



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – RESIDUOS SÓLIDOS

“APLICACIÓN DE UN SISTEMA BIOELECTROQUÍMICO PARA LA GENERACIÓN DE
HIDRÓGENO POR MEDIO DE UNA CELDA DE ELECTRÓLISIS MICROBIANA”

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
MARÍA DE LOURDES ROMANO PARDO

TUTOR PRINCIPAL
ALFONSO DURÁN MORENO, FACULTAD DE QUÍMICA

COMITÉ TUTOR
IVÁN MORENO ANDRADE, LIPATA
FRANCISCO JAVIER GARFÍAS VÁSQUEZ, FACULTAD DE QUÍMICA
GABRIELA E. MÖELLER CHÁVEZ, U. POLITÉCNICA DEL EDO. DE MORELOS
BIBIANA QUEZADA CERCADO, CIDETEQ

MÉXICO, D. F. ([ENERO](#)) 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Garfias Vásquez Francisco Javier

Secretario: Dr. Moreno Andrade Iván

Vocal: Dra. Cercado Quezada Bibiana

1^{er}. Suplente: Dra. Möeller Chávez Gabriela Eleonora

2^{do}. Suplente: Dr. Durán Moreno Alfonso

Lugar donde se realizó la tesis: Unidad de Proyectos y de Investigación en Ingeniería Ambiental, Laboratorio 301, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Alfonso Durán Moreno

FIRMA

Dedicatoria

Al motor de mi vida, arriba y adelante, te amo Luigi!

Agradecimientos

Se agradece al CONACYT por la beca otorgada a la alumna María de Lourdes Romano Pardo durante la duración de la maestría.

Se agradece al Posgrado en Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo otorgado a la alumna María de Lourdes Romano Pardo para la realización de la estancia académica en la Universitat Autònoma de Barcelona y la participación en el “World Renewable Energy Congress 2015” en University of Bucarest.

Al Dr. Alfonso Durán Moreno por todas sus enseñanzas, consejos y coscorriones en los momentos necesarios, así como por la oportunidad para realizar mi proyecto de tesis y la dirección brindada durante mi estancia en el Laboratorio 301, Conjunto E, Facultad de Química.

A los doctores Iván Moreno Andrade, Francisco Javier Garfias Vázquez, Gabriela Eleonora Möeller Chávez y Bibiana Cercado Quezada por su valiosa y oportuna contribución recibida durante las evaluaciones y la revisión final de mi proyecto de tesis.

Se agradece el apoyo al grupo de trabajo de la Dra. Rosa María Rodríguez Zamora por las facilidades brindadas para el uso de su equipo, en especial a la Dra. Ariadna Morales y la Ing. Cynthia Tabla Vázquez.

Se agradece el apoyo al Dr. Rogelio Cuevas García, a la UNICAT, a la USAI y al Departamento de Microscopía Electrónica de Barrido del Instituto de Biología, UNAM por las pruebas realizadas para la realización del presente trabajo.

A la Ing. Cynthia Grissell Tabla Vázquez por su gran amistad, apoyo incondicional, y orientación en la realización del trabajo presentado. Al Mstro, Isaak Rivera Álvarez por su amistad, apoyo y principalmente por la orientación para la realización del presente trabajo.

Al grupo de trabajo del laboratorio del Dr. Alfonso Durán Moreno, en especial al Mstro. Gonzálo C. López Ojeda por sus largas explicaciones y su apoyo para la realización de este trabajo y a la alumna Cynthia Cristel Cabañas De La Rosa.

A la Mstra. Paulina Sarabia, y a la Msra Ana Lilia Jiménez por su amistad, apoyo y ánimos durante los momentos difíciles; esas largas pláticas y sabios consejos, los quiero.

A mi familia, mi madre, mis hermanas y mi esposo, por su apoyo y motivación durante la realización de mis estudios.

Y en especial, a mi hijo Luis Armando “Luigi”, por ser el motor de mi vida y la razón de todo.



Contenido

Lista de Imágenes	iii
Lista de Tablas.....	v
Lista de Abreviaturas	vi
Resumen.....	1
Introducción	2
Problemática	3
Justificación	5
Hipótesis	6
Objetivo	6
Objetivos específicos	6
Alcances.....	6
Marco Teórico	7
1. Hidrógeno, combustible limpio	7
2. Sistemas Bioelectroquímicos.....	10
3. Microorganismos exoelectrógenos	12
4. Celdas de Combustible Microbiana	13
5. Celda de Electrólisis Microbiana	14
6. Metanogénesis y Uso de Membrana en la Celda de Electrólisis Microbiana	16
7. Arranque MEC, inoculación.	18
8. Microbiología de la MEC	19
9. Termodinámica de la Celda de Electrólisis Microbiana	20
10. Potencial en la Celda de Electrólisis Microbiana vs Electrólisis del agua	22
11. Electrodo.....	23
12. Índices de rendimiento de la Celda de Electrólisis Microbiana	26
13. Antecedentes de MEC sin membrana de intercambio iónico.....	28
Metodología.....	30
1. Primera etapa, Diseño y Construcción.....	30
2. Segunda etapa, Operación – Solución sintética.....	41
RESULTADOS.....	42
1. Primera etapa, Diseño y Construcción.....	42
2. Segunda etapa, Operación – Solución sintética.....	67



Conclusiones	80
Bibliografía	83
Anexos	86
ANEXO 1. Normalización del volumen	86
ANEXO 2. Solución PBS 10X.....	86
ANEXO 3. Solución de micronutrientes utilizada	86
ANEXO 4. Demanda Química de Oxígeno.	87
ANEXO 5. Carbono Orgánico Total	87
ANEXO 6. Sólidos Totales y Sólidos Volátiles	87
ANEXO 7. Medio preparado “GENOCOV”	88
ANEXO 8. Método de la bolsa de gas “Ambler”	88
ANEXO 9. Producción de gas para la MEC 1 durante 71 días.....	89
ANEXO 10. Producción de gas para la MEC 2 durante 73 días.....	91
ANEXO 11. Producción de gas para el testigo durante 73 días	93
ANEXO 12. Δ DQO y porcentaje de remoción DQO para los tres sistemas.	94



Lista de Imágenes

Imagen 1. Emisiones de GEI antropogénicos entre 1970 y 2010; IPCC (2014).....	3
Imagen 2. Principales fuentes de emisiones GEI, IPCC (2014).....	4
Imagen 3. Evolución de la producción del petróleo hacia el agotamiento – combustibles fósiles. (Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, 2008).....	4
Imagen 4. Cambio en la energía primaria mundial (%) de 1850 a 2010, IPCC (2014).....	5
Imagen 5. Usos del hidrógeno como combustible (Perl, 2007).....	8
Imagen 6. Sistemas Bio-electroquímicos: Celda de Combustión Microbiana (izquierda), Celda de Electrólisis Microbiana (derecha).	11
Imagen 7. Microorganismos exoelectrógenos: (Derecha) Esquematización de la oxidación de la materia orgánica, (Izquierda) Transferencia de electrones.....	12
Imagen 8. Representación esquemática de una Celda de Combustible Microbiana (MFC) Revelo y col. (2013).....	13
Imagen 9. Representación esquemática de una Celda de Electrólisis Microbiana. Tice & Younggy (2014).....	15
Imagen 10. Electrodeposición con níquel metálico sobre fieltro de carbono a 4 V.....	32
Imagen 11. Electrodeposición con RuCl_3 sobre fieltro de carbono a 8 V.....	33
Imagen 12. Esquema principio de la Voltamperometría Cíclica. Ibañez & Abad (2010).....	35
Imagen 13. Bio-electrodos utilizados.....	36
Imagen 14. Probeta invertida para captar el gas generado con trampa de CO_2 : (izquierda) Probeta de 1 L, (derecha) Probeta de 250 mL.	36
Imagen 15. (Izquierda) Orificios con tapones de silicona para facilitar la manipulación y funcionamiento de las celdas, (Derecha) Vista del lado de una de las celdas mostrando el sellado hermético.	38
Imagen 16. Volumen normalizado de gas generado durante las pruebas preliminares. Configuración correspondiente a la Tabla 8.....	42
Imagen 17. Porcentaje de remoción de DQO durante las pruebas preliminares.....	43
Imagen 18. Imágenes de los electrodos: (izquierda) electrodos con recubrimiento sin bio- película, al frente malla de titanio y fieltro de carbono recubiertos con níquel metálico, (derecha) electrodos en funcionamiento con la bio-película formada, izquierda ánodo.....	45
Imagen 19. (Izquierda) Malla de titanio recubierta con óxido de rutenio, (Derecha) Malla de titanio recubierta con níquel metálico.....	45
Imagen 20. (Izquierda) Fielto de carbono recubierto con óxido de rutenio, (Derecha) Fielto de carbono recubierto con níquel metálico.....	46
Imagen 21. Imagen SEM de la bio-película formada en el ánodo de la MEC.....	47
Imagen 22. Imagen SEM de la bio-película formada en el cátodo de la MEC.....	48
Imagen 23. Espectro EDS obtenido del fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio.....	48
Imagen 24. Resultados microanálisis, EDS para el fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio.....	49
Imagen 25. Espectro EDS obtenido del fieltro de carbono recubierto con níquel metálico.....	49
Imagen 26. Resultados microanálisis, EDS para el cátodo.....	50
Imagen 27. Ajuste para el área superficial BET.....	51
Imagen 28. CV del ánodo, densidad de corriente J (mA/cm^2) contra el potencial aplicado (V) con Ag/AgCl como electrodo de referencia: fieltro de carbono solo en gris, fieltro	



	de carbono con óxido de rutenio en naranja y fieltro de carbono con óxido de rutenio y bio-película en azul	52
Imagen 29.	CV del cátodo, densidad de corriente contra el potencial aplicado con Ag/AgCl como electrodo de referencia: fieltro de carbono solo en gris, fieltro de carbono con níquel metálico en naranja y fieltro de carbono con níquel metálico y bio-película en azul	53
Imagen 30.	Diagrama de la MEC construida	54
Imagen 31.	(Izquierda) Ánodo Brush colocado dentro de una de las celdas, (Derecha) Cátodo tela de carbono recubierta con platino dentro de una de las celdas	55
Imagen 32.	(Izquierda) MEC A; (Derecha) MEC B	56
Imagen 33.	Celdas C y D en modalidad MFC; (izquierda) MEC C, (derecha) MEC D	56
Imagen 34.	Electrodos con la biopelícula formada durante el cambio de MFC a MEC para MEC C; (derecha) brush, (izquierda) Tela de Carbono	57
Imagen 35.	Intensidad de corriente (A) vs t (h) durante el periodo de arranque en modo MEC de la MEC A y la MEC B.....	58
Imagen 36.	Intensidad de corriente (A) vs t (h) durante el periodo de arranque en modo MFC de la MEC C y la MEC D	58
Imagen 37.	I(A) vs t(h) para 10 ciclos de operación en modo MEC de la MEC A y la MEC B ..	59
Imagen 38.	I(A) vs t(h) para 4 ciclos de operación en modo MFC para la MEC C y la MEC D	60
Imagen 39.	I(A) vs t(h) para 5 ciclos de operación en modo MEC para la MEC C y la MEC D	60
Imagen 40.	pH al final de cada ciclo durante todo el tiempo de operación de las celdas	64
Imagen 41.	Voltamperograma para los cuatro sistemas	65
Imagen 42.	Voltamperograma para la MEC C y para la MEC D	65
Imagen 43.	Lodos Anaerobios con acetato de sodio licuados.....	67
Imagen 44.	Volumen de gas normalizado generado por cada una de las celdas	68
Imagen 45.	Promedio de la composición del gas para la MEC 1, la MEC 2 y el testigo	70
Imagen 47.	Porcentaje de Remoción de DQO durante los 10 primeros periodos de alimentación para la MEC 1, la MEC 2 y el testigo	71
Imagen 49.	Δ ST (mg/L) y Δ ST (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para la MEC 1.....	73
Imagen 50.	Δ ST (mg/L) y Δ ST (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para la MEC 2.....	74
Imagen 51.	Δ ST (mg/L) y Δ ST (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para el testigo	75
Imagen 52.	pH de los tres sistemas durante todo el ciclo de operación	76
Imagen 53.	Suposición del comportamiento de la intensidad de corriente para la MEC 2 durante un periodo de alimentación	77
Imagen 54.	Curva de calibración DQO	87



Lista de Tablas

Tabla 1. Comparación energía específica de combustión de combustibles (Gutiérrez Jodra, 2005).....	7
Tabla 2. Entalpías de reacción (kJ/mol) y Entalpías específicas (kJ/kg) de algunos combustibles (Grupo Lendiscal)	8
Tabla 3. Tecnologías para la generación de hidrógeno (ASPO, Asociación para el estudio del CENIT del petróleo y el gas, 2004)	9
Tabla 4. Electrólisis del agua, Rozendal (2007).....	22
Tabla 5. Reacciones óxido/reducción en la MEC, Rozendal (2007).....	22
Tabla 6. Materiales utilizados como recubrimiento en otros estudios	23
Tabla 7. Principales estudios previos de MEC sin membrana de intercambio iónico	29
Tabla 8. Configuración de los materiales de los electrodos para las Pruebas Preliminares.....	31
Tabla 9. Volúmenes utilizados para la alimentación de las celdas	39
Tabla 10. Volumen puntual normalizado para las pruebas preliminares	43
Tabla 11. Porcentaje de Remoción DQO - Pruebas Preliminares	44
Tabla 12. Monitoreo MEC A	61
Tabla 13. Monitoreo MEC B	61
Tabla 14. Monitoreo MEC C	62
Tabla 15. Monitoreo MEC D	62
Tabla 16. Composición y volumen de gas generado MEC A.....	63
Tabla 17. Composición y volumen de gas generado MEC B	63
Tabla 18. Composición y volumen de gas generado MEC D.....	63
Tabla 19. Rendimiento de la MEC A durante los ciclos 5 y 6.	66
Tabla 20. Caracterización solución sintética e Inóculo	67
Tabla 21. Volumen de gas generado normalizado para MEC 1, MEC 2 y el testigo	69
Tabla 22. Composición del gas generado para MEC 1, MEC 2 y el testigo en diferentes periodos de alimentación	70
Tabla 23. Monitoreo de ST y SV para la MEC 1 durante 9 periodos de alimentación.....	72
Tabla 24. Monitoreo de ST y SV para la MEC 2 durante 9 periodos de alimentación.....	73
Tabla 25. Monitoreo de ST y SV para el Testigo durante 9 periodos de alimentación	75
Tabla 26. Intensidad de corriente máxima para cada sistema.....	76
Tabla 27. Determinación de las Eficiencias para la MEC 1 y para la MEC 2	78
Tabla 28. Preparación Solución PBS 10X.....	86
Tabla 29. Solución de micronutrientes.....	86
Tabla 30. Preparación 0.5 L medio "GENOCOV"	88
Tabla 31. Producción de gas por la MEC 1 durante 71 días.....	89
Tabla 32. Producción de gas por la MEC 2 durante 73 días.....	91
Tabla 33. Producción de gas Testigo durante 73 días.....	93
Tabla 34. Δ DQO (mg/L) y Porcentaje de Remoción DQO para la MEC 1, la MEC 2 y el Testigo	94



Lista de Abreviaturas

A	Área Superficial
AGVs	Ácidos Grasos Volátiles
ASPO	Asociación para el estudio del CENIT del petróleo y el gas
BET	Ecuación de Brunauer, Emmet y Teller
BES	Bioelectrochemical Systems, Sistemas Bio-electroquímicos
BES ₂	2- Bromoetansulfonato
C	Constante para BET
CE	Coulombic Efficiency, Eficiencia Colómbica
CENIT	Pico del petróleo, punto a partir del cual la producción mundial deja de crecer
CIDETEQ	Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica
COT	Carbono Orgánico Total
Q	Carga transferida
Π	Constante de equilibrio
CV	Cyclic Voltammetry, Voltamperometría Cíclica
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DQO ₀	Demanda Química de Oxígeno inicial
DQO _t	Demanda Química de Oxígeno en el tiempo t
DS	Desviación Estándar
E°	Potencial estándar
E _{an}	Potencial del ánodo
E _{cat}	Potencial del cátodo
E _{eq}	Potencial de equilibrio
E _{emf}	Fuerza Electromotriz
E _i	Potencial inicial
E _f	Potencial final
EDS	Espectroscopía de Energía Dispersa
F	Constante de Faraday (96,485.3 C/mol*e ⁻)
FID	Detector de Ionización de Llama
ΔG	Energía Libre de Gibbs
ΔG°	Energía Libre de Gibbs estándar
GEI	Gases de efecto invernadero



GENOCOV	Grupo de trabajo de tratamiento biológicos de efluentes líquidos y gaseosos, eliminación de nutrientes, olores y compuestos orgánicos volátiles del Departamento de Ingeniería de la de la Universitat Autònoma de Barcelona.
H ⁺	Protones
MFC	Microbial Fuel Cell, Celda de Combustible Microbiana
MEC	Microbial Electrolysis Cell, Celda de Electrólisis Microbiana
n	moles
η	Eficiencia
P	Presión parcial N ₂
P ^o	Presión de saturación
PBS	Solución Buffer Salina
pH	Potencial Hidrógeno
R	Constante de los gases (8.321 J/mol*K)
rcat	Rendimiento Catódico
r _E	Rendimiento con respecto a la electricidad suministrada
r _{E+S}	Rendimiento con respecto a la electricidad suministrada y al sustrato
r _S	Rendimiento con respecto al sustrato
SEM	Scanning Electron Microscopy, Microscopía Electrónico de Barrido
ST	Sólidos Totales
SV	Sólidos Volátiles
UNICAT	Unidad de Investigación en Catálisis
T	Temperatura
t _{CO₂-eq}	Toneladas de dióxido de carbono equivalentes
TCD	Detector de Conductividad Térmica
USAI	Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación
V	Volumen adsorbido a P
V _m	Volumen adsorbido de la monocapa
V _R	Volumen del reactor (celda)



Resumen

En este trabajo se planteó la construcción de una Celda de Electrólisis Microbiana para la generación de hidrógeno como fuente de combustible, teniendo como valor agregado el utilizarla como un pos-tratamiento que permita disminuir la carga orgánica del sustrato empleado.

Se construyó una Celda de Electrólisis Microbiana utilizando electrodos de fieltro de carbono recubiertos con óxido de rutenio y níquel metálico, como ánodo y cátodo, respectivamente. El óxido de rutenio le dio propiedades oxidantes al fieltro de carbono mejorando la degradación de la materia orgánica en el ánodo, mientras que el níquel metálico actuó como catalizador favoreciendo la producción de hidrógeno en el cátodo. Se operó la Celda de Electrólisis Microbiana con una solución sintética (acetato de sodio) con lo cual se determinó la eficiencia del sistema con base en la producción de hidrógeno y metano, la energía suministrada y la energía recuperada.

