción de la levadura.

4.1.1.5 Bacterias

M. C. Potter también experimentó con bacterias. Utilizó cultivos puros de *Bacillus coli communis*, *B. fluorescens*, *B. violaceus* y *Sarcina lutea* (Potter, 1911). Después de las debidas precauciones se procedió a inocular las celdas con una solución modificada de la muy conocida solución de Pasteur (Tabla 4.1).

Los *B. coli communis* florecieron rápidamente en este medio y resultaron ser un excelente sujeto de investigación. A los 30°C, cuando estos microorganismos se desarrollaron en la solución descrita anteriormente se registró un voltaje de 0.308. Usando la misma solución, pero reemplazando la asparagina con 0.2 % de almidón se registró un incremento de voltaje a 0.349. A 20°C, el voltaje fue de 0.534.

Tabla 4.1 Solución modificada de Pasteur (Potter, 1911)

Fosfato de potasio.....	2 g
Fosfato de calcio.....	0.2 g
Sulfato de magnesio.....	0.2 g
Tartrato de amonio.....	10 g
Asparagina.....	0.5 g
Agua.....	100 ml

En el caso de *B. fluorescens*, *B. violaceus* y *Sarcina lutea* no se detectó ningún voltaje a 30°C ó a 20°C. Posteriormente se encontró que el medio utilizado resultó ser inadecuado para el crecimiento de estas bacterias.

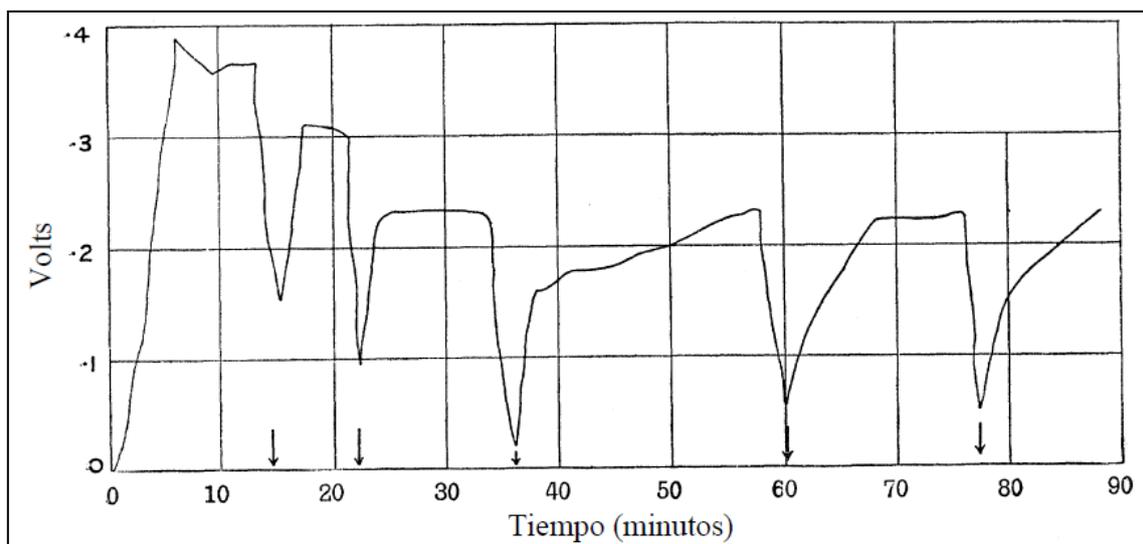


Figura 4.5 Efecto de corto circuito utilizando levadura y glucosa (Potter, 1911)

4.1.1.6 Electrodo

Aunque los alambres de platino fueron empleados como los electrodos estándar a lo largo de la investigación, también se realizaron ensayos con otros metales tales como el oro, níquel, estaño, zinc y aluminio. Todos estos metales, cuando fueron utilizados como electrodos incluyendo a las placas de carbón, mostraron la existencia de una diferencia de potencial entre la solución glucosa-levadura y la solución de glucosa, así como la existencia de una pequeña corriente eléctrica pasando de la glucosa-levadura hacia la glucosa. La cantidad de voltaje, sin embargo, varió con todos los electrodos empleados; debido a que las causas de estas variaciones salieron de tema de investigación, no se consideró investigar más a fondo.

4.1.2 El cultivo bacteriano como una media-celda (cámara anódica) eléctrica

Los experimentos que realizó Cohen se diseñaron para ilustrar la importancia mutua de la intensidad y los factores biológicos de oxidación-reducción y para los que utilizó diferentes cultivos de bacterias (Cohen, 1931). Después del crecimiento a 30°C por uno o dos días en un caldo de carne con extracto de peptona-fosfato a un pH de 7 de obtuvieron los siguientes potenciales (Tabla 4.2):

Tabla 4.2 Bacterias utilizadas por Cohen y sus potenciales (Cohen, 1931)

<i>Bact. dysenteriae</i>	0.15 a 0.30 V
<i>C. diphtheriae</i>	0.25 a 0.30 V
<i>B. coli</i>	0.35 a 0.45 V
<i>B.subtilis</i>	0.50 a 0.60 V
<i>Proteus vulgaris</i>	0.50 a 0.90 V

Mientras dura el proceso de conversión de energía, el cultivo bacteriano hasta cierto punto, podría considerarse como una media-celda (cámara anódica) eléctrica y de un modo concebible ser capaz de realizar trabajo. Su más grande deficiencia, sin embargo, es el hecho que la corriente de salida fue demasiado baja (10^{-5} a 10^{-6} A) y ésta se descargaba muy rápido.

La baja capacidad de la media-celda (cámara anódica) bacteriana es atribuida al hecho de que está pobremente equilibrada en cualquier momento con respecto a los productos de oxidación-reducción. Se encontró que esta situación pudo ser en parte por el incremento de la concentración de ingredientes orgánicos en el medio y la prevención en el acceso de aire. Este problema se resolvió con la introducción al medio de sustancias orgánicas o inorgánicas como el ferrocianuro de potasio o benzoquinona para equilibrar el medio. Con esto se logró construir una batería bacteriana que suministró corriente de 2 mA a 35V.

4.2 Avances de las CMB

El interés por este tipo de celdas resurgió en la década de 1960 y debido a que en la actualidad existen celdas con diferentes características, a continuación se presenta una clasificación de las CMB.

Esta clasificación describe tres generaciones de CMB desarrolladas, que no sólo se distinguen históricamente, sino que también se distinguen en la forma en que funcionan (Ieropoulos y col., 2004). La primera generación CMB requiere de mediadores exógenos como el azul de metileno o rojo neutro, que necesitan reponerse y pueden ser tóxicos. La segunda generación de CMB también depende de mediadores, sólo que en este caso el mediador es un metabolito electroactivo que emplean los microorganismos. El metabolito es producido a partir de sulfato que se puede reponer y

se utiliza como aceptor final de electrones. La tercera generación CMB son sistemas que no utilizan mediadores, puesto que los microorganismos utilizados son *anodófilos*, lo que significa que utilizan al ánodo como aceptor final de electrones. La segunda y tercera generación se refieren a los trabajos posteriores para mejorar el rendimiento del sistema mediante la explotación de la actividad metabólica de los microorganismos que se alimentan de diferentes sustratos (sulfato, acetato, glucosa).

4.2.1 CMB de primera generación

La potencia de salida de estos dispositivos depende, entre otros factores, del tamaño y volumen de la celda, así como de la superficie y el material de los electrodos. El voltaje promedio de circuito abierto de estos dispositivos es de 0.7V y la densidad de corriente promedio es de aproximadamente 0.15mA/cm². La primera generación (al igual que la segunda) emplea moléculas mediadoras, que enlazan a la célula microbiana con el electrodo (ánodo). Estos mediadores "entran" en la célula en su forma oxidada y después se reducen, es decir, ganan un electrón. La forma reducida luego hace su camino hacia el ánodo, en donde libera el electrón (oxidación) y el ciclo continúa. Los mediadores son sustancias químicas, que deben ser preparadas de forma manual y añadirse a la celda, ya que las bacterias de la primera generación no los pueden producir. Después de estar de tres a cuatro semanas en un sistema cerrado, estos mediadores se degradan y tienen que ser reemplazados. La intercepción entre la molécula mediador y el electrón se realiza ya sea con la NADH, (nicotinamida adenina dinucleótido), o en un estado más bajo (citocromo c). La NADH (forma reducida) es un transportador de electrones en el ciclo catabólico de las bacterias y actúa como una fuente de energía biológica. El contacto directo entre las células de la bacteria y la superficie del electrodo es también de gran importancia ya que entre menor sea la distancia entre los dos, menor será la resistencia óhmica en la transferencia de electrones. Una amplia gama de mediadores han sido probados por muchos investigadores en el mundo, a pesar que la transferencia directa de electrones sin el uso de los mediadores ha sido descrita previamente.