Como producto principal se obtuvo hidrógeno, el cual es un combustible limpio, al no contener átomos de carbono no libera dióxido de carbono ni otros subproductos contaminantes. Durante su combustión solo produce vapor de agua. El hidrógeno es utilizado actualmente en varios procesos en la industria química y en el transporte, y se considera como la energía más atractiva para el futuro.

Se realizó la caracterización de los electrodos por medio de voltamperometría cíclica con el fin de probar la capacidad oxidante o reductora de estos, y por microscopía electrónica de barrido se observó la bio-película formada en cada electrodo. Se monitoreó la Celda de Electrólisis Microbiana en cuanto a la cantidad y composición del gas generado, la remoción de la Demanda Química de Oxígeno, el pH, la intensidad de corriente, y se determinaron por diferencia de peso los sólidos volátiles y totales, con el fin de establecer la variación de biota y materia orgánica en el sistema.

Se compararon los electrodos utilizados con los electrodos utilizados por el grupo de trabajo "GENOCOV" de la Universitat Autònoma de Barcelona, Grupo de trabajo de tratamiento biológicos de efluentes líquidos y gaseosos, eliminación de nutrientes, olores y compuestos orgánicos volátiles. Para el ánodo se empleó *brush* (cepillo de carbono) y para el cátodo tela de carbono recubierto con platino; se compararon en cuanto a la eficiencia coulombica, cantidad de gas generado, y la respuesta redox obtenida por voltamperometría cíclica. Es importante mencionar que para este apartado se trabajó a las condiciones con las que opera el grupo GENOCOV.



Introducción

La Celda de Electrólisis Microbiana (*Microbial Electrolisis Cell*, MEC por sus siglas en inglés) es un sistema bio-electroquímico que se basa en el principio de la electrohidrogenesis, la cual consiste en una electrólisis bio-catalizada, un proceso biológico soportado por un proceso electroquímico, en el cual los microorganismos electroquímicamente activos degradan la materia orgánica y se brinda una diferencia de potencial al sistema que permite el transporte tanto de los electrones como de los protones necesarios para producir el gas hidrógeno en el cátodo.

La electrohidrogenesis es un proceso que involucra la degradación biológica de un sustrato asistida por medios electroquímicos, dicho sustrato debe ser una fuente con carbono disponible, puede ser la fracción orgánica de residuos sólidos, aguas residuales domésticas, aguas de rastro, el digestato proveniente de la digestión anaerobia, entre otros; además de requerir una menor aplicación de voltaje para llevarse a cabo en comparación con la electrólisis del agua. Es una tecnología reciente que se ha estudiado desde el 2007 y ya se cuenta con algunas plantas piloto en otros países (Barcelona y China) que incluyen el proceso en la forma de una Celda de Electrólisis Microbiana.

En el presente trabajo se utilizó un sustrato sintético, acetato de sodio, para probar el funcionamiento de la misma y determinar los factores que tienen una mayor influencia en el desempeño de la celda, con base en la intensidad de corriente, el porcentaje de remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la cantidad de hidrógeno generado, con el que es posible determinar la eficiencia coulombica y el rendimiento catódico de la celda.

Por otro lado, la remoción de la Demanda Química de Oxígeno indica la degradación de la materia orgánica en el sistema, teniendo como valor agregado reducir la carga orgánica del sustrato como ya se ha mencionado.

Los electrodos utilizados se fabricaron por electrodeposición utilizando fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio o níquel metálico según fue el caso. El fieltro de carbono es un material con una gran área superficial, debido al entretejido y a la alta porosidad que presenta facilita la adhesión de la bio-película de exoelectrógenos. El óxido de rutenio se utilizó para recubrir el ánodo, dándole propiedades oxidantes al fieltro de carbono, con lo cual se ayuda a los microorganismos electroquímicamente activos a degradar la materia orgánica presente en el sistema. Mientras que el níquel metálico recubrió el fieltro de carbono que funcionó como cátodo, actuando como un catalizador en la celda para favorecer la evolución del hidrógeno a partir de los protones disponibles en el cátodo y en el bulbo de la solución.

Las Celdas de Electrólisis Microbiana utilizadas durante el presente trabajo no contaban con membrana de intercambio iónico, la cual se utiliza generalmente para mejorar el desempeño del sistema, Call y col. (2008) mencionan que las membranas no son necesarias para la Celda de Electrólisis Microbiana, puesto que es posible alcanzar altas recuperaciones de hidrógeno en sistemas de cámara simple debido a que como el oxígeno no se produce en la celda no se requiere mantener cátodo y ánodo por separado y la velocidad de producción de hidrógeno es suficientemente alta.

Problemática

En la actualidad los principales medios para obtener energía son los combustibles fósiles debido a su bajo costo y porque se han utilizado durante años; la tendencia indica un cambio a combustibles limpios y de bajo costo. Esta tendencia se debe a las emisiones de contaminantes (gases de efecto invernadero) y a la propia escasez de los combustibles fósiles.

El calentamiento global trae consigo consecuencias que afectan al planeta, principalmente el cambio climático, el efecto invernadero y el derretimiento de los polos. Esto se debe principalmente a las emisiones de CO_2 , CO , CH_4 , CO_2 , N_2O y SO_2 , los cuales son los principales gases de efecto invernadero (GEI). En el siguiente gráfico se reportan las emisiones de GEI per cápita por año desde 1970 hasta el 2010, presentándose las mayores emisiones en el grupo de países pertenecientes a la Organización de Desarrollo y Cooperación Económico (OECD, por sus siglas en inglés Organization for Economic Cooperation and Development), conformada por 34 países, incluyendo a México, con valores cercanos a 15 $\text{tCO}_2\text{-eq/año}$ per cápita. Siendo el promedio mundial cercano a 10 $\text{tCO}_2\text{-eq/año}$ per cápita. Dichas unidades determinan la cantidad emitida de un GEI bien mezclado o una mezcla de GEI aplicando el potencial de calentamiento global para tener en cuenta los distintos tiempos que permanece en la atmósfera.

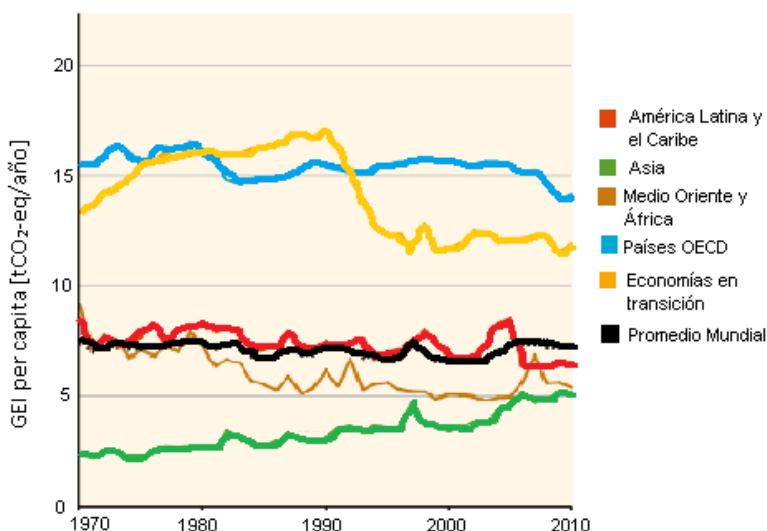


Imagen 1. Emisiones de GEI antropogénicos entre 1970 y 2010; IPCC (2014)

De las emisiones reportadas, el CO_2 resulta el de mayor producción, en el siguiente gráfico se presentan las emisiones de GEI entre 1970 y 2010: con valores de más del doble de otros procesos, para 2010 con un valor cercano a las 30 $\text{GtCO}_2\text{-eq/año}$.

Las proyecciones indican que, si se permite que las emisiones aumenten a su ritmo actual y dupliquen los niveles anteriores al desarrollo industrial, para 2100 probablemente el mundo tendrá que enfrentar un aumento de las temperaturas de 2°C IPCC (2014).

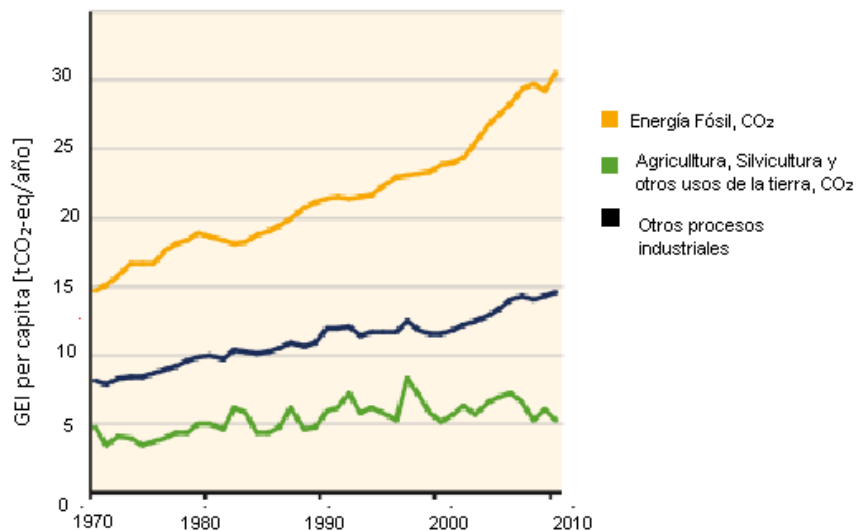


Imagen 2. Principales fuentes de emisiones GEI, IPCC (2014)

Los yacimientos de petróleo y carbón no son infinitos, por lo cual los combustibles fósiles no se consideran combustibles renovables, se estima que en cuarenta años empezarán a escasear y la tendencia al uso de mayores cantidades de combustibles hará incrementar los contaminantes a la atmósfera.

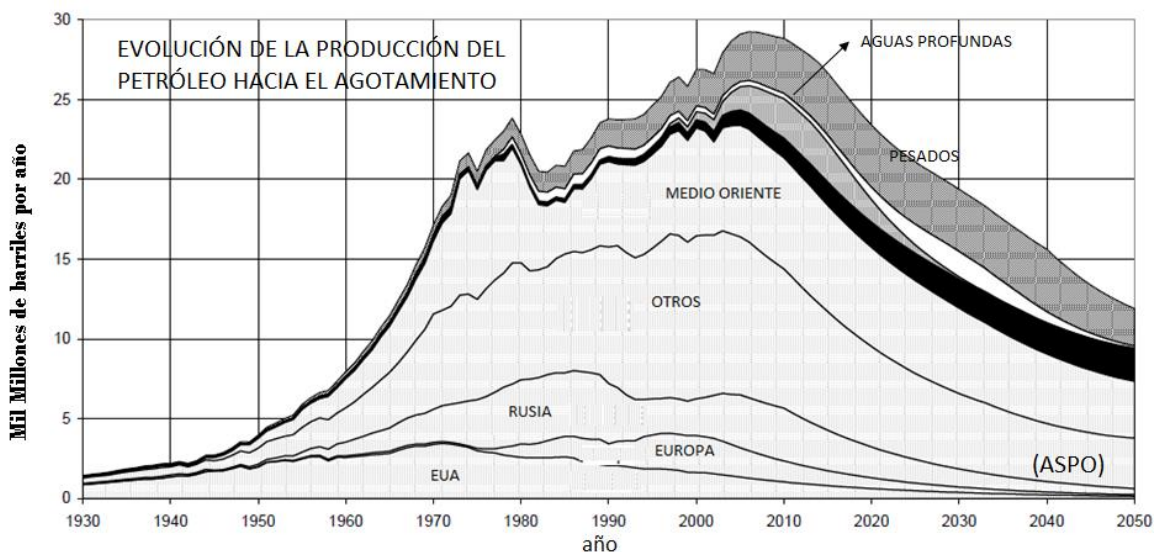


Imagen 3. Evolución de la producción del petróleo hacia el agotamiento – combustibles fósiles. (Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, 2008)

El agotamiento de los combustibles fósiles hace inminente la búsqueda de combustibles que los reemplacen, como se puede observar en la Imagen 3, en la actualidad se generan casi 26 mil millones de barriles de petróleo anualmente; con el agotamiento de los combustibles fósiles se espera para el 2050 poco menos de 13 billones de barriles de petróleo anuales.

Justificación

El cambio en la energía primaria mundial de 1850 a 2008 presenta el cambio de tecnologías del uso del carbón al petróleo y al gas, cercano a 1910. Después se observa el surgimiento del uso de la energía nuclear aproximadamente en 1975, y las hidroeléctricas en 1925. Un gran descenso en el uso del carbón a partir de 1960. Para finalmente un mínimo a partir del año 2000 con el uso de energías renovables con un aproximado del 1% de participación.

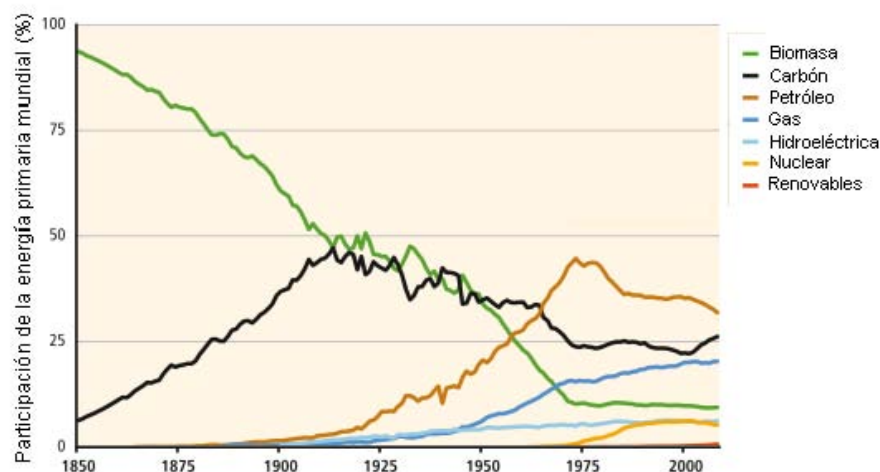


Imagen 4. Cambio en la energía primaria mundial (%) de 1850 a 2010, IPCC (2014)

Dentro de las energías renovables, se cuenta con el hidrógeno como un combustible limpio, que solo genera vapor de agua durante su combustión o que puede utilizarse directamente como energético. El hidrógeno es utilizado en la actualidad en la industria química y el transporte. Es un combustible secundario, lo que indica que no se encuentra libre en la naturaleza, y es necesario producirlo, para lo cual se tienen dos métodos principales: El reformado del metano y la electrólisis del agua.

En el reformado del metano se obtienen altas impurezas y se generan una gran cantidad de contaminantes (GEI), pero se considera un proceso de bajo costo y al igual que la electrólisis del agua es un proceso muy conocido. La electrólisis del agua requiere de un voltaje teórico de 1.2 V, con un sobrepotencial estimado de 0.6 V, con lo cual se requiere de la aplicación de un valor mínimo de 1.8 V para llevarse a cabo, lo que incrementa los costos y genera bajos volúmenes de producción pero obtiene gas hidrógeno con alta pureza.

Con base en lo anterior, surge la necesidad de obtener procesos que permitan la generación de hidrógeno (con un mayor poder calorífico que los combustibles fósiles), a bajo costo y sin emisión de contaminantes, para que con el tiempo se puedan ir sustituyendo las tecnologías actuales que emplean combustibles fósiles para su funcionamiento.



Hipótesis

Si se emplea una Celda de Electrólisis Microbiana utilizando óxido de rutenio en el ánodo y níquel metálico en el cátodo, entonces la acción sinérgica de ambos materiales en los electrodos logrará la generación de hidrógeno como producto principal sin requerir el uso de una membrana de intercambio iónico.

Objetivo

Diseñar y operar una Celda de Electrólisis Microbiana utilizando un recubrimiento de óxido de rutenio en el ánodo y un recubrimiento de níquel metálico en el cátodo para la recuperación de hidrógeno.

Objetivos específicos

- Fabricar y caracterizar los electrodos de fieltro de carbono impregnado de óxido de rutenio para el ánodo y un electrodo recubierto con níquel metálico para el cátodo que permita llevar a cabo la electrohidrogenesis sin requerir de una membrana de intercambio iónico que separe los electrodos.
- Determinar la eficiencia de la Celda de Electrólisis Microbiana con base a la recuperación de hidrógeno y la remoción de la Demanda Química de Oxígeno utilizando acetato de sodio como sustrato sintético.

Alcances

- La construcción de una celda de electrólisis microbiana de 1 litro.
- Obtener electrodos con alta eficiencia para la recuperación de hidrógeno.
- Cuantificación de la producción de hidrógeno para conocer la viabilidad del proceso.
- Obtención e interpretación de voltamperogramas de los electrodos.
- Obtención de imágenes por microscopía electrónica de barrido para visualizar la formación de la bio-película.



Marco Teórico

1. Hidrógeno, combustible limpio

El hidrógeno es el combustible ideal para el futuro debido a que en su estructura no presenta átomos de carbono, tan sólo está formado por un protón y un electrón. Su combustión sólo genera vapor de agua y no genera gases de efecto invernadero (GEI) lo que lo hace un combustible limpio, ideal para sustituirlo por los combustibles fósiles, además de poseer más del doble de contenido energético que otros combustibles, lo que lo hace un buen vector para transportar y almacenar energía, posee más del doble de energía que el gas natural y el petróleo como se puede observar en la Tabla 1, en la cual se presenta la energía específica de combustión del hidrógeno y de los principales combustibles utilizados en la actualidad.

Tabla 1. Comparación energía específica de combustión de combustibles (Gutiérrez Jodra, 2005)

<i>Energía específica de combustión</i>	
Hidrógeno	120 MJ/kg
Metano	55 M J/kg
Gas Natural	50 M J/kg
Petróleo	44.6 MJ/kg

La desventaja principal del hidrógeno radica en que no es un combustible primario, es necesario producirlo a través de otros combustibles a pesar de ser el elemento más abundante en el universo, no está disponible de forma libre, en su mayoría se encuentra combinado en el agua, y que al ser el átomo más pequeño de los elementos, es difícil mantenerlo almacenado debido a que no cualquier material puede contenerlo y su alto calor de combustión lo vuelve altamente explosivo por lo cual es recomendable utilizarlo in situ en el lugar donde se genere, aunque se puede almacenar y transportar siempre y cuando se tomen las medidas de seguridad necesarias. Existen dos opciones para almacenar y transportar el hidrógeno, como gas a alta presión o como líquido a temperaturas criogénicas; la forma más común de transportarlo es en botellas de acero a una presión de 200 bares para utilizarse en procesos de soldadura o crear atmósferas, a esta presión se tiene una densidad de 20 kg/m^3 , lo que indica que cada 20 kg de hidrógeno ocuparan un litro (Causapé Rodríguez, 2006), en comparación con la gasolina (0.68 kg/m^3), representando una gran desventaja.