4.2.2 CMB de segunda generación

En la segunda generación, el mediador (sulfuro – H₂S) es producido por la reducción de sulfato (SO₄) por el microorganismo. Esto resulta en un mecanismo químico completamente diferente y mucho más eficiente. El principio básico de operación es más o menos el mismo que con la primera generación, excepto que en este caso el mediador es un metabolito electroactivo de los microorganismos. Ésto significa que se trata de un sistema más favorable para ser integrado con un agente autónomo, puesto que no hay necesidad de introducir manualmente algún químico, además de la fuente de energía que podría ser un sustrato rico en SO₄.

Durante muchos años una serie de microorganismos han sido conocidos por su capacidad de reducir sulfato. Uno de ellos es *Desulfovibrio desulfuricans*, un microorganismo marino anaerobio. *Desulfovibrio desulfuricans* tiene la capacidad de utilizar al sulfato como aceptor terminal y al hacerlo, reduce el sulfato en sulfuro (H₂S). El H₂S es electroactivo, lo que significa que dona sus electrones al oxidante con el potencial redox más positivo. En ausencia de oxígeno, el oxidante

siguiente más positivo es el ánodo. Por lo tanto el sulfuro ofrece los medios para que los electrones fluyan y se complete un ciclo entre la célula de la bacteria y la superficie del electrodo. Las reacciones redox que tienen lugar en la CMB se muestran en la Figura 4.6.

En un diseño especial, Habermann y Pommer (1991) emplearon un cultivo mixto de microorganismos para un funcionamiento más eficiente. *D. desulfuricans*, que es la bacteria dominante del consorcio microbiano, es estrictamente anaerobia y necesita lactato para metabolizar y producir sulfuro. Por lo tanto, el lactato (ácido láctico) es producido por microorganismos tales como *E. coli* y *Proteus vulgaris*, los cuales se añadieron en el anolito para producir el metabolito químico que es necesario para la sobrevivencia de los *D. desulfuricans* y también para consumir el oxígeno presente. *Pseudomonas aeruginosa* y *P. fluorescens* utilizan acetato de manera eficiente y se añadieron en el consorcio para la utilización de este producto de desecho y de O_2 . De esta manera, los únicos subproductos son H_2O_2 , CO_2 y S_2O_3 , que también puede ser reducido a sulfuro.

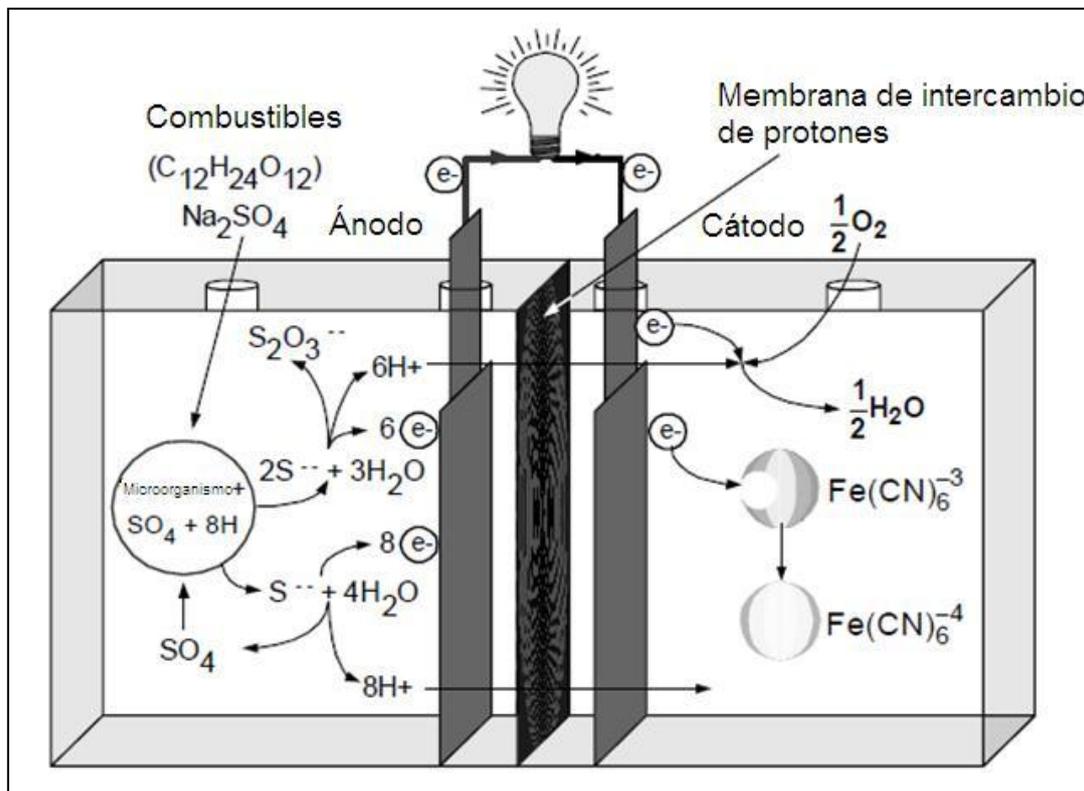


Figura 4.6 Reacciones redox que se llevan a cabo en la CMB (Ieropoulos y col., 2004)

4.2.3 CMB de tercera generación

La tercera generación de CMB emplean al microorganismo anaerobio *Geobacter sulfurreducens*, el cual dona fácilmente sus electrones a la superficie del electrodo (Habermann y Pommer, 1991). Estos microorganismos tienen la capacidad de fijarse en la superficie del electrodo formando una biopelícula. Todas las otras células en la vecindad no se fijarán hasta que encuentren una superficie de oxidación. Una vez que la biopelícula se forma, el electrodo se convierte entonces en su oxidante

natural, al que los microorganismos fácilmente liberarán sus electrones. Es importante destacar que este sistema funciona sin el uso de mediadores artificiales o naturales, por lo que es atractivo para aplicaciones autónomas. Además la tercera generación tiene dos ventajas importantes. En primer lugar, el contacto físico y bioquímico entre los microorganismos y la superficie del electrodo cuando se forma la biopelícula, ya que permite que la resistencia óhmica del flujo de electrones sea mínima, por lo tanto, la eficiencia es mayor. En segundo lugar, esta bacteria puede utilizar los desechos metabólicos, tales como acetato producido por otros microorganismos.

4.2.4 CMB desarrolladas desde 1994

Las Tablas 4.3 y 4.4 resumen las CMB publicadas en la literatura desde 1994 (Bullen y col., 2006). La Tabla 4.3 presenta las CMB que son alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa. En la Tabla 4.4 se muestran las CMB alimentadas por la oxidación de otros químicos.

4.3 Investigación en México

En México existen dos equipos de investigación que están experimentando con CMB. Los trabajos presentados a continuación no son los únicos realizados en México, pero si son los más representativos. El primer trabajo que se presenta (Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP) lo realizó el equipo de investigación encabezado por la Dra. Liliana Alzate-Gaviria en el centro de Investigación Científica de Yucatán (Alzate-Gaviria y col., 2008). El segundo en presentarse (Caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados) estuvo a cargo del Dr. Alessandro Carmona-Martínez y se realizó en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N (Carmona-Martínez y col., 2006). Los dos trabajos contaron con apoyo económico proporcionado por el CONACYT.

4.3.1 Generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo MIP

4.3.1.1 Microorganismos y sustrato

Los biocatalizadores empleados en la generación de energía se obtuvieron a partir de un inóculo mixto entérico previamente estabilizado en un reactor anaerobio de lecho de lodos (RALL) ubicado en el laboratorio del Centro de Investigación en Energía (CIE-UNAM, Morelos, México) siguiendo el procedimiento que detalla Alzate y col. (2007).

La fuente de sustrato fue agua residual sintética (ARS) cuya fuente de carbono fue glucosa grado reactivo marca Sigma (Poggi y col., 2005). El ARS tuvo un pH entre 5 y 6, y la siguiente composición (por litro): 4g de glucosa; 310mg de NH_4Cl ; 130mg de KCl ; 4.97g de NaH_2PO_4 y 2.75g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$ (Lovley y Philips, 1998).

Tabla 4.3 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente (μA cm ⁻²)	Densidad de potencia (μW cm ⁻²)	Referencia
TEM Glucosa/ferrocianuro (en cátodo CVR (carbón vítreo reticulado)) u O ₂ (en cátodo PCP, papel carbón platinizado)	<i>Proteus vulgaris</i> inmovilizados en la superficie del ánodo por un enlace amida, anaerobio	Ánodo de 1 g (49.5), CVR (no disponible) o cátodo PCP (20.25)	50 mmol dm ⁻³ de mediador difuso HNQ, buffer de fosfato/potasio a pH 7.0 en el ánodo. Buffer con 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro de potasio o buffer con 500 mmol dm ⁻³ de fosfato en el cátodo.	0.7 con cátodo de aire	8.1	3.2	Allen y Bennetto, 1993
TEM (varios) Azúcar/ferrocianuro	<i>Proteus vulgaris</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo CVR (30.4), cátodo de platino (16)	37 °C, mediador difuso: tionina, pH 7.0	No disponible	13.8	5.8	Kim y col., 2000
TEM (varios) Azúcar/ferrocianuro	<i>Proteus vulgaris</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo CVR (30.4), cátodo de platino (16)	Mediador difuso: tionina, buffer de fosfato, pH 7.0. 0.1 mol dm ⁻³ de ferrocianuro en el catolito	0.52 (con 1μA)	13.2	5.26	Kim y col., 2000
TEM Glucosa/ferrocianuro	<i>E. coli</i> suspendidos, ó <i>A. succinogenes</i> ó cultivos mixtos de aguas residuales, anaerobio	Anodo de 12 g de fieltro de grafito tejido, Cátodo de 12 g de fieltro de grafito tejido. (no disponible)	Glucosa, 100 μmol dm ⁻³ de rojo neutro (RN) o 300 μmol dm ⁻³ de mediador tionina, buffer con 50 mmol dm ⁻³ de fosfato en el ánodo, pH 7.0. buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato y 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro en el cátodo	0.85	8.5	5.3	Park y Zeikus., 2000
TDE Glucosa/ferrocianuro	<i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>ferrireducens</i> , anaerobio	Electrodos: varilla de grafito (0.65) ó fieltro (2.0)	10 mmol dm ⁻³ de solución de glucosa en el ánodo, ferrocianuro de potasio en el cátodo. No se da más información	No disponible	3.1 con resistencia externa de 1000 Ω	No disponible	Chaudhuri y Lovley., 2003
TEM Glucosa/O ₂	<i>E. coli</i> suspendidos ó cultivos de aguas residuales, anaerobio	Grafito tejido, RN- grafito tejido (80) ó ánodo de Mn ⁴⁺ - grafito (80), Grafito tejido ó cátodo de Fe ³⁺ -grafito (80)	Buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, 10 g dm ⁻³ de lactato de sodio, 5 g dm ⁻³ peptona y 5 g dm ⁻³ de extracto de levadura. pH 7.0	No disponible	109 (RN (rojo neutro)- tejido/Fe ³⁺), 175 (Mn ⁴⁺ /Fe ³⁺)	84.5 (RN (rojo neutro)- tejido/Fe ³⁺) 78.8 Mn ⁴⁺ /Fe ³⁺	Park y Zeikus., 2003

Continuación Tabla 4.3 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas principalmente por la oxidación de la glucosa

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente (μA cm ⁻²)	Densidad de potencia (μW cm ⁻²)	Referencia
TEM y TDE Glucosa/oxígeno	Cultivos mixtos derivados de lodo metanogénico anaerobio, algunos experimentos con cultivos purificados aislados, anaerobio	Electrodos de placas de grafito (50)	Caldo nutritivo en el ánodo, 0.5–5 g dm ⁻³ day ⁻¹ de glucosa, purga de nitrógeno, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de hexaferrocianuro de potasio, aireación continua en el cátodo	No disponible	No disponible	360	Rabaey y col., 2003
TDE Glucosa/ferrocianuro	<i>E. coli</i> suspendidos, anaerobio	Tejido de grafito (7.5) platinizado modificado con poli(tetrafluoroanilina) como ánodo, tejido de grafito no modificado como cátodo (7.5)	10 g dm ⁻³ de glucosa, 5 g dm ⁻³ de extracto de levadura, 10 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 8.5 g dm ⁻³ de NaH ₂ PO ₄ en el ánodo, 50 mmol dm ⁻³ de solución de ferrocianuro, 10 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 8.5 g dm ⁻³ de NaH ₂ PO ₄ en el cátodo	0.895	2,600	1,200	Schroder y col., 2003
Celda de tipo de producto usando almidón, glucosa o melaza para generar H ₂ /ferrocianuro	<i>Clostridium butyricum</i> ó <i>Clostridium beijerinckii</i>	Tejido de grafito (7.5) platinizado modificado con poli(tetrafluoroanilina) como ánodo, tejido de grafito no modificado como cátodo (7.5)	10 g dm ⁻³ de sustrato, 5 g dm ⁻³ , de extracto de levadura, 10 g dm ⁻³ de peptona, 0.5 g dm ⁻³ l-cisteina-HCl, 8 mg dm ⁻³ de CaCl ₂ , 8 mg dm ⁻³ de MgSO ₄ , 40 mg dm ⁻³ de KHSO ₄ , 80 mg dm ⁻³ de NaCl, 0.4 g dm ⁻³ de NaHCO ₃ y 1 mg dm ⁻³ de resazurina purga de nitrógeno en el ánodo. 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro en un buffer de fosfato a pH 7.0 en el cátodo	0.759	5,070	400 (a 0.473 V)	Niessen y col., 2004
TEM y TDE Glucosa/ferrocianuro	Cultivos mixtos derivados de lodo metanogénico, algunos experimentos con cultivos purificados aislados, anaerobio	Electrodos de placas de grafito (50)	Anolito (caldo nutritivo) con alimentación de glucosa a 1 g dm ⁻³ día ⁻¹ . Catolito de 50 mmol dm ⁻³ de ferrocianuro de potasio en buffer con 100 mmol dm ⁻³ de potasio/sodio/ fosfato, pH 7.0	No disponible	No disponible	431 (máximo a 0.66 V)	Rabaey y col., 2004

Tabla 4.4 Investigaciones realizadas con CMB alimentadas por la oxidación de otros químicos

Sistema (oxidación/reducción)	Organismo	Electrodos (cm ²)	Electrolito	Voltaje circuito abierto (V)	Densidad de corriente ($\mu\text{A cm}^{-2}$)	Densidad de potencia ($\mu\text{W cm}^{-2}$)	Referencia
TEM Lactato/piruvato	<i>Desulphovibrio desulphuricans</i> , anaerobio	Ánodo de carbón activado	Mediador sulfato/sulfuro, pH 7.8	No disponible	1,980	No disponible	Cooney y col., 1996
TDE Lactato (también piruvato y formiato)/ferrocianuro	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo de fieltro de carbón (9.3), cátodo CVR (21.6)	Buffer con 0.05 mol dm ⁻³ de fosfato y 0.1 mol dm ⁻³ de NaCl, pH 7.0.	No disponible	0.645	No disponible	Kim y col., 1999
TEM Acetato/ O ₂	<i>E. coli</i> suspendidos, anaerobio	Ánodo RN (rojo neutro) -grafito modificado (118), cátodo de grafito (118)	80 mmol dm ⁻³ de acetato, 1 g dm ⁻³ de KH ₂ PO ₄ , extracto de levadura, peptona, NH ₄ Cl y CaCl ₂ respectivamente, 2 g dm ⁻³ de NaCl en el ánodo. 1 mol dm ⁻³ de KCl en el cátodo	No disponible	3.1	1.14	Park y col., 2000
TDE Lactato/ O ₂	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos y <i>E. coli</i> (TEM), anaerobio	Electrodos de fieltro de carbón (56)	Buffer con 50 mmol dm ⁻³ de Na-fosfato, pH 7.0, 0.1 mol dm ⁻³ de NaCl. Para algunos experimentos con <i>E. coli</i> , el ánodo contenía 25 mmol dm ⁻³ de azul de metileno	0.5 (0.52 con <i>E. coli</i> + mediador)	0.71 (estabilizado a 0.43 después de 6 días)	0.02 (0.01 después de 6 días)	Kim y col., 2002a
TDE/TEM Sedimento marino/ agua marina	Diversas bacterias	Discos de grafito perforados (1,830)	Agua de mar. Ánodo situado a 15 cm debajo de la superficie, cátodo situado a 15 cm por encima de la superficie del sedimento.	0.75	7	3.2	Tender y col., 2002
TEM Lactato (también piruvato, acetato y glucosa)/ O ₂	<i>Shewanella putrefaciens</i> suspendidos, anaerobio	Grafito tejido, RN- grafito tejido, ánodo de grafito con Mn ⁴ (80), cátodo de grafito modificado con Fe ³⁺ (50)	100 ó 200 mmol dm ⁻³ de lactato, buffer con 100 mmol dm ⁻³ de fosfato, 1 g dm ⁻³ de extracto de levadura, peptona y NH ₄ Cl respectivamente, pH 7.0	0.6	3.75	0.94	Park y Zeikus, 2002

4.3.1.2 CMB

Se construyó una CMB de vidrio con volumen útil de trabajo, tanto del ánodo como del cátodo, de 350ml. El compartimiento del ánodo fue burbujeadado con N_2 para desplazar el O_2 presente previo al cierre del ánodo. El electrodo empleado fue papel carbón sin tratar distribuido por Fuelcell (Toray carbón paper).