Su calor de combustión es de 285.8 kJ/mol , lo que indica que se liberan 285.8 kJ por cada mol que se consume al llevarse a cabo la combustión del hidrógeno; en la Tabla 2 se presentan las entalpías de reacción y las entalpías específicas de los combustibles más utilizados en la actualidad. El hidrógeno presenta la mayor entalpía específica, con 143 kJ por cada gramo. Adicionalmente presenta la menor entalpía de reacción, en comparación con los combustibles presentados.

Tabla 2. Entalpías de reacción (kJ/mol) y Entalpías específicas (kJ/kg) de algunos combustibles (Grupo Lendiscal)

Combustible	Ecuación de combustión	ΔH° (kJ/mol)	ΔH° (kJ/g)
Hidrógeno	$2H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$	-286	-143
Carbono	$C + O_2 \rightarrow CO_2$	-394	-33
Metano	$CH_4 + 2O_2 \rightarrow 2CO_2 + 3H_2O$	-890	-55
Etanol	$C_2H_5OH + 3O_2 \rightarrow 2CO_2 + 3H_2O$	-1235	-27
Butano	$2C_4H_{10} + 26O_2 \rightarrow 8CO_2 + 10H_2O$	-2658	-46
Octano	$2C_8H_{18} + 50O_2 \rightarrow 16CO_2 + 18H_2O$	-5471	-48

El Hidrógeno se utiliza por tres vías principalmente (Imagen 5): por combustión al utilizarlo como combustible, por explosión para generar expansión mecánica o por reacción química para generar energía eléctrica.

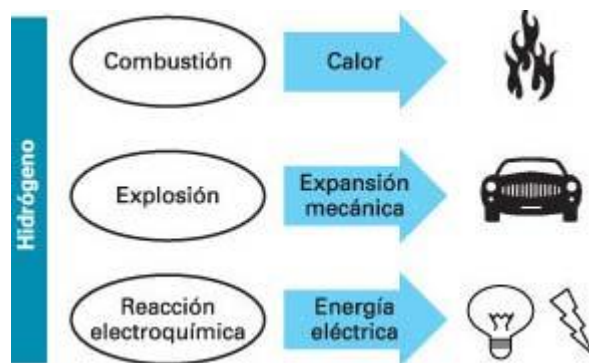


Imagen 5. Usos del hidrógeno como combustible (Perl, 2007)

En la Tabla 3 se presentan las principales tecnologías aplicadas para la generación de hidrógeno, así como su fundamento, ventajas y desventajas. Los principales medios para obtenerlos en la actualidad son la electrólisis del agua y el reformado del petróleo. En la actualidad se utilizan principalmente en la industria química (producción de amoníaco y refinerías del petróleo), y su medio de obtención depende de la calidad de gas que se desee, si se obtiene por electrólisis el costo es alto pero se obtiene un gas con una alta pureza; mientras que con el reformado de metano se obtiene un gas de bajo costo y con baja pureza. Con los métodos para su obtención que involucran materiales con contenido de carbono se obtiene la emisión de contaminantes (GEI) lo que involucra una baja eficiencia de generación de hidrógeno pero el costo es bajo; mientras que el resto de los procesos son de mayor costo pero involucran un alto rendimiento de generación de hidrógeno (Turner, 2004). Como se puede observar en la tabla, todos los procesos que involucran reactivos con contenido de carbono, como la biomasa, azúcares, hidrocarburos o materia orgánica, tienen la desventaja de generar contaminantes, principalmente dióxido y monóxido de carbono. Mientras que los que no los generan aumentan el costo del proceso.



Tabla 3. Tecnologías para la generación de hidrógeno (ASPO, Asociación para el estudio del CENIT del petróleo y el gas, 2004)

Método	Fundamento	Reacción	Ventajas	Desventajas
Electrólisis del agua	Descomposición del agua en H ₂ y O ₂	$2H_2O \rightarrow 2H_2 + O_2$	Alta pureza Proceso muy conocido	Humedad Alto costo Bajos volúmenes
Reformado de metano	Reacción de hidrocarburos con calor y vapor de agua	$CH_4 + H_2O \rightarrow CO + 3H_2$	Proceso de bajo costo Proceso muy conocido	Altas impurezas Generación de contaminantes
Gasificación de biomasa	Oxidación de la materia orgánica altas temperaturas	$CHON + O_2 \rightarrow CO + CO_2 + H_2 + CH_4 + H_2O + NO_x + SO_x$	Obtención de energía a partir de fuentes renovables	Producción de Alquitrán y cenizas Alto costo ~ 1000°K
Procesos térmicos	Disociación termoquímica del agua	$H_2O + \Delta \rightarrow H_2 + OH^-$	Sin emisiones de CO ₂ , Altos rendimientos	Alto costo ~ 1000°K
Procesos fotoquímicos	Disociación fotoquímica del agua	$2H_2O + hv \rightarrow H_2 + O_2$	Reutilización del fotocatalizador Combinación con otras tecnologías	Fotocatalizador activo y estable
Reformado de etanol y azúcares	Ruptura de compuestos orgánicos	$C_2H_5OH + 3H_2O \rightarrow 6H_2 + 2CO_2$	Uso de precursores renovables	Baja selectividad Emisiones CO ₂ , CH ₄ y C ₂ H ₄ O
Biofotólisis del agua	Ruptura de compuestos orgánicos Ej. Alga verde Scenedesmus y especie Spirulina	$2H_2O \rightarrow 2H_2 + O_2$	Uso de luz solar Producción estable Bajo costo	Ambiente anaerobio Baja eficiencia
Electrohidrógenesis	Electrólisis asistida con sustratos orgánicos	$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	Bajo consumo energético Bajo costo Recursos renovables	Generación de metano y CO ₂ (sin membrana) Tecnología reciente



2. Sistemas Bioelectroquímicos

Los sistemas bio-electroquímicos (BES, por sus siglas en inglés *Bioelectrochemical Systems*) son sistemas que convierten la energía química de la materia orgánica en electricidad, hidrógeno, metano o productos químicos. La celda de combustible microbiana (MFC, por sus siglas en inglés *Microbial fuel cells*) y la celda de electrólisis microbiana (MEC, por sus siglas en inglés *Microbial electrolysis cells*) son dos ejemplos del desarrollo de dicha biotecnología. Son sistemas bio-electroquímicos, que combinan procesos electroquímicos y biológicos para generar electricidad, hidrógeno u otros productos químicos.

Ambos son tipos de celdas electroquímicas, las cuales consisten en dos electrodos, un ánodo y un cátodo, que están unidos por un medio (electrolito) y un cable externo para completar el circuito eléctrico. Una MFC está diseñada para producir electricidad, mientras que una MEC utiliza electricidad para llevar a cabo reacciones químicas de tipo redox en el cátodo para producir hidrógeno, metano u otros productos químicos. En ambas celdas se logra la remoción de materia orgánica en el efluente.

Los microorganismos electroquímicamente activos presentes en el sistema están electroquímicamente activos, ya que descomponen u oxidan la materia orgánica en el ánodo, bajo condiciones anaerobias. Al descomponer la materia orgánica, se liberan electrones, protones y dióxido de carbono en la solución. En la Imagen 6 se muestran esquemas de los sistemas bio-electroquímicos.

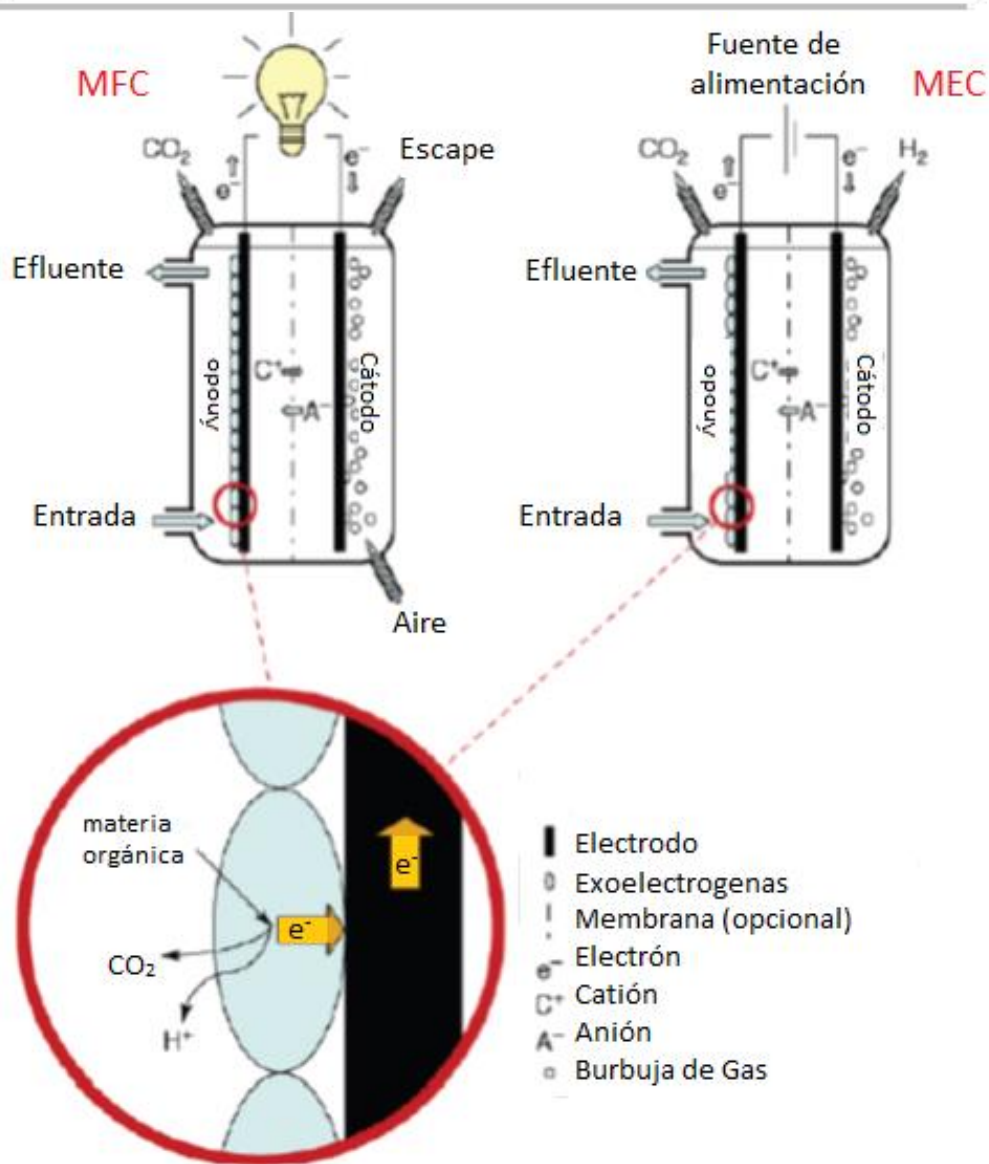


Imagen 6. Sistemas Bio-electroquímicos: Celda de Combustión Microbiana (izquierda), Celda de Electrólisis Microbiana (derecha).

3. Microorganismos electroquímicamente activos

La transferencia directa de electrones se refiere al contacto directo entre la enzima activa de la membrana de la célula y la superficie del electrodo. Los microorganismos electroquímicamente activos tienen una proteína unida a la membrana de transporte de electrones para permitir la transferencia de electrones del interior de la célula a su superficie exterior o viceversa. Se ha encontrado que la velocidad de transferencia directa de electrones es muy lenta debido a que los sitios activos de la enzima están dentro de la proteína. Algunas de las enzimas redox (enzimas reductoras desde el sustrato hasta el O_2 o CO_2) de los microorganismos electroquímicamente activos se localizan en el exterior de la superficie de la membrana del microorganismo, así los sitios activos de la enzima se encuentran directamente frente al electrodo o al medio. De cualquier forma la transferencia directa de electrones requiere contacto físico entre la célula, el citocromo y el electrodo. Por lo tanto, solo los microorganismos de la primera monocapa del electrodo están electroquímicamente activos. La transferencia se puede dar principalmente de dos formas (Mook y col. 2013):

1. La transferencia directa de electrones usando los citocromos de la membrana externa.
2. La transferencia de electrones realizada por apéndices conductivos (nanocables), en la cual la célula segrega una sustancia que le permite adherirse al electrodo.

Una bio-película como una multicapa de microorganismos electroquímicamente activos se puede formar a partir de los nanocables que permiten que los microorganismos se mantengan a 40 – 50 μm de distancia al electrodo, lo que incrementa el rendimiento total del bio-electrodo y facilita la transferencia de electrones (Imagen 7).

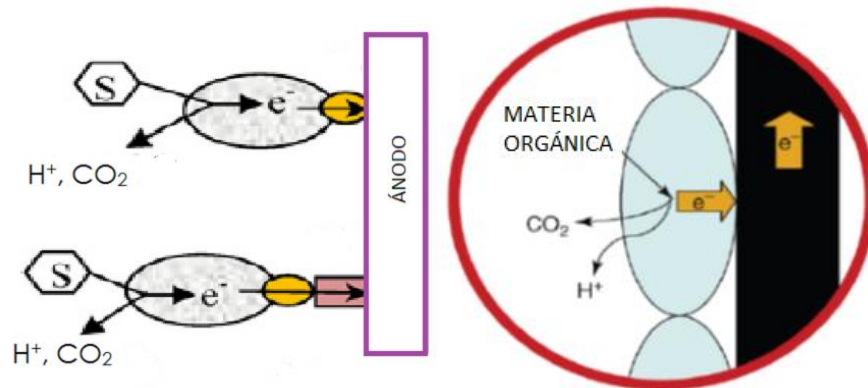


Imagen 7. Microorganismos electroquímicamente activos: (Derecha) Esquematación de la oxidación de la materia orgánica, (Izquierda) Transferencia de electrones.

Así, los microorganismos electroquímicamente activos son los catalizadores en el ánodo que permiten que se lleve a cabo la oxidación biológica (con la generación subsecuente de CO_2 , H^+ y electrones), se regeneran por sí mismos y ofrecen una gran ventaja para posibles aplicaciones como las aguas residuales (Rozendal, 2007).

4. Celdas de Combustible Microbiana

Una celda de Combustible Microbiana (MFC) es un bio-reactor que convierte la energía química de los compuestos orgánicos en energía eléctrica, a través de reacciones catalíticas bajo condiciones anaerobias. La electricidad se produce por medio de los electrones transportados en el circuito externo.

Generalmente la MFC está conformada por un compartimiento anaerobio y otro compartimiento aerobio, en medio de los cuales se coloca un separador (una membrana de intercambio iónico). En cada compartimiento se coloca un electrodo, el ánodo en la cámara anaeróbica y el cátodo en la cámara aeróbica. En la cámara anódica se colocan los sustratos orgánicos que se oxidan por la acción de los microorganismos del ánodo, generando electrones, protones y dióxido de carbono.

El ánodo captura los electrones liberados, posteriormente se transfieren al cátodo por el circuito eléctrico. Al mismo tiempo, los protones generados en la cámara anódica migran hacia la cámara catódica a través del separador, donde se combinan con el oxígeno del aire para reducirse a agua con los electrones que se captan directamente del cátodo. Debido a que esta reacción no está catalizada por microorganismos se considera que el cátodo es abiótico (Revelo y col, 2013). En el siguiente esquema se presenta el funcionamiento de una MFC (Imagen 8).

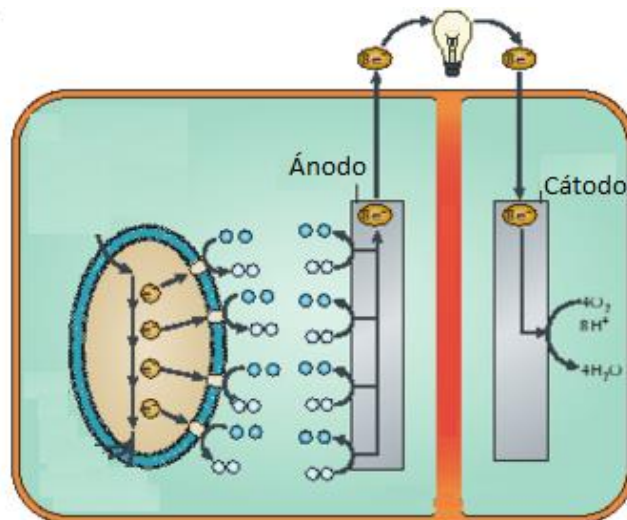


Imagen 8. Representación esquemática de una Celda de Combustible Microbiana (MFC)
Revelo y col. (2013)



5. Celda de Electrólisis Microbiana

La electrohidrogenesis es el proceso que rige el funcionamiento de la celda de electrólisis microbiana para la producción de hidrógeno. Involucra la oxidación de la materia orgánica mediante la aplicación de una diferencia de potencial por medio de bio-electrodos para producir hidrógeno. Una Celda de Electrólisis Microbiana es una Celda de Combustible Microbiana modificada, ya que opera de una manera similar a la MFC a excepción de que el cátodo está sellado para excluir el oxígeno y crear un medio anaerobio, y un voltaje es adicionado al circuito. Debe aplicarse un voltaje o diferencia de potencial porque la formación de hidrógeno no es espontáneo bajo condiciones estándar, siendo menor a la necesaria para la electrólisis del agua; 1.22 V contra 0.135 V (Jeremiasse y col. 2009).

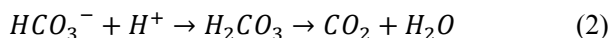
Si el oxígeno es excluido del cátodo, los electrones liberados por los microorganismos que descomponen la materia orgánica que llegan al cátodo, se pueden combinar con los protones para producir hidrógeno. Utilizando esta tecnología, los requerimientos de energía para producir hidrógeno pueden disminuirse al 10% comparado con la electrólisis del agua (Croese y col. 2014).

La reacción global inicia con el proceso de oxidación de la materia orgánica por los microorganismos, siendo la producción de hidrógeno por vía electroquímica:



Nota: Se generaliza a la materia orgánica en la reacción previa con el ion acetato.

El carbonato generado (HCO_3^-) reacciona con los protones liberados (H^+) para producir ácido carbónico que posteriormente se descompondrá en dióxido de carbono y agua.



Los electrones viajan al cátodo a través del circuito y los protones a través del medio, combinándose en el cátodo para generar hidrógeno.



En la Imagen 9 se muestra un esquema de este sistema.