La celda tipo MIP (celda con membrana de intercambio de protones) constó de dos compartimientos, uno del ánodo y otro del cátodo, unidos por una membrana intercambiadora de protones NafionR 117, película de $183\mu m$ reforzada a base de un copolímero de PTFE (teflón/ácido perfluorosulfónico). Su estructura molecular posibilita que absorba agua y una vez húmedo, conduce selectivamente iones de carga positiva, bloqueando los de carga negativa. Esta característica es asociada con la inactividad química, resistencia mecánica y estabilidad conocidas de las resinas Teflon (Fuelcell Internacional, EEUU). La membrana fue activada antes de usarla con $H_2SO_4 1N$ a $45^\circ C$ por 24h (Kim y col., 2005).

En el compartimiento del cátodo se empleó un catolito acuoso con burbujeo de aire para utilización del O_2 y como electrodo papel carbón sin tratar con Pt ($0.5\text{ mg de Pt } 10\% \text{ por cm}^2$), mientras que en el ánodo se utilizó un inóculo mixto de tipo floculento anteriormente seleccionado y estabilizado. A este último electrodo no se le aplicó ningún catalizador, ya que esa función la llevaron a cabo los microorganismos contenidos en dicho inóculo. Los electrodos de papel carbón empleados en cada compartimiento fueron de $1.7 \times 1.6\text{ cm}$, con un área de 2.72 cm^2 .

El arranque de la CMB consistió en colonizar el electrodo con el consorcio microbiano contenido en el inóculo, con el propósito de formar una biopelícula; es decir, una comunidad compleja de microorganismos que se adhieren al electrodo y producen un polímero celular como recubrimiento que les ayuda a retener el alimento y a protegerse de agentes tóxicos, para finalmente producir electricidad.

Durante este proceso se realizaron tres transferencias secuenciales de inóculo hasta obtener una respuesta electroquímica de voltaje constante; además, el patrón del voltaje se reprodujo a la tercera adición del inóculo mixto en el ánodo. Es de notar que para el cambio del inóculo no se tuvo condiciones estrictas anaerobias. Los experimentos se efectuaron a temperaturas mesofílicas, colocando la celda en un baño termostático.

Para el circuito de la celda tipo MIP se emplearon dos resistencias externas, una de $1000\ \Omega$ durante un periodo de 102 días y una segunda de $600\ \Omega$ durante los días restantes. Basados en previas experimentaciones (Liu y col., 2004; Logan, 2004) se operó la CMB por un periodo no superior a 155 días, sin incluir el arranque. Los cambios que ocurrieron en la comunidad microbiana durante este tiempo fueron monitoreados mediante métodos electroquímicos.

4.3.1.3 Análisis

El electrodo se monitoreó realizando mediciones de ácidos grasos volátiles por titulación, potencial de hidrógeno (pH), temperatura y demanda química de oxígeno soluble (DQOs) en la corriente líquida. Dichos parámetros fueron determinados de acuerdo al APHA (1998). Finalmente, las mediciones de corriente y voltaje se realizaron mediante un multímetro.

4.3.1.4 Aclimatación de la celda

Cuando la CMB fue inoculada con el cultivo bacteriano de tipo entérico hubo una fase de latencia de 30h seguida de un rápido incremento en el voltaje en las siguientes 40h, alcanzando un voltaje de 0.4V (Figura 4.7). Posteriormente el voltaje disminuyó gradualmente a medida que la materia orgánica contenida en el inóculo fue consumida. Al adicionar la tercera transferencia de inóculo a la CMB el comportamiento tiende a ser similar, produciéndose un intervalo de estabilidad de $0.37 \pm 0.03V$, constituyendo la última etapa en el patrón de crecimiento bacteriano. Una vez que el sustrato fue consumido cesó el crecimiento y ocurrió muerte celular, viéndose afectada la generación de voltaje.

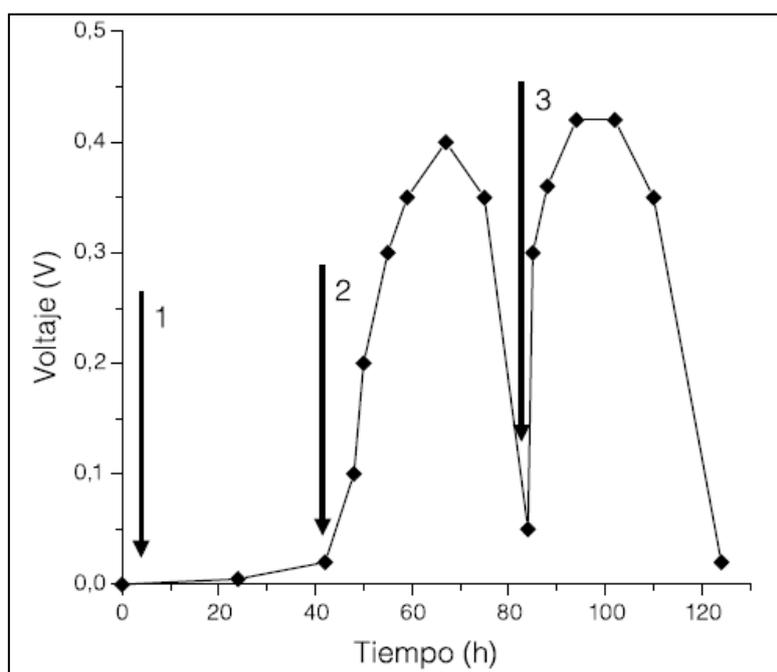


Figura 4.7 Aclimatación de la CMB con tres aplicaciones sucesivas de inóculo (Alzate-Gaviria y col., 2008)

Después de 120h de operación se reemplazó parte del inóculo por ARS, conservando únicamente 10% del inóculo. Se observó que se generó inmediatamente electricidad en la CMB previamente inoculada (Figura 4.8), alcanzando un voltaje máximo de 1.05V y manteniéndose en un intervalo de $0.90 \pm 0.1V$ en las siguientes 55h.

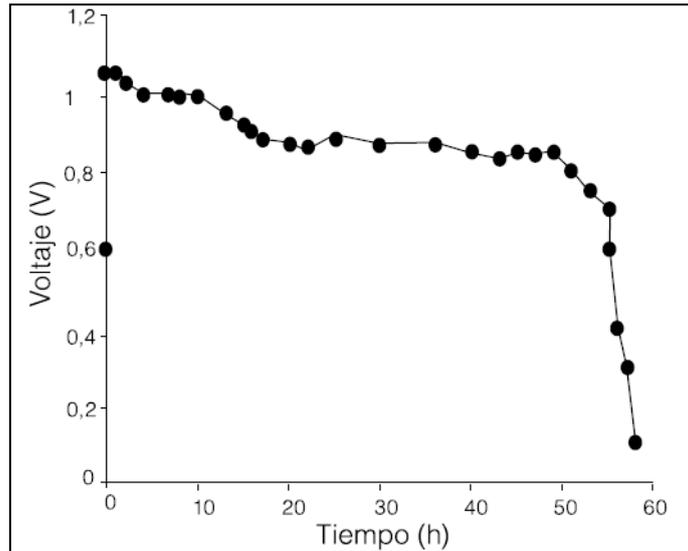


Figura 4.8 Generación de voltaje a partir de glucosa como sustrato (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.5 Efecto de la concentración del sustrato

La producción de voltaje en la CMB (Figura 4.9) siguió una cinética de saturación; es decir, de utilización del sustrato en sistemas biológicos en función de la concentración y la velocidad de transporte (Liu y Logan, 2004). Como se puede observar en la figura, el voltaje se incrementó a medida que la concentración de glucosa aumentó, manteniéndose constante a partir de una concentración de 1000ppm en $1.15 \pm 0.05V$. Así, el máximo radio de utilización del sustrato ocurre en altas concentraciones del mismo (Metcalf y Eddy, 2003).

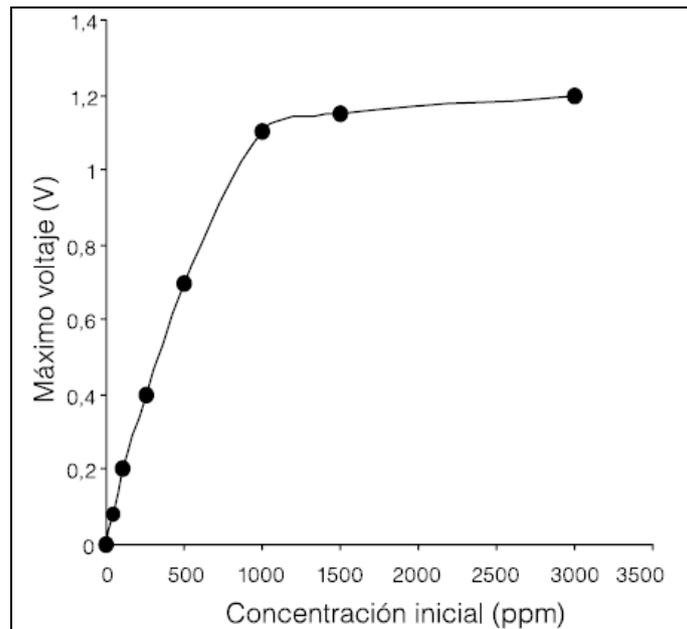


Figura 4.9 Voltaje máximo obtenido a partir de la concentración de glucosa (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.6 Generación de electricidad en medición continua

En esta etapa se monitoreó la generación de electricidad durante un periodo de 130 días. En la Figura 4.10 se observa que con una resistencia de $1000\ \Omega$, el voltaje se mantuvo en $0.88 \pm 0.17\text{V}$ durante los primeros 102 días, mientras que la generación de corriente osciló en un intervalo de $80 \pm 20\ \mu\text{A}$. Después de 102 días se empleó una resistencia de $600\ \Omega$, registrándose valores de $0.91 \pm 0.08\text{V}$, en tanto que la corriente se incrementó rápidamente hasta alcanzar un máximo de $170 \pm 18\ \mu\text{A}$. Con las dos resistencias utilizadas se comprobó, como se esperaba, que con una resistencia menor se registra una mayor corriente. Ésto se debe a que con bajas resistencias, los electrones se mueven más fácilmente a través del circuito. A mayor oxidación del combustible por los microorganismos se espera altos índices de oxidación de los transportadores de electrones en el cultivo a bajas resistencias. Adicionalmente, una CMB puede ponerse en marcha a bajas resistencias para remover contaminantes de altos índices orgánicos (Jang y col., 2004).

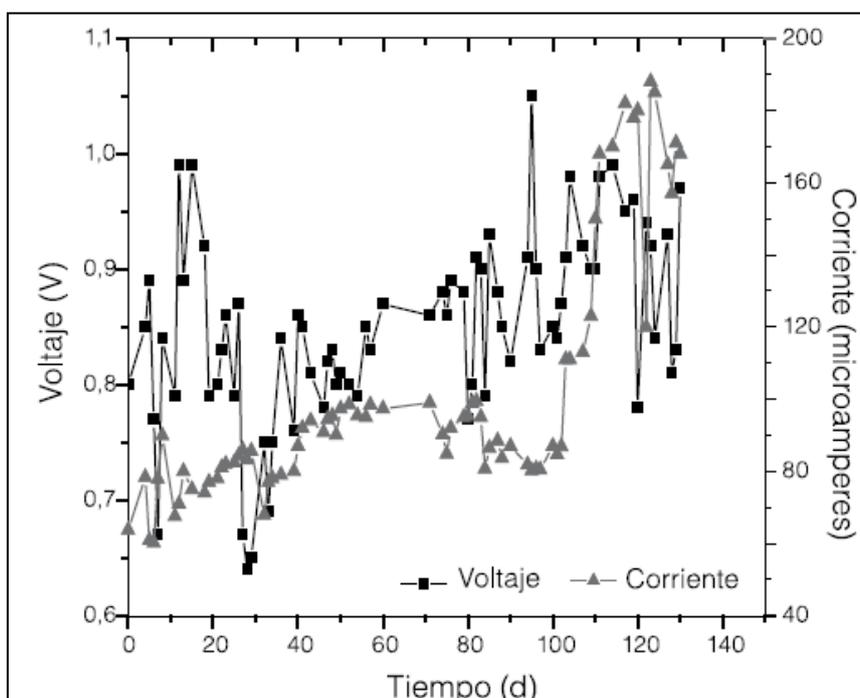


Figura 4.10 Generación de electricidad en la etapa de medición continua, utilizando resistencias externas de 100 y $600\ \Omega$ (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.7 Generación de potencia en la CMB

La densidad de potencia generada por la CMB se mide en mW/m^2 , y para los cálculos se emplea la ecuación de la potencia. La producción de la densidad de potencia se muestra en la Figura 4.11. Al emplear una resistencia de $1000\ \Omega$, la máxima potencia generada fue de $335\ \text{mW}/\text{m}^2$ ($263 \pm 72\ \text{mW}/\text{m}^2$) con un voltaje de 1.05V . Cuando se utilizó una resistencia de $600\ \Omega$ se obtuvo una máxima densidad de potencia de $640\ \text{mW}/\text{m}^2$ ($515 \pm 125\ \text{mW}/\text{m}^2$) con 0.99V , es decir, la potencia fue

cerca del 50% mayor que la obtenida con una resistencia de 1000 Ω . De igual forma, la remoción de materia orgánica expresada en DQO fue de 65 y 82% con 1000 y 600 Ω respectivamente.

Los resultados muestran que operar con resistencias externas más bajas aumenta la producción de densidad de potencia y conlleva una mayor remoción de materia orgánica (Jang y col., 2004). Los valores obtenidos se encuentran en un intervalo medio alto con respecto a otros trabajos reportados en la literatura.

El sistema CMB empleó un catolito acuoso para proveer O_2 disuelto al electrodo, sin emplear mediadores externos. Los consorcios microbianos generan mayor densidad de potencia que los cultivos puros (Rabaey y Verstraete, 2005; Pham y col., 2006; Rittmann, 2006).

La densidad de potencia más alta que reporta la literatura es de 3600 mW/m^2 en el estudio de Rabaey y col. (2003) donde utilizaron glucosa como sustrato y hexaferrocianuro de potasio para optimizar el rendimiento del cátodo. El ferrocianuro es muy popular como aceptor de electrones en experimentos con CMB y pueden alcanzarse voltajes mayores que utilizando O_2 . La gran ventaja del ferrocianuro es el bajo sobrepotencial utilizando cátodos de carbón plano; sin embargo, la generación de potencia con ferrocianuro no es sustentable debido a la insuficiente reoxidación por O_2 , lo cual requiere que el catolito sea remplazado regularmente. Además, largos términos de desempeño del sistema pueden ser afectados por la difusión de ferrocianuro a la cámara del ánodo (Logan y Regan, 2006a).

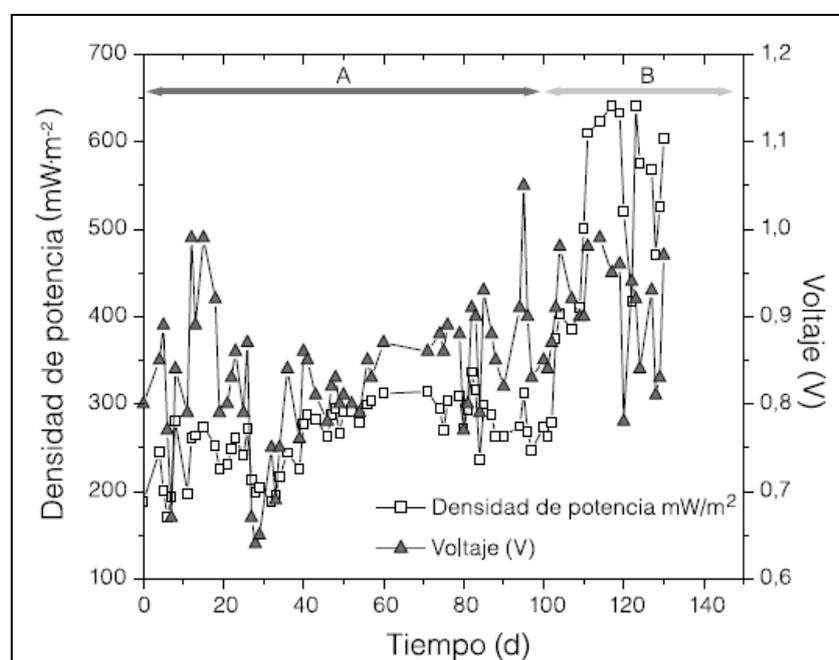


Figura 4.11 Generación de potencia en la CMB, empleando una resistencia de 1000 Ω (A) y una resistencia de 600 Ω (B) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.8 Influencia del pH

Otro parámetro importante en el desempeño de la CMB es el pH del compartimiento anódico. Durante la experimentación de la CMB se mantuvo el pH del anolito en 5.95 ± 0.75 . La Figura 4.12a muestra la relación entre la producción de potencia de la CMB y el pH. Como puede apreciarse, las más altas densidades de potencia ocurrieron en valores de pH entre 5.5 y 6.0 obteniéndose resultados que oscilaron entre 280 y 335 mW/m² para el caso de 1000 Ω (Figura 4.12b). La densidad de potencia disminuyó ligeramente a medida que el pH aumentó hasta 6.8; sin embargo, cuando el pH fue >7.0 , la densidad de potencia registrada se redujo, manteniéndose en 225 ± 45 mW/m². Estos últimos resultados demostraron que es recomendable operar la CMB a un pH entre 5.5 y 6. En las mediciones efectuadas empleando una resistencia de 600 Ω (Figura 4.12b), se alcanzó a pH entre 5.8 y 6.3 una densidad de potencia máxima de 640 mW/m².