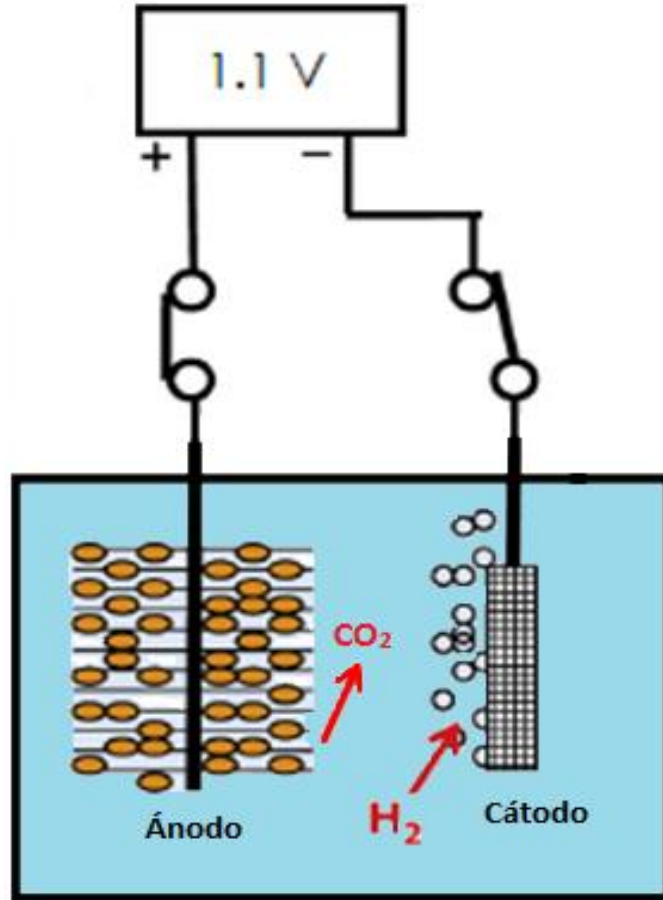


Imagen 9. Representación esquemática de una Celda de Electrólisis Microbiana. Tice y col (2014)

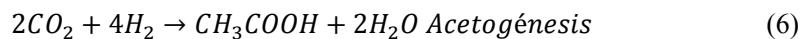
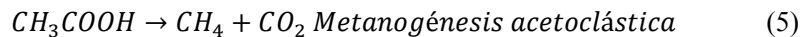
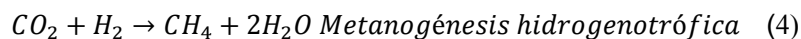


6. Metanogénesis y Uso de Membrana en la Celda de Electrólisis Microbiana

De manera independiente, en el cátodo se da una reacción microbiana por medio de las arquea metanogénicas presentes, las cuales son microorganismos estrictamente anaerobios que llevan a cabo la metanogénesis para generar metano.

La metanogénesis hidrogenotrófica es la última etapa de la digestión anaerobia a partir de la cual se obtiene metano, dióxido de carbono e hidrógeno; mientras que la metanogénesis acetoclástica obtiene el metano y el dióxido de carbono a partir del acetato proveniente de la acetogénesis (reacción entre el dióxido de carbono y el hidrógeno para generar acetato).

Las reacciones de cada una de las etapas mencionadas se presentan a continuación (Bitton, 2005):



La metanogénesis representa una limitante para la producción de hidrógeno en la Celda de Electrólisis Microbiana, ya que como se observa, las reacciones consumen el hidrógeno generado en el cátodo y lo convierten en metano.

En varios estudios se ha reportado que puede inhibirse la presencia de dichos microorganismos de diversas formas, siendo la principal el empleo de una membrana de intercambio iónico o aireando el cátodo durante ciertos intervalos de tiempo. Las membranas de intercambio iónico son utilizadas en electrolizadores de agua para prevenir que el oxígeno y el hidrógeno se combinen y reaccionen.

En este trabajo no se utilizó una membrana de separación, por lo cual se puede dar tanto la formación de hidrógeno como la de metano, dándose una competencia en la producción de estos. En el cátodo se da la producción de hidrógeno, mientras que en el ánodo se da la producción de dióxido de carbono, protones y electrones. Las membranas se han utilizado en la Celda de Electrólisis Microbiana para asegurar altas concentraciones de hidrógeno y para reducir el consumo del hidrógeno electrogenerado por las arquea metanogénicas en la cámara anódica. Algunos estudios han notado que la producción de hidrógeno en el cátodo se contamina por otros gases, como el dióxido de carbono producido en el cátodo, aun con el uso de la membrana de intercambio iónico. La presencia de la membrana tampoco evita la difusión del hidrógeno en la cámara del ánodo, ni la difusión de los protones entre los electrodos.

Call y col. (2008) mencionan que las membranas no son necesarias para la Celda de Electrólisis Microbiana, puesto que es posible alcanzar altas recuperaciones de hidrógeno en sistemas de cámara simple por varias razones:

1. El oxígeno no se produce en una MEC como en los electrolizadores de agua, y no hay necesidad de mantener la producción del gas en el cátodo separado del ánodo.
2. Aunque el hidrógeno producido en el reactor puede ser consumido por los microorganismos, se estima que si la velocidad de producción de hidrógeno es



suficientemente alta, entonces la baja solubilidad del hidrógeno en el agua permitirá altas recuperaciones.

3. La ausencia de membrana no afecta la densidad de corriente, esto con base en reportes en los que Celdas de Combustible Microbianas sin membrana tiene igual o más alta densidad de corriente comparado con los que emplean membranas catódicas, anódicas o de ultrafiltración.
4. Aunque pudiera perderse algo de hidrógeno, la reducción de los costos en el sistema debido a la carencia de membrana debe reducir el costo total del sistema y simplificar la arquitectura del reactor.



7. Arranque MEC, inoculación.

Al ser un sistema bio-electroquímico la MEC requiere inocularse para formar la bio-película en el ánodo. La mayoría de los estudios de MFC han usado mezclas de inóculo enriquecidos provenientes de sedimentos o aguas residuales, sin embargo algunos otros estudios han usado culturas puras usando *Geobacter sulfurreducens* únicamente. Los resultados mostraron una velocidad de producción similar de hidrógeno y recuperaciones parecidas para ambas configuraciones, estos perfiles taxonómicos sugieren que la mayoría de la población en el ánodo es enriquecida con microorganismos de la *Geobacter* sp. Al usar mezclas de microorganismos se aumenta la versatilidad con respecto al sustrato utilizado, se incrementa la robustez de sistema debido a la diversidad biológica y lo hace un sistema práctico, ya que el tratamiento de aguas residuales, por ejemplo, nunca será un proceso puro.

Sin embargo, una gran desventaja por usar un consorcio, es la presencia indeseada de la arquea metanogénica, como ya se ha mencionado combinan el CO₂ producido por las electroquímicamente activos con el hidrógeno generado por electrohidrogenesis para producir metano, reduciendo el hidrógeno producido y disminuyendo el rendimiento de la celda.

Existen tres formas principales para iniciar el funcionamiento de la MEC, de modo que se puede inocular:

- i. Directamente con lodos anaerobios con alto contenido orgánico,
- ii. Con un inóculo de otras celdas que se encuentren en funcionamiento, ya sean MEC o MFC
- iii. Montar los sistemas en un inicio como MFC, y cuando se establezca el sistema cambiar a modo MEC.



8. Microbiología de la MEC

Como ya se ha mencionado, los microorganismos electroquímicamente activos son los catalizadores en las Celdas de Electrólisis Microbianas; transfieren los electrones de la materia orgánica al ánodo por dos medios principalmente, utilizando los citocromos externos de la célula o por medio de nanocables, formando una bio-película en la superficie del ánodo.

La comunidad microbiana que se desarrolla en los sistemas bio-electroquímicos muestra una gran diversidad y generalmente depende de las condiciones utilizadas para colonizar la superficie del electrodo. Sin embargo, dentro de este grupo de microorganismos dominan las bacterias de tipo phylum Proteobacteria en las comunidades anódicas.

Los nanocables se descubrieron utilizando *Geobacter sulfurreducens*, particularmente este grupo prefiere el acetato como sustrato, ya que al utilizarlo se obtienen rendimientos de producción por encima del 90%. Un estudio realizado (Croese y col. 2014) mostró la presencia de varios microorganismos en el bio-cátodo, mayoritariamente los phylum *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacterias*.

Las culturas (más cercanas) encontradas en el bio-cátodo fueron: *Clostridium cylindrosporum*, *Desulfotomaculum sp.*, *Hydrogenophaga flava* y *Azonexus caeni*.

Solo pocos estudios describen la microbiología en la producción de hidrógeno en el bio-cátodo. La producción microbiana de hidrógeno involucra la hidrogenasa, la enzima que cataliza la reacción reversible de la ecuación (3).

Las hidrogenasas se clasifican de acuerdo a su sitio metálico (actividad redox). Los tres grupos de hidrogenasa son

- 1) Ni-Fe hidrogenasa, en el cual un subgrupo que contiene también selenio
- 2) Fe-Fe hidrogenasa,
- 3) Fe hidrogenasa.

La catálisis de la producción de hidrógeno se ha asociado principalmente con la hidrogenasa Fe-Fe y la oxidación del hidrógeno mayormente a la hidrogenasa Ni-Fe. Sin embargo, algunas hidrogenasas Ni-Fe, sobre todo las citoplásmicas pueden catalizar la producción de hidrógeno. La Fe hidrogenasa, que se encuentran en una gran cantidad de arquea metanogénicas, están involucradas en la formación de metano a partir del dióxido de carbono e hidrógeno, en lugar de la producción de hidrógeno. No hay información disponible sobre la hidrogenasa involucrada en la producción de hidrógeno en el bio-cátodo en la MEC.

Para el crecimiento de los microorganismos se requiere una fuente de carbono. El dióxido de carbono es una fuente de carbono de bajo costo pero a escala experimental en un laboratorio se utiliza acetato debido a que es un producto final de la fermentación oscura. El acetato es una fuente de carbono y energía preferida por sus altas eficiencias para los ánodos en una MFC y recientemente se ha mostrado que el acetato provee un arranque más rápido en el bio- cátodo en una MEC. El efecto en el uso de diferentes fuentes de carbono en el crecimiento y el desarrollo de la población activa microbiana no se ha estudiado con anterioridad.



9. Termodinámica de la Celda de Electrólisis Microbiana

La termodinámica de la Celda se puede evaluar en términos de la energía libre de Gibbs, la cual es la medida del máximo trabajo que puede derivarse de una reacción o el trabajo mínimo que debe suministrarse para llevar a cabo la reacción.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT * \ln(\Pi) \quad (7)$$

Donde Π es la constante de equilibrio; T la temperatura en kelvin y R la constante universal de los gases, 8.321 J/(mol*k). A condiciones estándar: $\Delta G = \Delta G^\circ$

Para procesos de conversión bio-electroquímicos resulta conveniente evaluar la reacción en términos de la fuerza electromotriz, la cual se expresa en volts. De acuerdo con la siguiente expresión, la fuerza electromotriz se relaciona con la energía libre de Gibbs así:

$$\Delta G = QE_{eq} = nFE_{emf}; E_{eq} = -\frac{\Delta G_r}{nF} \quad (8)$$

Donde Q es la carga transferida en la reacción (c); E_{eq} es el potencial de equilibrio de una reacción específica (V); n es el número de moles por reacción; y F es la constante de Faraday 96485.3 c/mole⁻.

El $\Delta G_r = 104.6 \text{ kJ/mol}$ (Rozendal, 2007) de la reacción global de la celda al ser positivo indica que se necesita suministrar energía al sistema.

$$E_{eq} = -\frac{\Delta G_r}{nF} = -\frac{104.6 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}}{(6e^-) * 96485.3 \frac{\text{c}}{\text{mole}^-}} = -0.180V \quad (9)$$

Ya que se trata de una electrólisis bio-catalizada, al ser el potencial negativo confirma que es necesario suministrar energía al sistema.

También se puede evaluar la celda en términos del potencial de la reacción anódica y del potencial de la reacción catódica a condiciones estándar con la ecuación de Nernst

$$E_{eq} = E^\circ - \frac{RT}{nF} * \ln(\Pi) \quad (10)$$

Si en el ánodo se degrada acetato a condiciones estándar, ocurre la reacción (1); el potencial anódico será:

$$E_{an} = E^\circ_{an} - \frac{RT}{8F} * \ln\left(\frac{[CH_3COO^-]}{[HCO_3^-]^2 * [H^+]^9}\right) \quad (11)$$

Mientras que la reacción catódica (3), con el potencial catódico:

$$E_{cat} = E^\circ_{cat} - \frac{RT}{2F} * \ln\left(\frac{pH_2}{[H^+]^2}\right) \quad (12)$$

En su tesis doctoral (Rozendal R. , 2007) presenta las siguientes condiciones para la oxidación del acetato en una MEC: una concentración de 1 g/L de acetato $[CH_3COO^-]$, (16.94 mM), una concentración 5 mM de carbonato $[HCO_3^-]$, un pH de 7 y la presión de H₂ de un bar.

Por lo que los potenciales serán a estas condiciones:

$$E_{an} = 0.188 - \frac{(8.31 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} * 298.15 \text{K})}{(8e^- * 96485.3 \frac{\text{c}}{\text{mole}^-})} * \ln\left(\frac{[0.01694]}{[0.005]^2 * [10^{-7}]^9}\right) = -0.298V \quad (13)$$



$$E_{cat} = 0 - \frac{\left(8.31 \frac{J}{mol \cdot K} * 298.15 K\right)}{\left(2 * 96485.3 \frac{C}{mole}\right)} * \ln \left(\frac{1}{[10^{-7}]^2}\right) = -0.414 V \quad (14)$$

Dando como potencial de equilibrio:

$$E_{eq} = E_{cat} - E_{an} = -0.414 - (-0.298) = -0.116 V \quad (15)$$

Cuando el pH es el mismo tanto en ánodo como en cátodo, el E_{eq} debe ser el mismo valor.



10. Potencial en la Celda de Electrólisis Microbiana vs Electrólisis del agua

En la Tabla 4 y Tabla 5, se presentan las reacciones de oxidación y de reducción para la electrólisis del agua y las reacciones de oxidación y reducción que se llevan a cabo en la Celda de Electrólisis Microbiana. Para la electrólisis del agua se indica una diferencia de potencial teórico de 1.2 V, aunque en la práctica se requiere de un sobrepotencial de al menos 0.4 V, dando un voltaje mínimo de 1.6 V para asegurar que se lleve a cabo la electrólisis del agua. En la Celda de Electrólisis Microbiana se requiere adicionar un voltaje por debajo del requerido para la electrólisis del agua para evitar la formación de oxígeno en el sistema. El sobrepotencial se requiere debido a las pérdidas que se generan en los sistemas y a las resistencias al flujo de la corriente (Rozendal, 2007).

Tabla 4. Electrólisis del agua, Rozendal (2007)

Electrodo	Reacción	E° (V)
Ánodo	$2H_2O \rightarrow 2O_2 + 4H^+ + 4e^-$	-0.83
Cátodo	$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	-0.414
	Potencial teórico	-1.24
	Potencial real	-1.60

Mientras que la MEC requiere una diferencia de potencial teórico de 0.116 V, en la bibliografía consultada se utilizan potenciales desde 0.2 hasta 1.8 V, se considera que al aplicar un potencial por encima del potencial teórico requerido para la electrólisis del agua no se asegura que no se de dicha reacción. Por lo anterior se seleccionó una diferencia de potencial de 1.1 V para la experimentación.

Tabla 5. Reacciones óxido/reducción en la MEC, Rozendal (2007).

Electrodo	Reacción	E° (V)
Ánodo	$CH_3COO^- + 4H_2O \rightarrow 2HCO_3^- + 9H^+ + 8e^-$	-0.296
Cátodo	$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	-0.414
	Potencial teórico	-0.116



11. Electroodos

La eficiencia de la transferencia de los electrones de los microorganismos al cátodo en los sistemas bio-electroquímicos posee una gran importancia en el proceso, ya que es el factor que limita el desempeño del ánodo y por lo tanto la generación de energía o productos químicos.

Se han realizado varios esfuerzos para mejorar la eficiencia en la transferencia de electrones y por lo tanto mejorar la actividad microbiana en el ánodo, modificando para ello los materiales del ánodo (en su mayoría siempre son de grafito o carbono) con especies electroquímicamente activas como las quinonas, manganeso 4^+ o rojo neutro (indicador orgánico, valoración ácido-base), que muestran un comportamiento redox rápido y reversible, funcionando como transportadores de electrones; o con especies altamente conductoras como partículas metálicas polímeros conductores y nanotubos de carbono que pueden mejorar las propiedades físicas del ánodo, así como la conductividad eléctrica, el área superficial específica y aumentan la bio-compatibilidad para el crecimiento microbiológico.

El material con el que se fabriquen los electrodos debe cumplir con las siguientes características:

- a) Poseer la mayor conductividad eléctrica posible
- b) Tener una alta área superficial
- c) No ser tóxicos
- d) Ser poco costosos
- e) Ser fáciles de fabricar
- f) Favorecer la adhesión
- g) Favorecer la bio-compatibilidad

En la Tabla 6 se presenta la revisión de los materiales de interés para este estudio utilizados previamente en otros estudios como recubrimiento.

Tabla 6. Materiales utilizados como recubrimiento en otros estudios

Recubrimiento del Electrodo	Objetivo del Estudio	Referencia
Platino	Altos rendimientos de producción de hidrógeno, alto costo del platino	Rader & Logan (2010)
Níquel metálico	Electrodeposición de óxido de níquel sobre hojas de acero inoxidable alcanzando recuperaciones del 52% de hidrógeno	Selembo y col. (2009)
	Electrodeposición de níquel metálico, minimizando la metanogénesis, en general con menos del 5% de metano en el gas producido	Hrapovic y col. (2010)
Óxido de Rutenio	Electrodeposición de óxido de rutenio en el ánodo de una MFC para aumentar el rendimiento de la celda	Zhisheng y col. (2012)



A. Filtro y cepillo de carbono, gran área superficial

Los materiales de carbono son el material más utilizado para los electrodos debido a su estabilidad química, su gran área superficial específica, su conductividad, su bio-compatibilidad, y bajo costo relativo. Se han empleado de manera tradicional carbono, grafito, carbón activado, carbono vítreo y nanotubos; en diferentes estructuras tales como placas, láminas, cepillo, varilla, papel, fieltro, tela, malla o partículas.

El fieltro de carbono puede llegar a tener áreas superficiales específicas desde $1\text{cm}^2/\text{g}$ hasta $3.87\text{ cm}^2/\text{g}$, y debido a la textura de entretejido que presenta genera una alta porosidad. Al utilizar el fieltro se puede aumentar el área superficial específica debido a que tiene un mayor espesor que permite la adhesión de las bacterias en su interior, aumentando el área de la bio-película.

El cepillo de grafito (brush) es una aglomeración de fibras de carbono, en esta presentación de carbono, se aumenta el área superficial del material, pudiendo alcanzar hasta 0.18 m^2 con una pequeña cantidad (Ruíz y col. 2014).

B. Malla Titanio, como alma o soporte de los electrodos

El titanio es un metal que se obtiene reduciendo a temperatura elevada el tetracloruro de titanio con magnesio. Es un elemento abundante en la naturaleza (5600 ppm en la corteza terrestre). Forma un recubrimiento de óxido autoprotector y es resistente a la corrosión. El titanio y sus aleaciones se caracterizan por su ligereza, su tenacidad y su resistencia a la oxidación. Tiene la propiedad de no ser tóxico, posee buena bio-compatibilidad y es seguro para el ambiente, y tiene la facilidad de reaccionar fácilmente en su superficie con grupos amina o carboxilo (Xiao y col. 2008). El titanio se utilizó como alma de los electrodos tanto para el ánodo como para el cátodo.

C. Níquel metálico y platino, materiales catódicos

El níquel tiene ciertas propiedades metalúrgicas que le hacen idóneo para numerosas aplicaciones industriales, como su elevado punto de fusión ($1453\text{ }^\circ\text{C}$), alta resistencia a la corrosión, presenta un comportamiento ferromagnético, tiene buenas propiedades catalíticas para la generación de hidrógeno, y es un elemento fundamental en la industria de los recubrimientos electrolíticos.

La mayoría de las MEC's utilizan platino aplicado a, por ejemplo, tela de carbono o papel de carbono como recubrimiento, pero el platino resulta muy costoso de modo que, las celdas se han limitado, en casi todos los casos, a un nivel laboratorio. La implementación de estas a escala piloto requiere reducción de costos, y en este caso el costo del platino representa un obstáculo para su empleo en las celdas, lo cual hace necesaria la búsqueda de otros materiales catódicos que posean propiedades similares pero que sean más económicos.

Se han estudiado diversas opciones como alternativa para el material catódico: Malla de titanio con platino como catalizador en celdas de una y dos cámaras, optar por una baja producción de hidrógeno (0.3 L/L/día) aplicando una diferencia de potencial de hasta 1.0 V ; papel de carbono con un catalizador con combinación de paladio y platino; reactores de flujo en continuo.

Muchos metales se han probado en electrolizadores de agua como catalizadores para la evolución del hidrógeno. La primera fila de los metales de transición puede que tengan aplicación, ya que son estables, abundantes en la naturaleza, económicos, y tienen una baja toxicidad. Los materiales más prometedores son el níquel y aleaciones tales como el acero



inoxidable, esto basado en su costo, su disponibilidad, bajos sobrepotenciales, y su estabilidad en soluciones.

En el caso del níquel, no todos sus compuestos son útiles, por ejemplo, al utilizar el óxido de níquel como electrocatalizador, el desempeño de la celda decreció con el tiempo debido a la reducción en la estabilidad mecánica del mismo óxido (Selembo y col. 2009). En otros trabajos se han enfocado en la electrodeposición de níquel metálico en un papel de carbono poroso, donde se demostró su aplicabilidad para la evolución del hidrógeno, los resultados mostraron una estabilidad excelente para la producción de H_2 ($5.4 L_{H_2}/L_{reactor}/d$) en comparación con cátodos de platino (Hrapovic y col. 2010).

De este modo, las partículas de níquel electrodepositadas sobre la superficie favorecen la evolución del hidrógeno de la misma manera que el platino, el cual resulta un material muy caro (Rozendal y col, 2008). En un estudio realizado Hrapovic y col. (2010), probaron el níquel y obtuvieron resultados muy similares, un aumento en la producción de hidrógeno para una celda de electrolisis microbiana.

D. Óxido de Rutenio, material anódico

El óxido de rutenio (RuO_2) es reconocido como un material importante para un amplio rango de aplicaciones electroquímicas, incluyendo su uso como electrocatalizador en celdas de electrólisis para la oxidación del monóxido de carbono y metanol, además de su uso para electrodos utilizados en supercapacitores. El nano-tamaño de las partículas del RuO_2 es de gran interés para esta aplicación sumado a su comportamiento redox rápido y reversible en un amplio rango de potencial, además de poseer una alta estabilidad química y una conductividad metálica favorable. Estas características resultan benéficas para su aplicación en ánodos de sistemas bio-electroquímicos.

Al día de hoy no hay muchos estudios conducidos a examinar la factibilidad de utilizar las nanopartículas de RuO_2 en ánodos bio-electroquímicos.

En el 2012 (Zhisgeng y col.) se presentó en un estudio el primer reporte de la evaluación del desempeño de una MFC equipada con RuO_2 como material para el ánodo. Impregnaron RuO_2 en fieltro de carbono por electrodeposición. Con lo anterior demostraron que la modificación con RuO_2 crea nanoestructuras y centros activos para incrementar tanto el área superficial específica como la cinética de transferencia de electrones.



12. Índices de rendimiento de la Celda de Electrólisis Microbiana

El rendimiento de los BES se puede evaluar con base en la remoción de la Demanda Química de Oxígeno cuando se trata de un sustrato complejo (Baranitharan y col. 2013) o directamente con la concentración de ácido acético (ácidos grasos volátiles) en la celda cuando se utiliza un sustrato sintético.

Cuando se realiza con base en la remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), es necesario determinar la eficiencia de remoción de DQO, en base en la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{DQO_0 - DQO_t}{DQO_0} \quad (16)$$

Siendo DQO_0 (mg/L) la concentración inicial y DQO_t (mg/L) la concentración al final durante cada período de alimentación. Para un sustrato complejo la eficiencia coulombica (CE) puede calcularse para cada período de alimentación como sigue:

$$CE = \frac{8 \int_{t_0}^{t_f} I dt}{F V_R \Delta DQO} \quad (17)$$

Siendo ΔDQO el cambio en la concentración de DQO (mg/L), I es la corriente (A), t es el cambio en el tiempo de t_0 a t_f (s), F es la constante de Faraday ($96,485 \text{ C/mole}^-$), V_R es el volumen del reactor, no importando si se trabaja en una sola cámara sin membrana o es el volumen de la cámara anódica cuando se trabaja con dos cámaras con la presencia de membrana de intercambio iónico. El número 8 utilizado en la ecuación (17) es una constante, basada en el peso molecular del oxígeno (32) y 4 electrones intercambiados por mol de oxígeno.

Cuando se evalúa la eficiencia con la medición directa de la concentración de ácido acético se utiliza la siguiente ecuación:

$$CE = \frac{\int_{t_0}^{t_f} I dt}{F b_s V_L \Delta c M_s^{-1}} \quad (18)$$

Donde Δc es el cambio en la concentración del sustrato alimentado al inicio y fin del ciclo (g/L), en este caso ácido acético, M_s es el peso molecular del sustrato (acetato, 59 g/mol) y b_s es el número de moles de electrones transferidos por mol de sustrato (4 mol e^- / mol sustrato).

El rendimiento catódico se determina con base en la recuperación de gas generado en el cátodo, comparando los coulombs consumidos para la producción electroquímica de hidrógeno con los coulombs que llegan al cátodo como intensidad de corriente:

$$r_{cat} = \frac{V_{H_2} b_{H_2} 2F}{V_m \int_{t_0}^{t_f} I dt} \quad (19)$$

Siendo V_{H_2} el volumen de hidrógeno producido (L), y V_m el volumen molar del gas (24.03 L/mol) a 20°C, y b_{H_2} es el número de moles de electrones transferidos por mol de hidrógeno (2 mol e^- / mol H_2).

La energía recuperada en la celda, se determina con base en la cantidad de energía producida como hidrógeno con respecto al consumo de electricidad (r_E), a la energía contenida en el sustrato r_s , y de ambas (r_{E+S}) como lo describen (Selembro y col. 2009). A continuación se presentan las ecuaciones para el cálculo de las eficiencias r_s , r_E y r_{E+S} ; en ambas ecuaciones se considera la resistencia aplicada y el potencial utilizado en los equipos (calentamiento o agitación).



$$r_E = \frac{W_{H_2}}{W_E} = \frac{n_{H_2} \Delta H_{H_2}}{\int_{t_0}^{t_f} (I E_{ap} - I^2 R_{ext}) dt + E_{equipos}} \quad (20)$$

Siendo W_{H_2} la energía contenida en el hidrógeno producido (kJ), W_E la energía suministrada por la fuente de alimentación (kJ); n_{H_2} la cantidad de moles de hidrógeno producido; ΔH_{H_2} el calor de combustión del hidrógeno (-285.83 kJ/mol) E_{ap} el potencial aplicado (V) en el intervalo de tiempo de t_0 a t_f ; R_{ext} la resistencia externa del sistema en caso de tenerla (Ω); $E_{equipos}$ el potencial utilizado por agitación o calentamiento.

$$r_S = \frac{W_{H_2}}{W_S} = \frac{n_{H_2} \Delta H_{H_2}}{n_S \Delta H_S} \quad (21)$$

Donde W_S es la energía contenida en el sustrato (kJ), n_S son las moles de sustrato consumidas y ΔH_S es el calor de combustión del sustrato (kJ/mol), para el caso del acetato -870.83 kJ/mol.

$$r_{E+S} = \frac{n_{H_2} \Delta H_{H_2}}{n_S \Delta H_S + \int_{t_0}^{t_f} (I E_{ap} - I^2 R_{ext}) dt + E_{equipos}} \quad (22)$$



13. Antecedentes de MEC sin membrana de intercambio iónico

En la Tabla 7 se presentan los principales estudios previos de Celdas de Electrólisis Microbianas en los cuales no se ha utilizado membrana de intercambio iónico. Se muestran el objetivo de cada estudio, los electrodos utilizados, la diferencia de potencial aplicado, el volumen del reactor, y el porcentaje de generación de hidrógeno.

En la mayor parte de estos estudios se utiliza como material de los electrodos carbono, debido a la gran área superficial del electrodo, favoreciendo con ello el crecimiento de la bio-película en el ánodo, que es donde se desarrolla la actividad microbiana de los microorganismos electroquímicamente activos.

Se observan valores entre el 62 y el 89.3% para los porcentajes de generación de hidrógeno, correspondiendo al 89.3% de recuperación de hidrógeno al uso de tubos de titanio recubiertos con platino. En general el volumen de los reactores varía de 28 a 500 mL, con el menor volumen de reactor se obtuvo un porcentaje del 78% de hidrógeno.

Otro factor de interés considerado en las Celdas de Electrólisis Microbianas es el voltaje aplicado. Como previamente se ha mencionado, la diferencia de potencial teórico aplicado para una MEC es de 0.116 V, es importante mencionar que dicho potencial aplicado no debe sobrepasar el potencial teórico requerido para la electrólisis del agua y que al mismo tiempo vence todas las resistencias presentes en el sistema; generándose un intervalo de 0.116 a 1.1 V para el potencial posible a aplicar a una Celda de Electrólisis Microbiana.

El potencial aplicado a las Celdas de Electrólisis Microbianas en estudios previos, va desde 0.6 hasta 1.8 V; es importante notar que para el estudio en el que se aplicaron 1.8 V no se encontró reporte del porcentaje de generación de hidrógeno. Aplicaron dicho voltaje considerando un sobrepotencial de la electrólisis del agua de 1.8 V, suponiendo que con dicho potencial no se lleva a cabo la electrólisis del agua y se vence la caída óhmica del sistema, es decir las resistencias internas que causan pérdidas de energía.



Tabla 7. Principales estudios previos de MEC sin membrana de intercambio iónico

Autor	Electrodos Utilizados		V	Volumen del reactor	Objetivo del Estudio
	Ánodo	Cátodo			
Hongqiang Hu, Yanzehen Fan, Hong Liu 2008	Tela de Carbono	Tela de Carbono	0.6 V	500 mL	Efecto del uso de un cultivo puro de <i>Shewanella oneidensis</i> y de un cultivo mixto, y del pH a 5.8 y 7.
Clauwaert Pete, Willy Verstraete 2008	Gránulos de grafito	Gránulos de grafito	0.8 V	256 mL	Metanogénesis en una MEC sin membrana de intercambio puede ayudar a disminuir el costo de construcción, y disminuir la resistencia óhmica, promoviendo los rangos de conversión en la MEC, minimizando el cambio de pH entre el ánodo y el cátodo.
Call Douglas, Logan Bruce 2008	Cepillo de grafito tratado con amonio	Tela de Carbono	0.8 V	28 mL	Demostración de que altas recuperaciones de hidrógeno se pueden alcanzar en una MEC sin membrana, reduciendo los costos del sistema y consiguiendo un diseño simple.
Wang Aijie, Liu Wenzong 2009	Cepillo de grafito tratado con amonio	Filtro de carbono	0.7 V	43 mL	La reducción en la generación de metano en una MEC se puede inhibir por tiempos cortos y utilizar altos voltajes, pero no la metanogénesis.
Guo Xuesong, Junxin Liu, Benyi Xiao 2010	Mallas de aleación de Ti/Ru	Mallas de aleación de Ti/Ru	1.8 V	300 mL	Investigar el incremento bio-electroquímico de la producción de hidrógeno y metano de lodos residuales de digestión anaerobia con el uso y sin el uso de una membrana de intercambio iónico.
Guo Xuesong, Liu Junxin 2012	Tubo de Titanio recubierto con platino	Tubo de Titanio recubierto con platino	0.7 V	400 mL	Operar la MEC a un voltaje de 0.6 V, cátodo sobre el ánodo, reduce la cantidad de metano y mejora el rendimiento del hidrógeno.
			1.0 V		
Ryan C. Tice, Younggy Kim 2014	Fibra de grafito	Acero inoxidable	0.8 V	37 mL	Control de la metanogénesis por la producción electrolítica de oxígeno.



Metodología

La metodología realizada en este trabajo se dividió en dos etapas:

1. Diseño y Construcción:
 - a. Pruebas preliminares – Selección del material del electrodo.
 - b. Fabricación bio-electrodos.
 - c. Caracterización bio-electrodos y bio-película.
 - d. Construcción MEC
 - e. Prueba de materiales

2. Operación – Solución sintética:
 - a. Caracterización solución sintética y del Inóculo.
 - b. Monitoreo de la Celda de Electrólisis Microbiana.
 - c. Determinación de la eficiencia del sistema.

1. Primera etapa, Diseño y Construcción

Para la etapa de Diseño y Construcción se realizaron pruebas preliminares para seleccionar el material de los electrodos con base en la bibliografía consultada, con lo que se eligieron los materiales para fabricar la celda. Con los materiales seleccionados se realizó la caracterización de los bio-electrodos, la bio-película, y finalmente se llevó a cabo la construcción de la MEC. Se realizó una comparación de los materiales utilizados en la Celda con los materiales de las celdas (MEC) que utiliza el grupo de trabajo GENOCOV en la Universitat Autònoma de Barcelona.



a) Pruebas Preliminares – Selección material del electrodo

Se realizaron pruebas preliminares para seleccionar el material con el cual se fabricaron los electrodos, los materiales a probar se determinaron con base a la literatura consultada. Las configuraciones evaluadas se presentan en la Tabla 8:

Tabla 8. Configuración de los materiales de los electrodos para las Pruebas Preliminares

MEC	Ánodo	Cátodo
MEC 1	Malla de titanio con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, cocido con hilo de poliamida.	Malla de titanio con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, cocido con hilo de poliamida.
MEC 2	Malla de titanio recubierto con óxido de rutenio, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con óxido de rutenio, cocido con hilo de poliamida.	Malla de titanio recubierto con óxido de rutenio, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con óxido de rutenio, cocido con hilo de poliamida.
MEC 3	Malla de titanio recubierto con óxido de rutenio, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con óxido de rutenio, cocido con hilo de poliamida.	Malla de titanio recubierto con níquel metálico, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con níquel metálico, cocido con hilo de poliamida.
MEC 4 - Testigo	Malla de titanio recubierto con óxido de rutenio, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con óxido de rutenio, cocido con hilo de poliamida. Sin aplicación de voltaje.	Malla de titanio recubierto con níquel metálico, con un trozo de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, recubierto con níquel metálico, cocido con hilo de poliamida. Sin aplicación de voltaje.

La selección se llevó a cabo con base en la generación de volumen de gas (volumen normalizado) y el porcentaje de remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) operando los reactores durante periodos de alimentación de 168 horas.

La medición de la generación de gas se realizó captando el gas generado por medio de probetas invertidas sumergidas en una solución de NaOH 6M con el indicador timoftaleína con el propósito de retener en la solución el dióxido de carbono producido en la celda. El color del indicador determina la saturación de la solución de hidróxido de sodio, cuando se satura el indicador se decolora la solución por lo que se requiere cambiar la solución. El volumen generado se normalizó (ANEXO 1).

El testigo utilizado como referencia durante toda la experimentación consistió en una celda con óxido de rutenio depositado sobre fieltro de carbono como ánodo y níquel metálico depositado en el fieltro de carbono como cátodo, sin la aplicación de ningún voltaje, en todo momento se alimentó y se mantuvo a las mismas condiciones que el resto de las celdas.

b) Fabricación bio-electrodos

Para elaborar los electrodos se cortaron trozos de malla de titanio y de fieltro de carbono de 5 x 9 cm, a ambos materiales se les dio un pretratamiento térmico a 450°C durante 30 minutos. Para el ánodo se empleó la técnica de electrodeposición para fijar el RuO_2 tanto para la malla de titanio como para el fieltro de carbono utilizando una solución precursora de RuCl_3 ; mientras que para el cátodo se realizó electrodeposición de níquel metálico tanto para la malla de titanio como para el fieltro de carbono. Posteriormente en ambos casos, se coció el fieltro sobre la malla de titanio utilizando hilo de poliamida, el cual está hecho de un polímero resistente al ataque químico, biológico y soporta el paso de corriente bajo las condiciones de operación de la celda.

La electrodeposición de níquel metálico (Hrapovic y col. 2010) se realizó con una fuente de poder, sobre la malla titanio y el fieltro de carbono, según fue el caso, con un voltaje de aproximadamente 4 V durante 10 minutos (Imagen 10). La solución del baño de níquel contenía 150 mM de sulfato de níquel, 25 mM de cloruro de níquel y 500 mM de ácido bórico. Posterior a la electrodeposición se dejó secar el material a temperatura ambiente durante 20 minutos, se realizó la electrodeposición y el secado para cada una de las caras del material por duplicado. Finalmente se lavaron los materiales recubiertos con agua para remover sales que pudieran quedar adheridas.