Las condiciones de pH son un factor clave en el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de las bacterias entéricas no toleran niveles de pH arriba de 7.5 o debajo de 4.0. Además, valores de pH por debajo de 6.8 inhiben la actividad metanogénica (Metcalf y Eddy, 2003).

Para este proceso se requirió que durante el metabolismo de fermentación anaerobia se inhibieran algunos microorganismos, como los homoacetogénicos los cuales requieren H₂ para la producción de acetato y los metanogénicos que utilizan el H₂ para la producción de metano. Es por ello que la operación de los sistemas se realiza a bajos niveles de pH (Angenent y col., 2004).

4.3.1.9 Efecto de la temperatura en el rendimiento de la CMB

La CMB operó bajo temperatura mesofílica de $35 \pm 5^\circ\text{C}$ los primeros 102 días. Durante este periodo la máxima densidad de potencia que se alcanzó fue de $30 \pm 6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($336 \text{ mW}/\text{m}^2$) empleando 1000 Ω a 37°C (Figura 4.13). Los siguientes días se mantuvo una temperatura constante de 40°C , obteniéndose una densidad de potencia máxima de $61 \pm 7 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ($640 \text{ mW}/\text{m}^2$) con 600 Ω . Bajo este último esquema se aumentó la temperatura en 5°C , obteniendo $63 \pm 5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$; observándose que al incrementar la temperatura a 45°C no se registran incrementos substanciales en la densidad de potencia, puesto que el resultado obtenido es muy similar al que se alcanzó a una temperatura de operación de 40°C (Figura 4.13). Estos resultados reflejan la gran influencia de la resistencia externa utilizada, aunada a una temperatura óptima de operación (Rozendal y col., 2006).

Una ventaja importante de las CMB es que pueden producir electricidad a partir de materia orgánica, operando a temperaturas moderadas, como son $20\text{-}40^\circ\text{C}$ (Min y Logan, 2004; Niessen y col., 2004; Oh y col., 2004; Kim y col., 2005; Liu y col., 2005a; Aelterman y col., 2006a; Cheng y col., 2006b; Zhao y col., 2006; Logan y col., 2007; Oh y Logan, 2007).

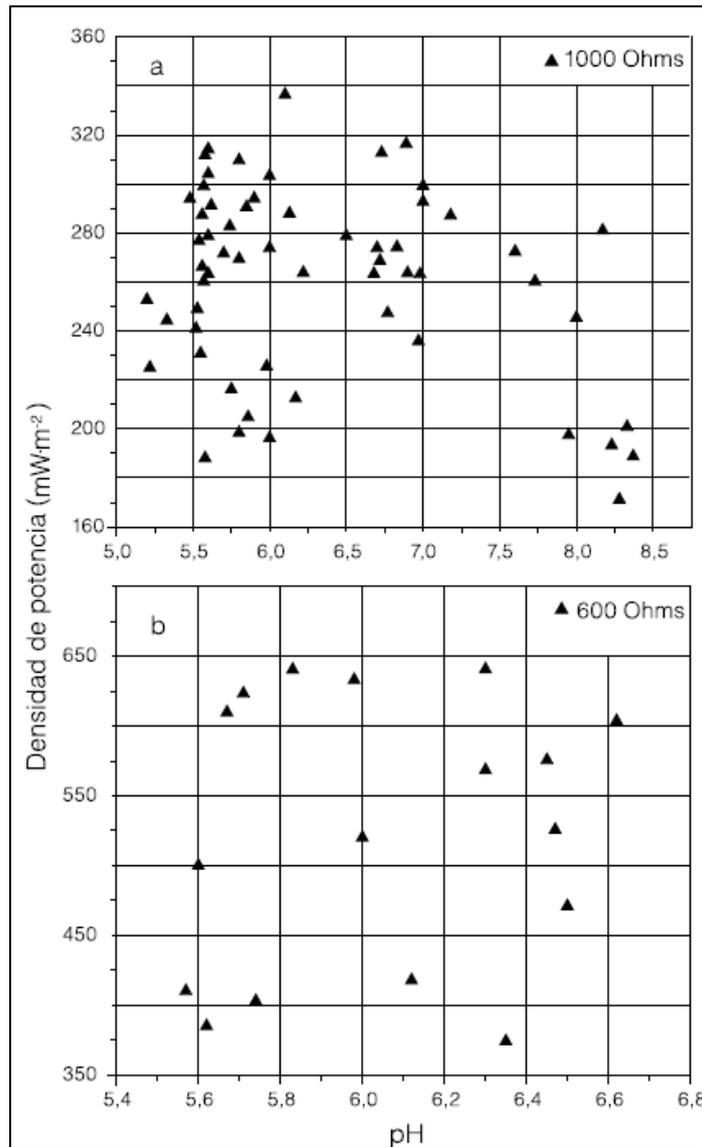


Figura 4.12 Efecto del pH en la densidad de potencia, con una resistencia de 1000 Ω (a) y una resistencia de 600 Ω (b) (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.1.10 Eficiencia obtenida en una CMB

La eficiencia de corriente se determina con base a la eficiencia coulombica (EC), la cual se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera como electricidad:

$$E = \frac{C_p}{C_{ti}} \times 100 \quad (4-1)$$

Para determinar C_p se utiliza la grafica de la corriente en función del tiempo de operación de la CMB. Al integrar el área bajo la curva desde ($t=0$ hasta 130 días) se obtiene la carga total (q) en coulombs, que fue $C_p = 12367,23$ (Figura 4.14). El sustrato empleado fue glucosa. Para el cálculo de

la cantidad teórica de coulombs que pueden ser producidos por la glucosa se emplea la ecuación anteriormente descrita (Liu y col., 2005b) para C_{ti} ,

$$C_{ti} = \left[\frac{F \times b \times S \times v}{M} \right] \quad (4-2)$$

donde

F: Constante de Faraday (98485 C/mol de electrones)

b: Numero moles de electrones producidos por mol de sustrato (para glucosa como sustrato $b=24$)

S: Concentración del sustrato (g/l)

v: Volumen del líquido

M: Peso molecular del sustrato (glucosa, 180)

De esa manera se obtiene $C_{ti}=20,681.85$. Por su parte, la eficiencia coulombica de la CMB es

$$EC = \left[\frac{12,367.23}{20,681.85} \right] \times 100 = 59.79\% \quad (4-3)$$

Las EC calculadas para celdas de combustibles microbianas que registra la literatura varían pero, en general, incrementan con la densidad de potencia porque hay menos tiempo para que se pierda sustrato durante la competencia en procesos físicos y biológicos (Logan y Regan, 2006b).

En este estudio se obtuvo una EC del 59.79%. Por ejemplo, con acetato se obtuvieron eficiencias de 65% (Min y Logan, 2004) y 63-78% (Oh y col., 2004). Con glucosa, las EC fueron de 89% empleando hexacianoferrato de potasio en su cátodo (Rabaey y col., 2003), mientras que Liu y Logan (2004) obtuvieron 40-55% empleando una MIP y 9-12% sin el uso de membrana, pero utilizando un cátodo de aire, observándose que la mayor desventaja de este sistema fue la pérdida de sustrato debido a la oxidación aerobia en el ánodo, es decir, en la ausencia de una MIP existe una mayor difusión de O_2 de la cámara del cátodo al ánodo. Con aguas residuales las EC fueron de 3-12% (Liu y col., 2004), con proteínas la eficiencia fue de 6% (Heilman y Logan, 2006) y, finalmente, empleando lactato y ferrocianuro de potasio la eficiencia fue de 2.4% (Ringeisen y col., 2006).