Imagen 10. Electrodeposición con níquel metálico sobre fieltro de carbono a 4 V

La electrodeposición de óxido de rutenio (Zhisheng y col. 2012) se realizó con una fuente de poder sobre la malla titanio y el fieltro de carbono, según sea el caso, con un voltaje aproximadamente 8 V durante 10 minutos (Imagen 11). La solución del medio contenía 0.05 M de cloruro de rutenio (III). Posterior a la electrodeposición se colocó el material a 450°C en una mufla durante 20 minutos para formar el óxido. Se realizó la electrodeposición y el secado a cada una de las caras del material por duplicado.



Imagen 11. Electrodeposición con RuCl_3 sobre filtro de carbono a 8 V

Se probó la distancia los electrodos con una solución de sulfato de sodio 0.05 M con un voltaje de aproximadamente 8 V durante 10 minutos. Los electrodos probados de esta manera se colocaron en Celda de Electrólisis Microbiana.



c) Caracterización bio-electrodos y bio-película.

- Microscopía electrónica de barrido.

Con la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés *Scanning Electron Microscopy*) se pueden obtener imágenes de alta resolución para analizar la morfología de la bio-película formada sobre el electrodo.

Con base en el artículo Croese y col. (2014) se realizó la microscopía electrónica de barrido. Se tomó muestra de cada uno de los electrodos (menos de 1 cm² del fieltro de carbono), tanto ánodo como cátodo, cuando las celdas ya estaban en funcionamiento (presencia de la bio-película). Las muestras de los electrodos fueron fijadas en 2.5% en peso de glutaraldehído durante dos horas a temperatura ambiente y lavadas dos veces con 10 X PBS (ANEXO 2). Posteriormente, las muestras se deshidrataron en una serie gradual de etanol (10%, 25%, 50%, 75%, 90% y dos veces al 100% durante 20 minutos para cada paso) y secadas a punto crítico (Departamento de Microscopía Electrónica de Barrido, Instituto de Biología, UNAM) en un desecador. Las muestras se recubrieron con oro y se examinaron en un microscopio electrónico de barrido (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación USAI, Facultad de Química, UNAM).

Adicionalmente se realizó la prueba de SEM con microanálisis por medio de Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS) para determinar, identificar y cuantificar la composición elemental de la muestras, específicamente para óxido de rutenio y níquel metálico depositado sobre cada electrodo, respectivamente. Para este análisis se cortó un trozo de 1 cm² de cada uno de los electrodos previamente preparados, finalmente se examinaron las muestras en un microscopio electrónico de barrido (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación USAI, Facultad de Química, UNAM).

- Determinación del área superficial del fieltro de carbono

Se determinó el área superficial del fieltro de carbono con el apoyo de la Unidad de Investigación en Catálisis (UNICAT), Facultad de Química, UNAM por medio de prueba BET con nitrógeno. El método para determinar el área superficial está basado en la adsorción y condensación del N₂ en estado líquido. La muestra en un inicio recibe un pretratamiento a 270°C en vacío mecánico, y después se enfría a 77K en un contenedor de nitrógeno líquido. Se incrementa gradualmente la presión parcial del nitrógeno hasta que la cantidad de N₂ absorbido llegue al equilibrio.

Cada molécula de N₂ ocupa un área superficial de 0.162 nm², con la medición del número total de moléculas en la monocapa se calcula el área superficial, a partir de la ecuación de BET (Brunauer, Emmet and Teller) la cual describe la relación entre el volumen adsorbido a una presión parcial dada y el volumen de la monocapa:

$$\frac{P}{V(P^0-P)} = \frac{(C-1) P}{V_m C P^0} + \frac{1}{V_m C} \quad (23)$$

Donde P es la presión parcial del N₂, P⁰ es la presión de saturación a la temperatura dada, V es el volumen adsorbido a la presión P, V_m es el volumen adsorbido de la monocapa y C es la constante que relaciona el calor de adsorción de la primera capa con el calor liberado al formarse la segunda capa y las subsecuentes capas.

- Voltamperometría Cíclica.

La voltamperometría cíclica (CV, por sus siglas en inglés *Cyclic Voltammetry*) es una técnica basada en la realización de un barrido triangular de potencial, iniciando en un potencial E_i hasta llegar a un potencial E_r y retornar de nuevo al potencial inicial, o bien a un segundo potencial diferente. Al aplicar el barrido triangular de potencial y registrar la variación de la intensidad respecto al voltaje aplicado, se obtiene un voltamperograma que será de gran utilidad para determinar el proceso de transferencia de electrones.

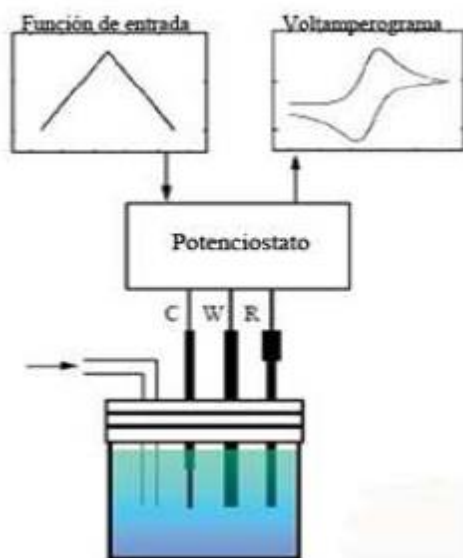


Imagen 12. Esquema principio de la Voltamperometría Cíclica. Ibañez & Abad (2010)

Se utilizó un potenciostato, marca epsilon operado por software, en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, CIDETEQ, Querétaro.

Se llevaron muestras de los electrodos preparados en el laboratorio, tanto el ánodo como el cátodo. El ánodo de fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio y el cátodo de fieltro de carbono recubierto con níquel metálico, ambos electrodos con biopelícula formada. Se probaron los electrodos en un potenciostato en un barrido desde -1.1 a 1.1 V con una rapidez de barrido de 100 mV/s, utilizando un electrodo de referencia de cloruro de plata saturado para buscar la posible respuesta redox de la bio-película, y de los recubrimiento de óxido de rutenio y níquel metálico tanto del ánodo como del cátodo.

Las pruebas realizadas fueron (un voltamperograma por cada apartado):

1. Filtro de carbono recubierto con óxido de rutenio con la bio-película.
2. Filtro de carbono recubierto con óxido de rutenio.
3. Filtro de carbono recubierto con níquel metálico con la bio-película.
4. Filtro de carbono recubierto con níquel metálico.
5. Filtro de carbo solo.

Se realizó una corrida para cada prueba utilizando como electrolito la misma solución anaerobia de la MEC alimentada con acetato de sodio. Se cuidó mantener el pH entre 8 y 9, ya que es el pH al que se encuentran las celdas para no dañar la bio-película.

d) Construcción de la Celda

La celda se montó utilizando un recipiente de plástico con un volumen efectivo de 1 L. Se colocaron 140 mL (14% del volumen total de la celda) de lodos anaerobios provenientes de un proceso de tratamiento por digestión anaerobia de una industria cervecera, los cuales previamente se centrifugaron y se licuaron. Se colocaron en la celda junto con 0.5 mL de solución de nutrientes (ANEXO 3) y se completó el volumen a 1 L con agua destilada. Los electrodos se atornillaron a la tapa y posteriormente se selló el sistema. Se conectó la celda a la fuente de poder para suministrar 1.1 V, se mantuvo el sistema a agitación constante para favorecer la transferencia de masa dentro del sistema y se conservó a 35°C (temperatura mesofílica) en baño María utilizando una parrilla de calentamiento con agitación. La formación de la bio-película se dio entre los primeros 7 y 15 días. Cuando se forma la bio-película comienza la generación de gas (arranque de la MEC). En la Imagen 13 se presenta la imagen de los bio-electrodos fabricados. Es importante recalcar que el sistema nunca se purgó con nitrógeno o con ningún otro gas, por lo cual había presencia de oxígeno en los sistemas. Se utilizó pegamento de silicón para sellar los sistemas.

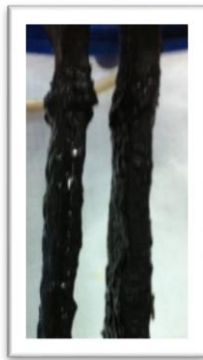


Imagen 13. Bio-electrodos utilizados

La celda contó con una manguera insertada en la tapa (de tipo venoclisis) para capturar el gas generado hacia las probetas con la trampa para el dióxido de carbono (Imagen 14). También tuvo un puerto para alimentar la celda y tomar muestra. La celda se alimentó con una relación del 30% de carbono utilizando 4.91 g de acetato de sodio. La alimentación en un inicio fue cada 168 horas (MEC 1), posteriormente se redujo el ciclo de alimentación a 48 horas (MEC 2).

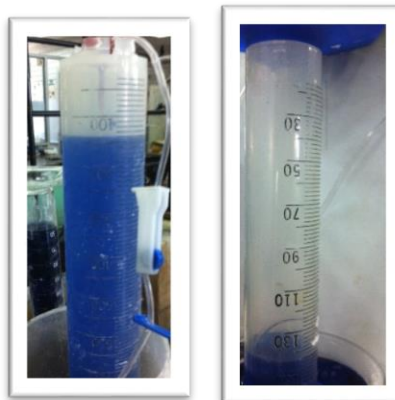


Imagen 14. Probeta invertida para captar el gas generado con trampa de CO₂: (izquierda) Probeta de 1 L, (derecha) Probeta de 250 mL.



e) Comparación materiales (GENOCOV)

Se realizó la comparación con los materiales utilizados en las Celdas de Electrólisis Microbianas del grupo de trabajo GENOCOV en la la Universitat Autònoma de Barcelona. GENOCOV: cepillo de carbono, “*brush*” para el ánodo y tela de carbono pintado con platino para el cátodo.

Fabricación de los electrodos:

Para el ánodo

- Se utilizó *brush*: un cepillo de fibra de carbono (20 mm de diámetro x 25 mm de largo; 0.18 m² de área superficial, fibras de 7.2 μm de diámetro; PANEX 33 160k, ZOLTEK) unidas a un alambre de titanio de 2 mm de diámetro.
- Y se utilizó un trozo de fieltro de carbono con recubrimiento de óxido de rutenio (previamente preparado como se ha mencionado anteriormente) de 2.5 x 1.5 cm.

Para el cátodo

- Se utilizó un trozo de tela de carbono circular de 5 cm de diámetro, el cual se recubrió con una solución de platino (0.5 mg Pt/cm², Electrochem Inc., Estados Unidos) del lado interno. La solución de platino se preparó mezclando la suspensión de platino (Pt/C) con agua desionizada (4.15 μL/cm), usando bolas de vidrio de borosilicato y un vórtice. Después se adicionaron 2-propanol (16.7 μL/cm², Sigma-Aldrich) y Nafion (33.4 μL/cm²-Sigma-Aldrich) hasta obtener una pasta y la solución se mezcló de nuevo. La pasta obtenida se aplicó a la tela de carbono utilizando un pincel. Finalmente el revestimiento se dejó secar durante 24 horas.
- Y se utilizó un trozo de fieltro de carbono de 2.5 x 1.5 cm recubierto con níquel metálico (previamente preparado como se ha mencionado anteriormente).

Construcción de las celdas:

- Se construyeron dos MEC (MEC A y MEC B) con un volumen de 66 mL: utilizando 32 mL del inóculo de una MFC (la cual tenía aproximadamente 4 meses en operación la cual se nombró MFC_A), 2.56 mL de una solución 2.5g/L de acetato de sodio (como alimento) y 32 mL del medio preparado (ANEXO 7). Ambas celdas, la MEC A y la MEC B, se construyeron utilizando tela de carbono recubierta con platino para ambos cátodos, para la MEC A *brush* para el ánodo y para la MEC B fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio.

Para las celdas en modo MEC se utilizaron celdas construidas con placas de acrílico de 0.5 cm de espesor selladas a presión con tornillos sobre una placa de silicón de 5 x 5 cm y un aro de hule para sellar herméticamente las celdas como se muestra en la Imagen 15 (Derecha), resultando celdas de forma rectangular de 13 cm de largo, y 5 cm de ancho y alto, manteniendo 6 cm de separación entre los electrodos. Las celdas contaban con 4 orificios de 1 cm de diámetro para colocar tapones de silicona que facilitaron la toma de muestra, la colocación del electrodo de referencia de cloruro de plata, y la colocación de los electrodos sosteniéndolos en dichos tapones de silicona con alambre de titanio como se muestra en la Imagen 15 (Izquierda), también se contó con un tubo de vidrio acoplado a la celda para colocar una manguera de plástico rígido para enviar el gas generado a la bolsa de captura de gas (Cali-5-Bond, Ritter) o a las probetas invertidas.

- Se construyeron otras dos MEC (MEC C y MEC D). Para ambas se utilizó fieltro de carbono recubierto con níquel metálico para el cátodo, *brush* para el ánodo de la

MEC 3 y fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio para el ánodo de la MEC 4. Para las celdas en modo de MFC se utilizaron celdas construidas de acrílico con placas de acrílico de 0.5 cm de espesor selladas a presión con tornillos, resultando celdas de forma rectangular de 7 cm de largo (Imagen 15), y 5 cm de ancho y alto, manteniendo 2 cm de separación entre los electrodos. Las celdas contaban con 2 orificios de 1 cm de diámetro para colocar tapones de silicona que facilitarían la toma de muestra y la colocación de los ánodos sosteniéndolos en dichos tapones de silicona con alambre de titanio.

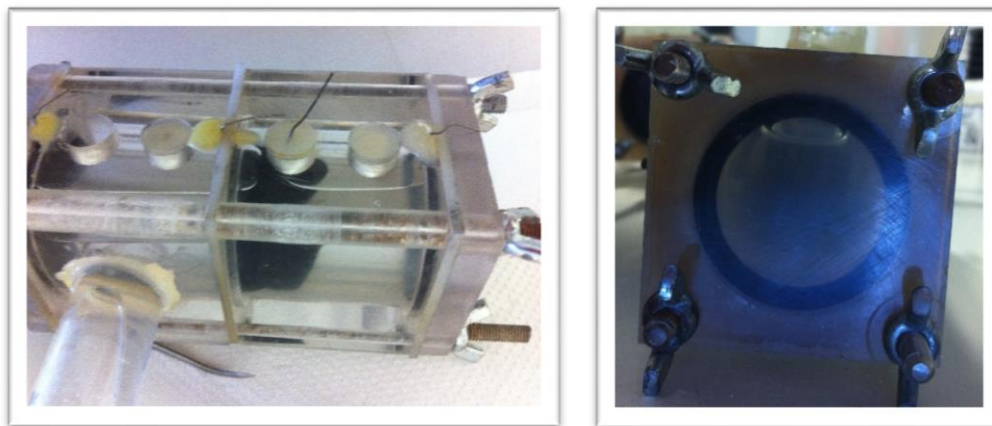


Imagen 15. (Izquierda) Orificios con tapones de silicona para facilitar la manipulación y funcionamiento de las celdas, (Derecha) Vista del lado de una de las celdas mostrando el sellado hermético.

Operación

- Para la MEC A y la MEC B en un inicio se dejaron las celdas durante 8 días, considerando este periodo como etapa de arranque de las celdas; posteriormente se operaron las celdas durante 40 días, generando 10 ciclos de operación, dando un total de 48 días de funcionamiento de las celdas.
- La MEC C y la MEC D, como ya se ha mencionado, en un inicio se montaron como MFC, permanecieron durante 8 días sin alimentación (considerado como etapa de arranque de la celda) después de 24 días se cambiaron a MEC, es decir que operaron durante 16 días como MFC resultando en 4 ciclos de operación. En la modalidad MEC se operaron durante 24 días, resultando 5 ciclos de operación.

Tanto en modo MFC como MEC, se conectaron las celdas a una fuente de poder (TTI AL355TP / HQ Power PS-23023) aplicando una diferencia de potencial aproximada de 0.8 V, y en todos los casos se purgaron las celdas después de la alimentación con gas nitrógeno para evitar la presencia de oxígeno. Durante los últimos dos ciclos de operación de todos los sistemas en modalidad MEC (ciclo 9 y ciclo 10 para la MEC A y la MEC B, y ciclo 4 y ciclo 5 para la MEC C y la MEC D) se cambió la diferencia de potencial a 0.6 y 1.1 V, respectivamente. Para el modo MFC se utilizó una resistencia de 1000 Ω y para el modo MEC una resistencia de 12 Ω .

Alimentación.

Al inicio de cada ciclo se alimentó con 2.56 mL de una solución 25 g/L de acetato (1.06 g de acetato), y se mantuvo solo la mitad del inoculo del ciclo anterior de la celda, y se colocó inoculo nuevo, del cual la mitad provenían de la MFC utilizada al inicio y la mitad



del medio preparado "GENOCOV". Tanto en modalidad MEC como MFC se empleó el mismo método de alimentación, solo cambio el volumen, ya que en MFC se tenía un volumen de celda de 32 mL, y en MEC de 66 mL. En la Tabla 9 se presenta el resumen de volúmenes utilizados para cada sistema durante la alimentación.

Tabla 9. Volúmenes utilizados para la alimentación de las celdas

Volumen (mL)	MEC	MFC
Total de la celda	66	32
Inoculo mantenido del ciclo anterior	32	15
Inoculo adicionado de MFC _A	16	7.5
Medio "GENOCOV" adicionado	16	7.5
alimentado de acetato, 25 g/L	2.56	2.56

Es importante mencionar que para todos los casos se utilizó PBS (Solución buffer salina, control de pH) y BES₂ (2-Bromoetansulfonato) como se menciona en el ANEXO 8, para inhibir la acción metanogénica.

Monitoreo de las celdas

Se monitoreo la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's) en un cromatógrafo FID (Detector de ionización de llama) de la marca Agilent Technologies utilizando nitrógeno como gas acarreador, y el pH, al inicio y final de cada ciclo.

El inicio y fin de cada ciclo se estableció con respecto a la caída del voltaje registrado en el ánodo, las celdas se monitorearon en continuo cada 10 minutos durante todo el tiempo de operación, registrando el voltaje a través de la resistencia externa tanto para la modalidad MEC como MFC, utilizando una tarjeta de adquisición de datos de 16-bit (Advantech PCI-1716) conectado a una computadora con el software LabWindows CVI (2010-2014), llamado Addcontrol, para adquisición de datos. Además se monitoreo el pH al inicio y fin de cada ciclo.

En algunos casos se obtuvo producción de gas, el cual se recolectó en una bolsa para captura de gas de 100 mL, la composición se determinó utilizando el cromatógrafo de gases Agilent Technolgies en el modo TCD (Detector de conductividad térmica) utilizando argón como gas acarreador, y para la determinación del volumen se empleó el "método de la bolsa de gas" de (Ambler & Logan, 2011) (ANEXO 8); aunque en la mayoría de los casos se utilizó el método de la probeta invertida empleado anteriormente pero sólo con agua sin NaOH.

Voltamperometría cíclica.

Se realizaron voltamperometrías cíclicas de cada una de las celdas en modalidad MEC, en todos los caso se utilizó el cátodo como electrodo de referencia y el ánodo como electrodo de trabajo, utilizando un sistema Autolab Potenciostat, y la solución de cada una de las celdas como electrolito, respectivamente. Las pruebas se corrieron directamente en las celdas, para iniciar las pruebas se dejaron a circuito abierto las celdas (sin estar conectadas a la fuente de poder) durante 40 minutos antes de realizar las pruebas.

Se conectó cada una de las celdas al equipo y se registró el valor de circuito abierto para cada celda, dicho valor fue el utilizado como potencial de inicio y se corrieron las pruebas a 0.001 V/s.



Eficiencia

Con los datos recabados se calculó la eficiencia coulombica de las celdas. Debido a que no hubo producción de gas en todas las celdas no fue posible calcular el rendimiento catódico para todos los sistemas. El cálculo se realizó para solución sintética (acetato) con el cambio de concentración de ácidos grasos volátiles (ácido acético) como se muestra en el apartado *Índices de rendimiento de la Celda de Electrólisis Microbiana* en la sección del marco teórico del presente trabajo.



2. Segunda etapa, Operación – Solución sintética

Para la etapa de operación se alimentó la Celda de Electrólisis Microbiana con acetato de sodio, con una relación del 30% de carbono; también se llevó a cabo una caracterización del acetato de sodio alimentado y de los lodos anaerobios empleados como inóculo del sistema.

a) Caracterización de la solución sintética y del Inóculo utilizado

La caracterización se realizó con base a la Demanda Química de Oxígeno (DQO), el Carbono Orgánico Total (COT), los Sólidos Totales (ST), los Sólidos Volátiles (SV) y el pH, tanto del inóculo como de las soluciones sintéticas utilizadas, los lodos anaerobios y el acetato de sodio, respectivamente.

La DQO se determinó como se indica en el ANEXO 4. En este caso se realizaron diluciones 1:10 ó 1:25, ya que la curva de calibración para determinación de DQO realizada sólo admitía concentraciones en el rango de 20 a 900 mg/L; y los valores obtenidos se encontraron por encima del límite establecido para el uso de la técnica. Se utilizó un espectrofotómetro para determinar la absorbancia de las muestras y con la curva de calibración se obtuvo el valor de DQO en mg/L.

El Carbono Orgánico Total se determinó con un equipo Shimadzu para determinación de COT (ANEXO 4). Se realizaron diluciones 1:1000 para evitar un posible daño en el equipo debido a la gran cantidad de sólidos suspendidos en las muestras. Las lecturas fueron dadas en mg/L.

Tanto los SV como los ST se determinaron por diferencia de peso (ANEXO 6). El pH se midió con un potenciómetro.

b) Monitoreo de la Celda de Electrólisis Microbiana

El monitoreo de la celda se llevó a cabo en el periodo de alimentación de 168 horas, en el periodo de alimentación de 48 horas y en la celda testigo (sin aplicación de voltaje), con respecto al volumen de gas generado, la composición del gas generado (Cromatografía de gases), DQO, ST, SV, pH, intensidad de corriente y eficiencia de recuperación de hidrógeno en cada sistema.

La determinación de la DQO, los sólidos y el pH se realizó de la misma forma que la caracterización de la solución sintética.

La composición del gas generado se determinó en un cromatógrafo con detector de conductividad térmica de la marca Shimadzu, y la cantidad de gas midiendo su volumen por medio de probetas invertidas sumergidas en una trampa para CO₂, el volumen medido se normalizó (ANEXO 1). Se midió la intensidad de corriente de cada celda con un multímetro o por el valor mostrado en la fuente de poder.

c) Eficiencia de la Celda de Electrólisis Microbiana

La eficiencia de recuperación de hidrógeno de la celda se determinó como se explica en el apartado *Índices de rendimiento de la Celda de Electrólisis Microbiana* del presente trabajo.

RESULTADOS

1. Primera etapa, Diseño y Construcción

a) Pruebas Preliminares – Selección material del electrodo

A continuación se presentan los resultados obtenidos para las pruebas preliminares, por medio de dos gráficos: Volumen normalizado de gas generado y el porcentaje de remoción de DQO. El ciclo utilizado para dichas pruebas fue una alimentación cada 168 horas con las celdas ya en funcionamiento, es decir después del período de arranque (formación de la bio-película).

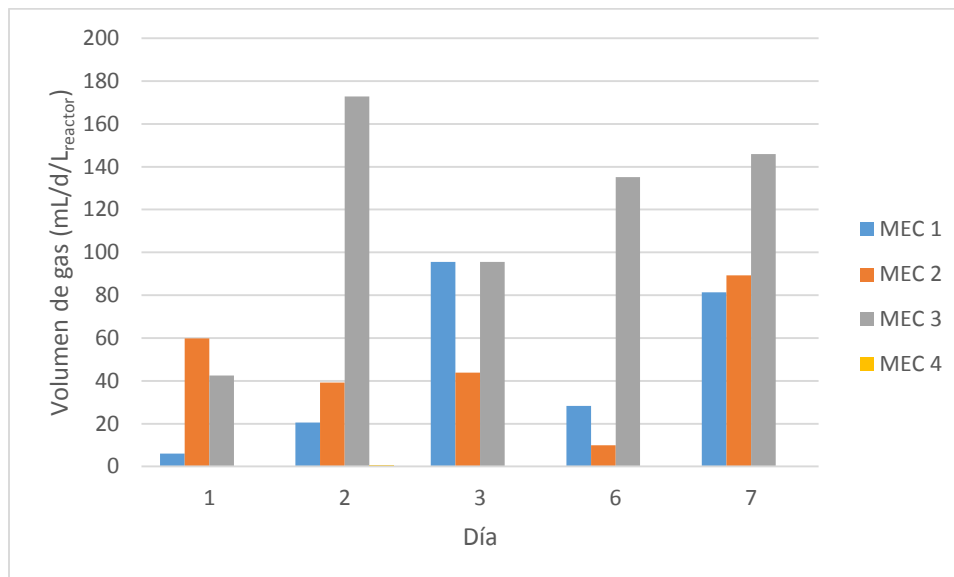


Imagen 16. Volumen normalizado de gas generado durante las pruebas preliminares. Configuración correspondiente a la Tabla 8

En la Imagen 16 se observa una generación de gas mayor para la MEC 3, la cual corresponde a la celda con óxido de rutenio recubriendo el ánodo y níquel metálico recubriendo el cátodo con un promedio de 145.85 mL/d/L_{reactor}; seguido por la MEC 2 con el recubrimiento con óxido de rutenio en ambos electrodos, con un promedio de 89.21 mL/d/L_{reactor}; para la MEC 1 se tuvo un promedio de 81.42 mL/d/L_{reactor} la cual fue la celda en la que los electrodos no tuvieron ningún recubrimiento. El testigo obtuvo una producción insignificante en comparación con las celdas, con un promedio tan sólo de 0.14 mL/d/L_{reactor}). Los resultados anteriores se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Volumen puntual normalizado para las pruebas preliminares

V puntual Normalizado (mL/L _{reactor})				
día	MEC 1	MEC 2	MEC 3	MEC 4
1	6.02	59.83	42.48	0
2	20.53	39.29	172.76	0.71
3	95.58	43.89	95.58	0
6	28.32	9.91	135.23	0
7	81.42	89.2	145.85	0
Promedio	46.38	48.43	118.38	0.14

Se normalizó el volumen generado con base al ANEXO 1, considerando la presión atmosférica de la Ciudad de México de 0.77 atm y una temperatura ambiente de 25°C.

Con base en la remoción de la DQO calculada con la Ecuación (16), se obtiene la Imagen 17. La mayor remoción corresponde a la MEC 3, con la configuración de óxido de rutenio depositado en el fieltro de carbono para el ánodo y níquel metálico para el cátodo. Para el testigo, MEC 4, también se obtiene un porcentaje de remoción de DQO significativo por lo que se determina que hubo pérdidas del gas generado tal vez debido a fugas en el sistema.

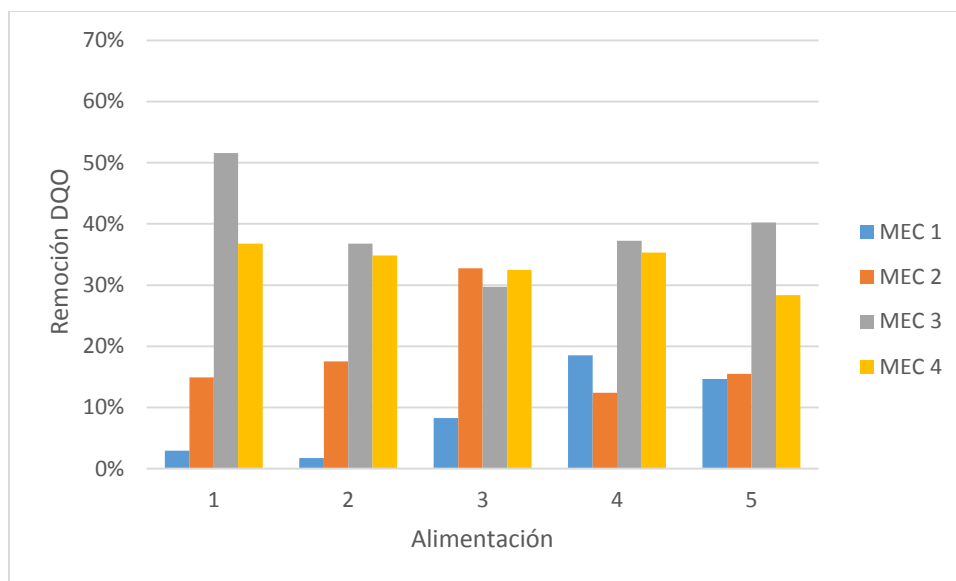


Imagen 17. Porcentaje de remoción de DQO durante las pruebas preliminares

La MEC 3 obtuvo el mayor porcentaje de remoción de DQO, en casi todos los casos, con un promedio del 39% de remoción. Para el caso del testigo el promedio de remoción de DQO fue del 33%; mientras que para la MEC 1 y la MEC 2, el porcentaje de remoción fue de apenas 9 y 18%, respectivamente. En la Tabla 11 se presentan los promedios para dicha remoción, teniendo la menor desviación estándar (DS) para MEC 4, el testigo.



Tabla 11. Porcentaje de Remoción DQO - Pruebas Preliminares

Alimentación	MEC 1	MEC 2	MEC 3	MEC 4
1	2.92%	14.92%	51.58%	36.80%
2	1.75%	17.55%	36.79%	34.85%
3	8.27%	32.77%	29.70%	32.49%
4	18.52%	12.40%	37.23%	35.33%
5	14.67%	15.50%	40.24%	28.36%
Promedio	9.23%	18.63%	39.11%	33.56%
DS	0.065	0.073	0.071	0.029

Con los resultados de las pruebas preliminares se seleccionó la MEC 3, óxido de rutenio depositado en el ánodo y níquel metálico depositado en el cátodo, como celda para la etapa de operación de la Celda de Electrólisis Microbiana con el sustrato sintético, acetato de sodio.

b) Fabricación bio-electrodos

En las siguientes imágenes se presenta una imagen de los electrodos en funcionamiento y de los electrodos recubiertos previos a su introducción a la celda.



Imagen 18. Imágenes de los electrodos: (izquierda) electrodos con recubrimiento sin bio-película, al frente malla de titanio y fieltro de carbono recubiertos con níquel metálico, (derecha) electrodos en funcionamiento con la bio-película formada, izquierda ánodo

Se observa una bio-película de mayor espesor sobre el ánodo de la derecha de la Imagen 19, lo que indica una probable mayor presencia de microorganismos electroquímicamente activos, los cuales son los que favorecen la degradación de la materia orgánica.



Imagen 19. (Izquierda) Malla de titanio recubierta con óxido de rutenio, (Derecha) Malla de titanio recubierta con níquel metálico

La electrodeposición de óxido de rutenio le da una coloración negra a la malla de titanio; mientras que el recubrimiento con níquel metálico le brinda un color gris tanto a la malla como al fieltro de carbono. Como se puede observar en la Imagen 20.



Imagen 20. (Izquierda) Filtro de carbono recubierto con óxido de rutenio, (Derecha) Filtro de carbono recubierto con níquel metálico

Previo a la introducción de los electrodos en la celda se probaron los electrodos con una solución sulfato de sodio 0.05 M, resultando distancias favorables para el sistema de 2 y 3 cm de separación entre los electrodos, esta distancia se mantuvo colocando hilo de poliamida en la parte inferior de los electrodos para que se mantuviera la distancia y se permitiera el flujo de electrones sin producir corto del circuito.

c) Caracterización bio-electrodos

a. Microscopía electrónica de barrido con microanálisis

Se obtuvieron las imágenes de microscopía electrónica de barrido por medio de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), Facultad de Química. A continuación se presentan las imágenes obtenidas a una escala de $10\mu\text{m}$, para la bio-película formada en el ánodo y del cátodo:

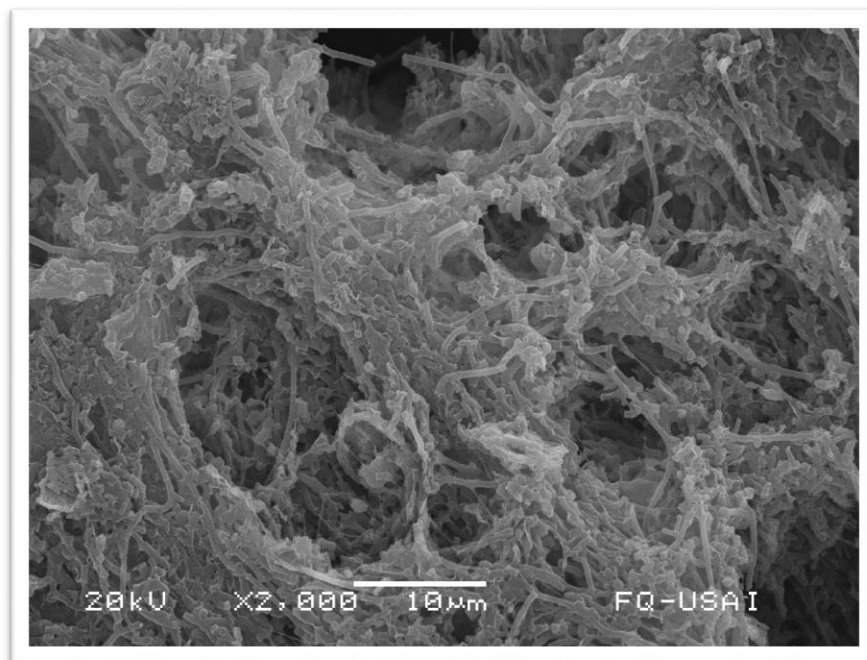


Imagen 21. Imagen SEM de la bio-película formada en el ánodo de la MEC

En la Imagen 21 se observa una mayor presencia de bio-película formada en la superficie del material, en este caso el ánodo. Para la MEC la formación de la bio-película en el ánodo es favorable ya que justifica la acción de los microorganismos exoelectrógenos en el sistema.

Para el cátodo se alcanza a observar el material del electrodo en la Imagen 22, lo que indica una menor formación de bio-película, lo cual involucra una menor proliferación de arqueas metanogénicas, sobre su superficie, lo cual puede favorecer la producción de hidrógeno sin una transformación posterior a metano.

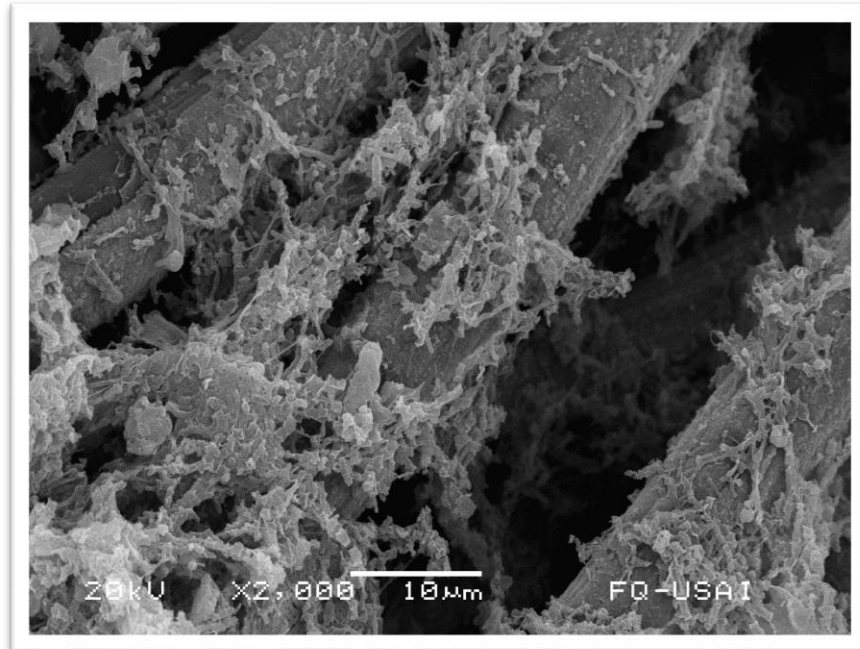


Imagen 22. Imagen SEM de la bio-película formada en el cátodo de la MEC

También se realizaron pruebas de microanálisis EDS para cada uno de los electrodos, en el ánodo se caracterizó principalmente para rutenio y en el cátodo principalmente se caracterizó para níquel.

Con las 20 pruebas realizadas al material se obtuvo el promedio del porcentaje presente en la muestra para el ánodo. En la Imagen 23 se presenta el espectro obtenido de la prueba EDS, donde se observan todos los elementos presentes en el material: hierro, aluminio, silicio, azufre, rutenio, calcio, titanio, cromo y manganeso.