4.3.1.11 Conclusiones

- Un dispositivo de celda de combustible microbiana tipo MIP puede generar electricidad y a la vez depurar agua residual, lo que lo hace atractivo para tratamientos *in situ* o para la modificación de las actuales plantas de tratamiento convencionales.
- Un aspecto a mejorar en futuros estudios es aumentar el área del ánodo para compensar las pérdidas por muerte y espacio ocupado por otras bacterias no generadoras de electricidad en la biopelícula.
- La eficiencia coulombica en un electrodo acuoso se puede mejorar empleando para el circuito una menor resistencia.

- Se demostró como teniendo un aceptor de electrones externo la presencia de conductividad es inminente en el anolito de la CMB.

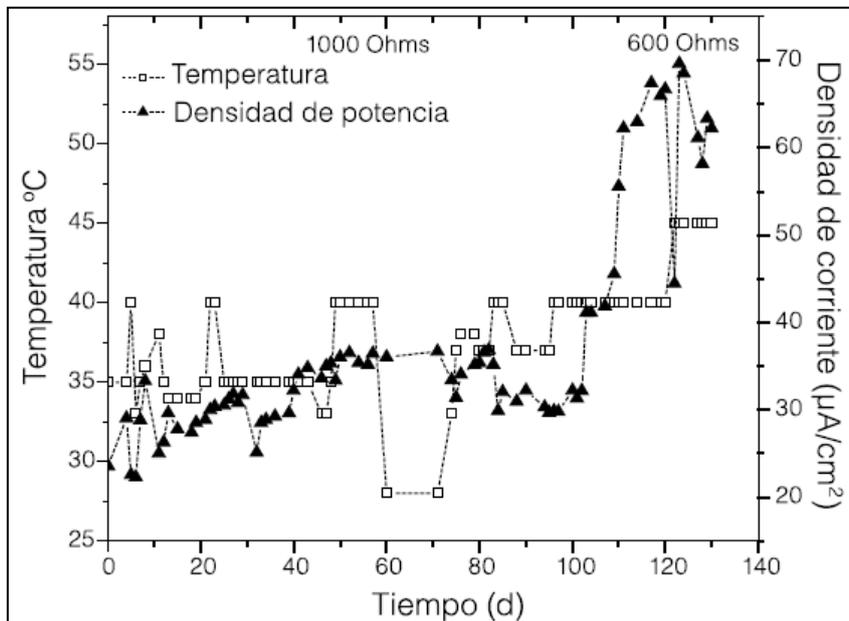


Figura 4.13 Relación de la temperatura de operación sobre la densidad de corriente, utilizando 100 y 600 Ω (Alzate-Gaviria y col., 2008)

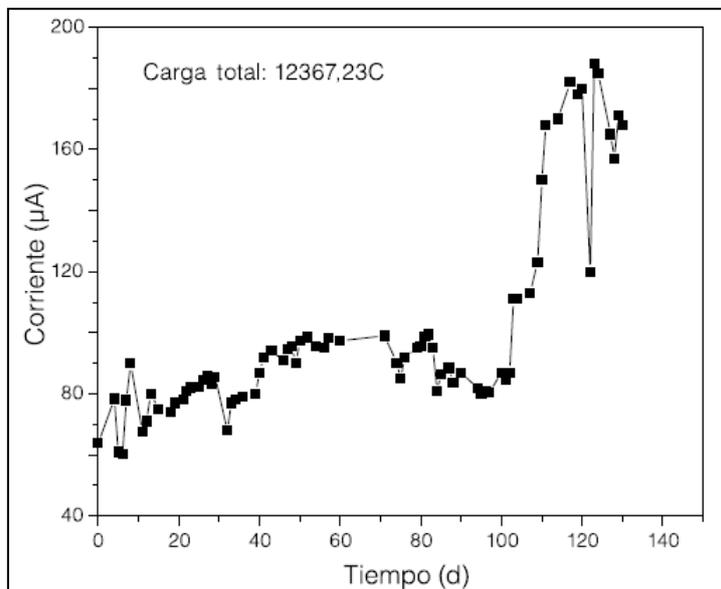


Figura 4.14 Corriente registrada en función del tiempo (Alzate-Gaviria y col., 2008)

4.3.2 Caracterización de una CMB para el tratamiento de efluentes contaminados

4.3.2.1 Materiales y métodos

La CMB consistió de un cilindro horizontal construido de plexiglass, 78 mm de largo (distancia entre electrodos) y diámetro interno de 48 mm. En un extremo del cilindro, se colocó un ánodo circular hecho de una lámina de acero inoxidable de 1 mm de grosor.

En el otro extremo, se colocó un cátodo constituido por tres capas circulares (desde adentro hacia fuera): Membrana de intercambio protónico (Nafion 117), papel de carbón Toray con una concentración de 0.5 mg Pt/cm² como catalizador, y lámina perforada de acero inoxidable de 1 mm de grosor.

El cátodo fue aireado por convección natural, ya que la capa de metal estuvo en contacto con el aire (Figura 4.15). El área superficial del ánodo por unidad de volumen fue de 12.82 m²/m³. Dos puertos de muestreo (parte superior e inferior) fueron taladrados en el cuerpo del cilindro de la CMB para alimentar y purgar.



Figura 4.15 Diagrama de una CMB creada en México (Carmona-Martínez y col., 2006)

La CMB fue inoculada con 143 ml de inóculo proveniente de un reactor metanogénico completamente mezclado. La concentración de biomasa en el inóculo fue de 200 mg SSV/L. La CMB fue cargada con 7 ml de un extracto modelo similar al perfil de metabolitos generados en la producción biológica de hidrógeno a partir de residuos sólidos municipales (Valdez-Vázquez y col., 2005).

El extracto usado como modelo fue constituido por una mezcla de los siguientes ácidos: Acético, propiónico y butírico, así como de acetona y etanol y sales minerales (Tabla 4.3). La DQO del extracto modelo fue de 16 g DQO/L. La CMB fue operada en régimen por lote de 50h a 37°C. El pH inicial y final fue de 7.66 y 8.32, respectivamente.

Tabla 4.5 Composición del extracto modelo para la CMB (Carmona-Martínez y col., 2006)

Componente	Cantidad (g/L)
Acetona	4.0
Etanol	4.0
A. acético	4.0
A. propiónico	4.0
A. butírico.	4.0
NaHCO ₃	3.0
K ₂ HPO ₄	0.6
Na ₂ CO ₃	3.0
NH ₄ Cl	0.6

El ánodo fue conectado con el cátodo a través de una resistencia externa variable con el objetivo de estimar el valor de la resistencia interna de la CMB. La resistencia interna de la CMB es una de las características esenciales de la CMB, ya que de acuerdo con el Teorema de Jacobi de la máxima potencia generada por una fem, una CMB operada bajo una resistencia externa igual a su resistencia interna dará la potencia máxima. Bajo esta consideración, se llevó a cabo la curva de polarización de la CMB, ésto es, el voltaje de la celda y la intensidad de corriente en función de un valor de resistencia externa.

4.3.2.2 Resultados

En la Figura 4.16 se observa la variación de E_{CMB} CA y en función de la variación de la Rext. Como se puede apreciar, para generar la Curva de Polarización para la CMB fue necesario variar las Rext de 10 kΩ hasta 1000 kΩ y viceversa. Adicionalmente, de la Figura 4.16 se aprecia que para comenzar la Curva de Polarización, fue necesario operar la CMB en Circuito Abierto durante un poco más de 1h.

Al finalizar la curva de polarización, nuevamente se operó la CMB en Circuito Abierto con lo cual se logró corroborar el estado estacionario del sistema y de la misma forma que las condiciones en que se obtuvo la Curva de Polarización fueron adecuadas. Ya que en periodos más largos, la concentración del sustrato habría variado debido a la demanda del mismo que ocurre en el ánodo (Logan y col., 2006).

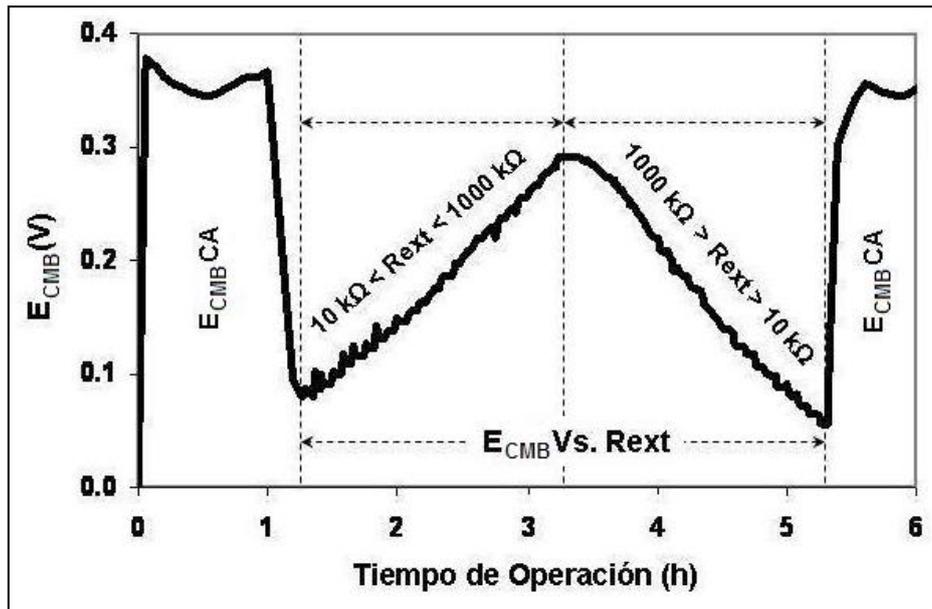


Figura 4.16 Voltaje a circuito abierto y sometido a una resistencia externa (Carmona-Martínez y col., 2006)

Con el fin de observar de manera más clara el efecto de la variación de las R_{ext} en el comportamiento de la CMB, la Figura 4.17 muestra como E_{CMB} e I_{CMB} se ven afectadas al recibir un impulso externo debido a la manipulación de la R_{ext} .

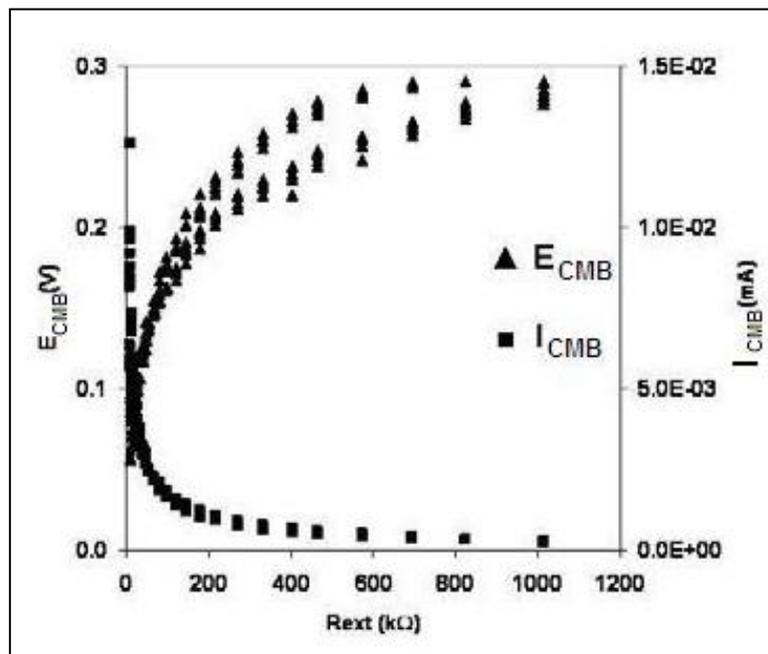


Figura 4.17 Voltaje y corriente en función de una R_{ext} (Carmona-Martínez y col., 2006)

Otro de los beneficios que ofrece estudiar una CMB a través de la realización de una Curva de Polarización, es dilucidar la Resistencia Interna (R_{int}) del sistema. De acuerdo a diversos autores (He y col., 2005; Kim y col., 2007; Zhao y col., 2006; Zuo y col., 2006), la R_{int} de una CMB se puede extraer mediante la pendiente de la Curva de Polarización.

Primero, el voltaje a circuito abierto fue monitoreado (~ 0.36 V). Después de 1 h, la curva de polarización fue determinada al registrar E_{CMB} y I_{CMB} a valores ascendentes de la resistencia externa y viceversa. La curva de polarización promedio no fue lineal. La pendiente promedio de tal curva fue calculada y dio un valor de ~ 32 k Ω para la resistencia interna de la CMB (Figura 4.18).

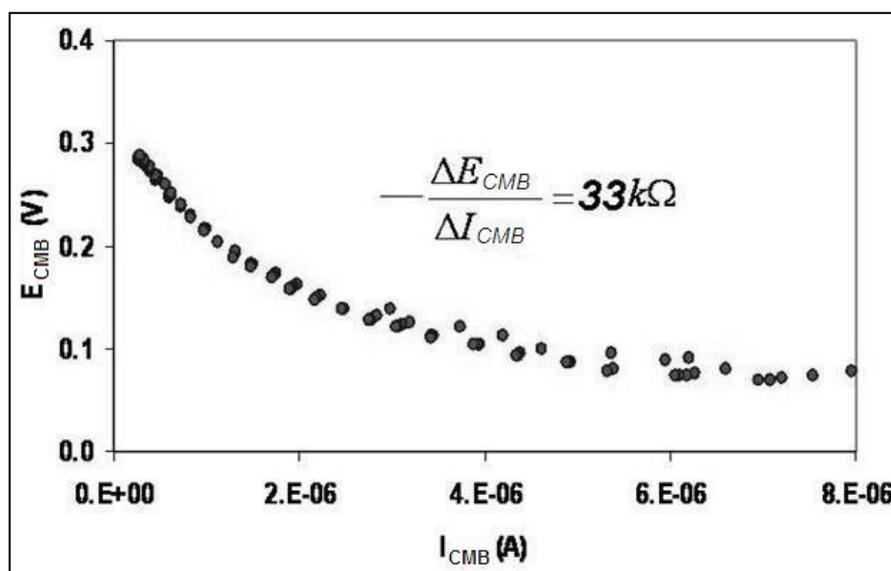


Figura 4.18 Método gráfico para encontrar R_{int} (Carmona-Martínez y col., 2006)

Más tarde, el voltaje a circuito abierto fue nuevamente monitoreado y se encontró un valor de 0.35V. Lo anterior fue congruente con el primer valor del voltaje a circuito abierto, con lo cual se validó el procedimiento de la curva de polarización.

La CMB mostró un valor de potencia máximo cercano a 5×10^{-5} mW (Figura 4.19). Este valor es considerado bajo, y a la vez atribuido al alto valor de R_{int} , entre otras pérdidas.

4.3.2.3 Conclusiones

La Curva Polarización aunque mostró una Resistencia Interna del sistema alta, cual indicaría aún la posibilidad de utilizar la CMB en cuestión para el tratamiento de extractos de la producción biológica de hidrógeno. Adicionalmente la Curva de Polarización brindó los datos necesarios para caracterizar la CMB con respecto a un inóculo metanogénico y a la concentración de catalizador utilizada.

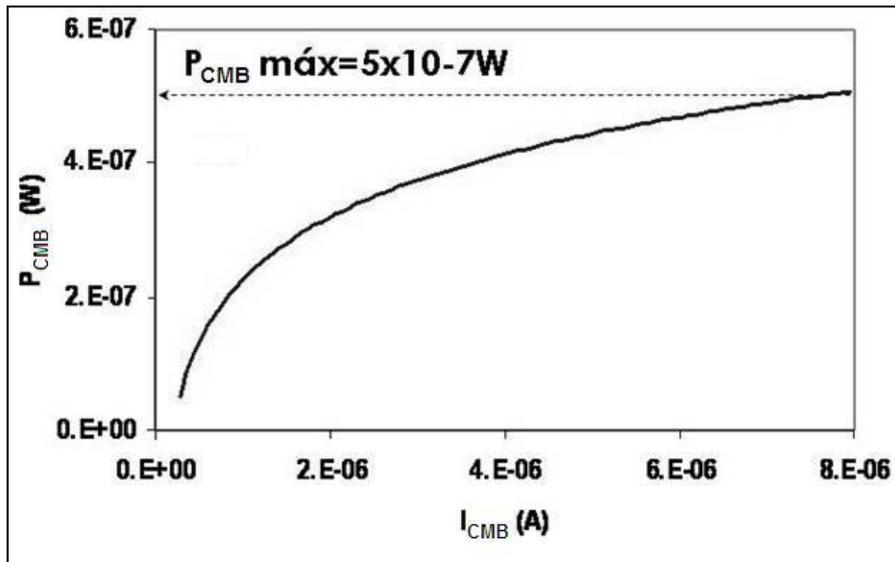


Figura 4.19 Potencia máxima obtenida de la CMB (Carmona-Martínez y col., 2006)