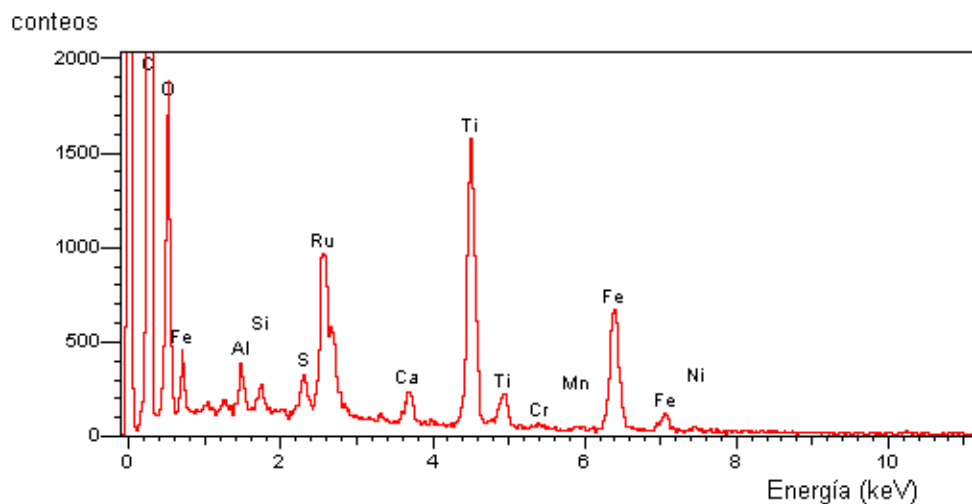


Imagen 23. Espectro EDS obtenido del filtro de carbono recubierto con óxido de rutenio

En la Imagen 24 se presenta la proporción de cada uno de los elementos para el filtro de carbono recubierto con óxido de rutenio, el elemento que se encuentra en mayor proporción es

el hierro, seguido del rutenio con tan solo un 10%, lo que indica que probablemente la solución empleada para recubrir el material se encontraba gastada.

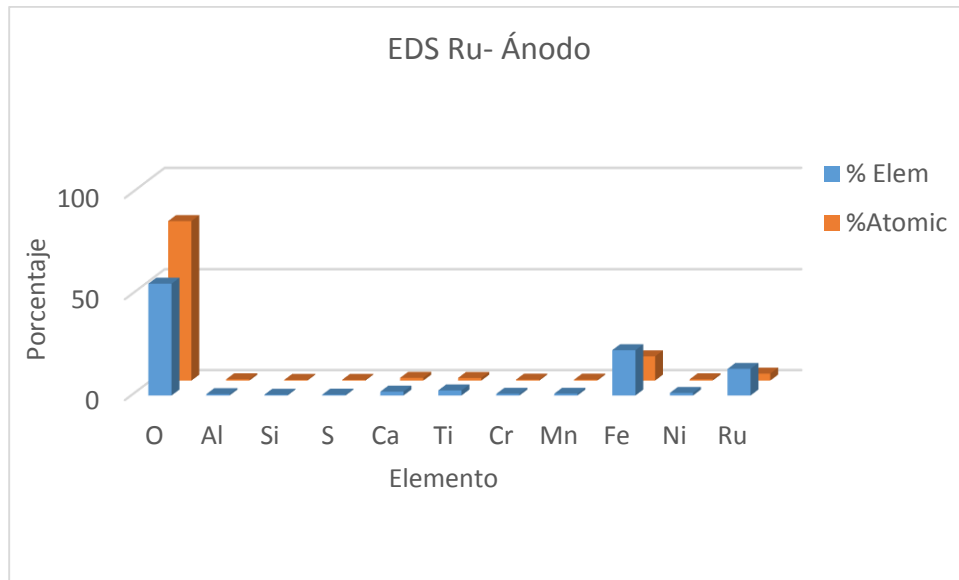


Imagen 24. Resultados microanálisis, EDS para el filtro de carbono recubierta con óxido de rutenio

En la Imagen 25 se presenta el espectro obtenido para la prueba EDS realizada al filtro de carbono, con la presencia de níquel, azufre y cloro.

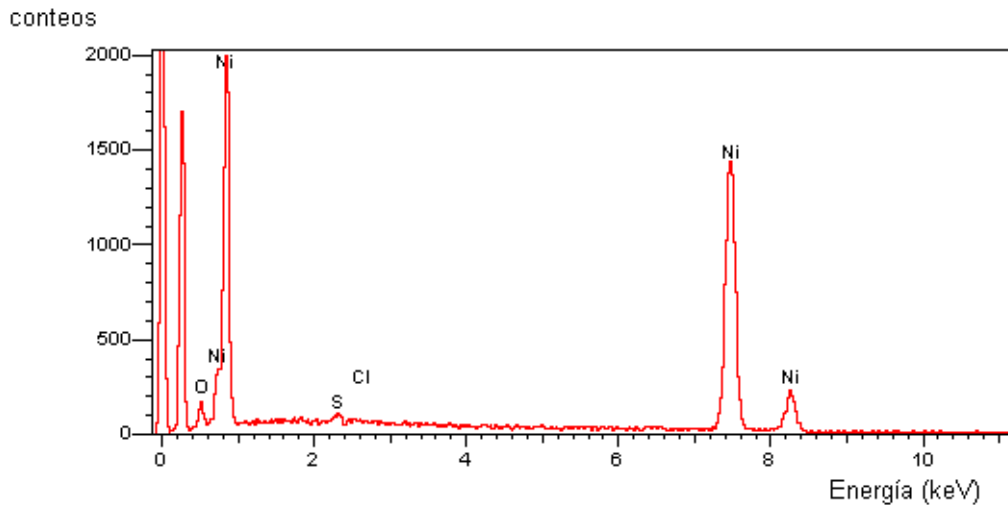


Imagen 25. Espectro EDS obtenido del filtro de carbono recubierta con níquel metálico



En el caso del cátodo se realizaron 25 pruebas al material, obteniendo los promedios presentados en la Imagen 26 . Se comprueba la mayor presencia de níquel en el material.

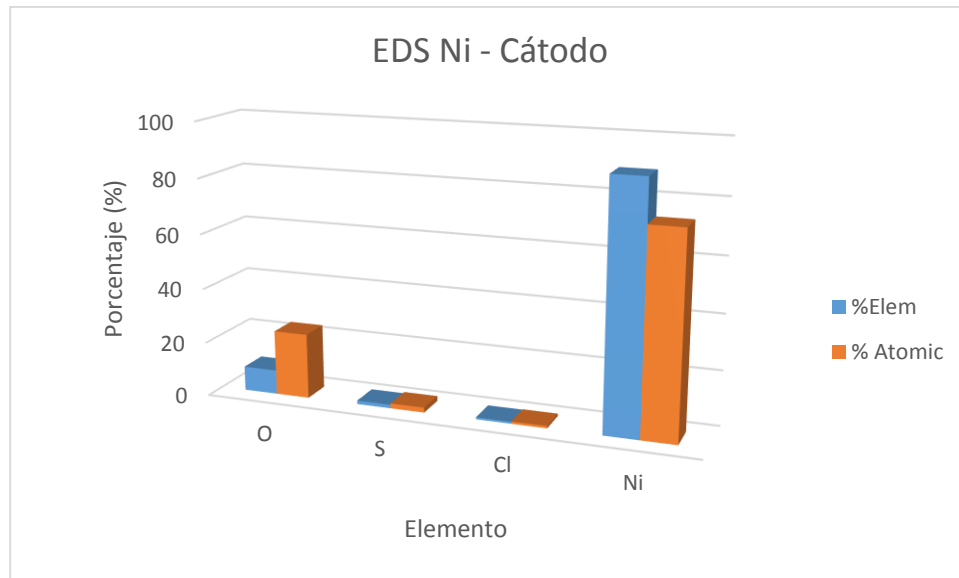


Imagen 26. Resultados microanálisis, EDS para el cátodo

b. Determinación del área superficial del fieltro de carbono

El UNICAT brindo los resultados de esta prueba, en la Imagen 27 se presentael ajuste para el área BET, los resutlatdos obtenidos muestran que la mayor cantidad de nitrógeno absorbido se presenta a P/P° muy alta, lo que indica que los poros del material son muy grandes. El área superficial aproximada del fieltro de carbono fue de **10 m²/g**.

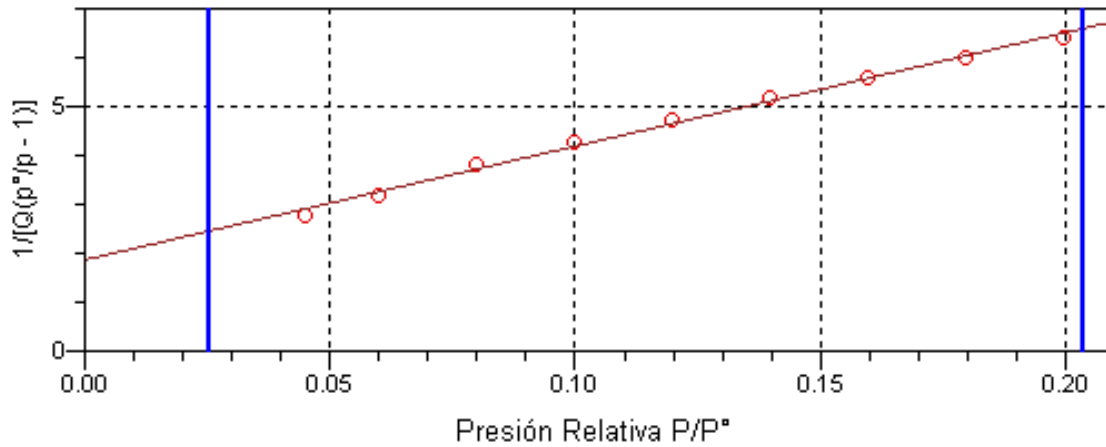


Imagen 27. Ajuste para el área superficial BET

c. Voltamperometría Cíclica

La Voltamperometría Cíclica (CV) suele reportarse en términos de la densidad de corriente, la cual tiene unidades de $[mA/cm^2]$; al realizar las pruebas de CV se obtienen datos de intensidad de corriente (I , mA) vs tiempo, para reportar las pruebas de CV con base en la densidad de corriente (J), se utiliza la siguiente ecuación:

$$J = \frac{I}{A} \quad (24)$$

Donde A es el área superficial del material utilizado para las pruebas de CV, como se mencionó para cada prueba se utilizó aproximadamente un cm^2 de fieltro de carbono. El área superficial del cm^2 de fieltro de carbono se determinó por el UNICAT, ($10 m^2/g$). Con lo anterior se pesó el cm^2 de fieltro de carbono utilizado ($0.0716 g$) para obtener el área superficial (A)

$$A = (100000 \text{ cm}^2/g) * (0.0716g) = 7160 \text{ cm}^2 \quad (25)$$

Con el área superficial calculada se ajustaron los gráficos obtenidos para las pruebas de CV. A continuación se presentan las pruebas de CV realizadas al ánodo en la Imagen 28, la primera el fieltro de carbono solo, la segunda el fieltro de carbono con el recubrimiento del óxido de rutenio y finalmente el fieltro de carbono con el recubrimiento del óxido de rutenio con la biopelícula formada en su superficie.

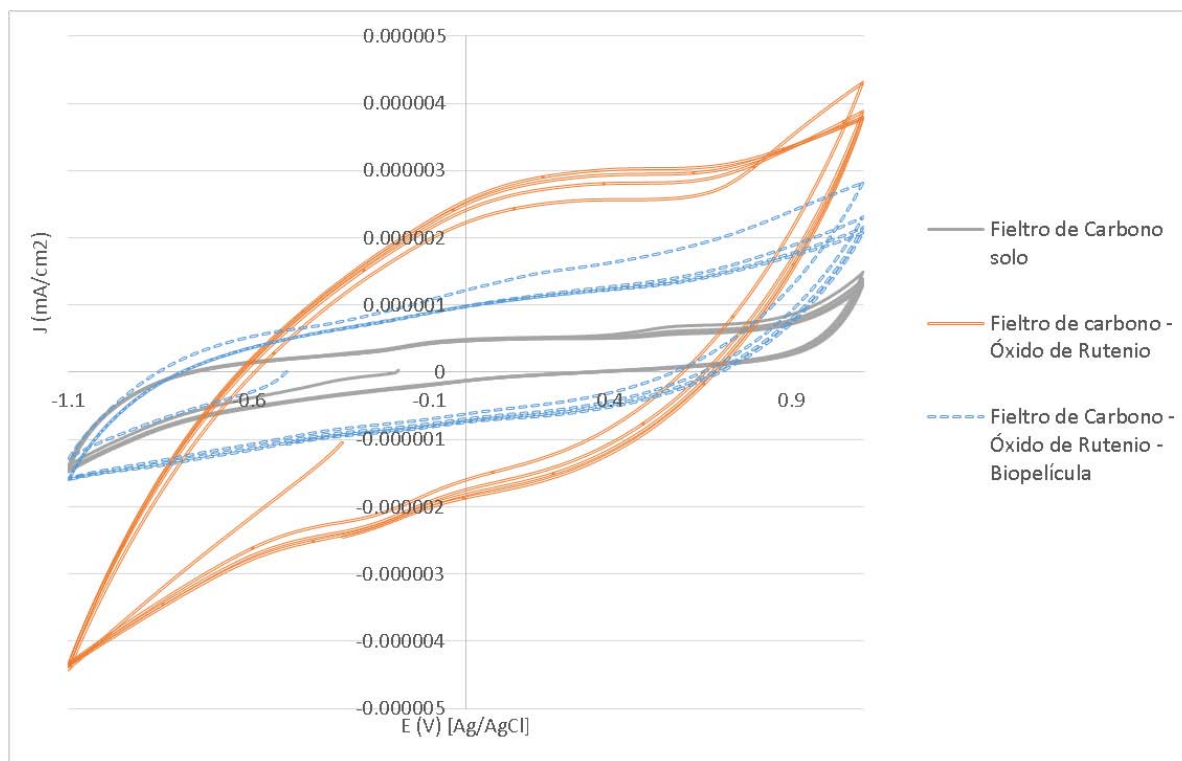


Imagen 28. CV del ánodo, densidad de corriente J (mA/cm^2) contra el potencial aplicado (V) con Ag/AgCl como electrodo de referencia: fieltro de carbono solo, fieltro de carbono con óxido de rutenio y fieltro de carbono con óxido de rutenio y bio-película

En la CV del ánodo se puede apreciar que el recubrimiento con óxido de rutenio aumenta la respuesta redox del fieltro de carbono, y aun con la presencia de la biopelícula se encuentra por encima de la respuesta redox del fieltro de carbono solo, lo que corroborará que el óxido de rutenio aumenta el área superficial disponible del material favoreciendo la oxidación de la materia

orgánica y el transporte de electrones. Con el recubrimiento del óxido de rutenio se alcanzó una densidad de corriente cercana a $-0.004 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$, además de presentar una mayor amplitud en el gráfico, es decir una curva más ancha, lo que confirma una mayor respuesta redox; mientras que para el fieltro solo tan solo se alcanzan valores de $-0.0013 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$ y una menor amplitud de la curva del gráfico generado. En el caso del fieltro del carbono recubierto con óxido de rutenio con la biopelícula en la superficie, aunque no se observa una respuesta redox tan alta como en el fieltro de carbono con el recubrimiento, se observa que alcanza valores cercanos a $-0.003 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$.

En la Imagen 29 se presenta la CV del cátodo, utilizando el cátodo como electrodo de trabajo, al igual que la CV anódica se presenta el fieltro de carbono solo, seguido del fieltro con el recubrimiento de níquel metálico y por último el fieltro de carbono recubierto con níquel metálico con la biopelícula en su superficie.

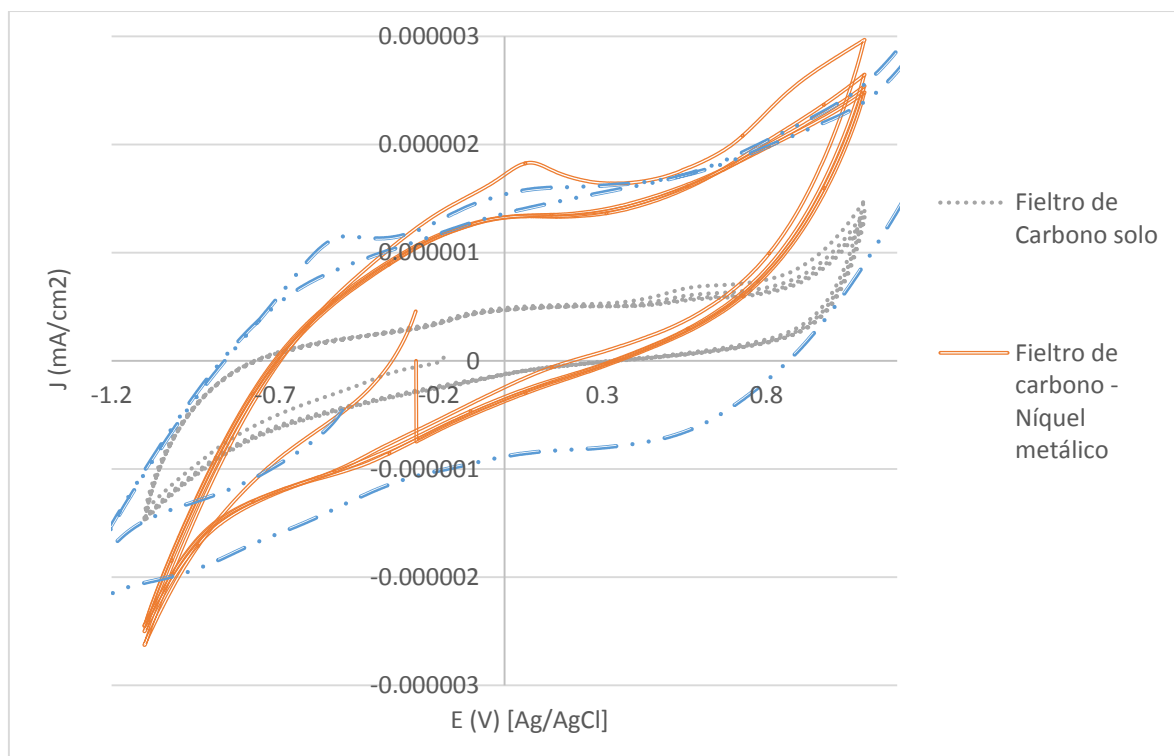


Imagen 29. CV del cátodo, densidad de corriente contra el potencial aplicado con Ag/AgCl como electrodo de referencia: fieltro de carbono solo en gris, fieltro de carbono con níquel metálico en naranja y fieltro de carbono con níquel metálico y bio-película en azul

En el caso de la CV del cátodo la densidad de corriente obtenida como respuesta redox con el fieltro de carbono con recubrimiento de níquel metálico con la biopelícula es la de mayor valor alcanzando hasta $0.003 \times 10^{-3} \text{ mA/cm}^2$, y un poco por debajo de este valor para el fieltro de carbono con recubrimiento de níquel metálico sin biopelícula. Si se observa una diferencia de densidad de corriente en ambos casos al compararlos con el fieltro de carbono solo.

d) Construcción de la Celda

En el siguiente diagrama se presenta el funcionamiento de las celdas construidas.

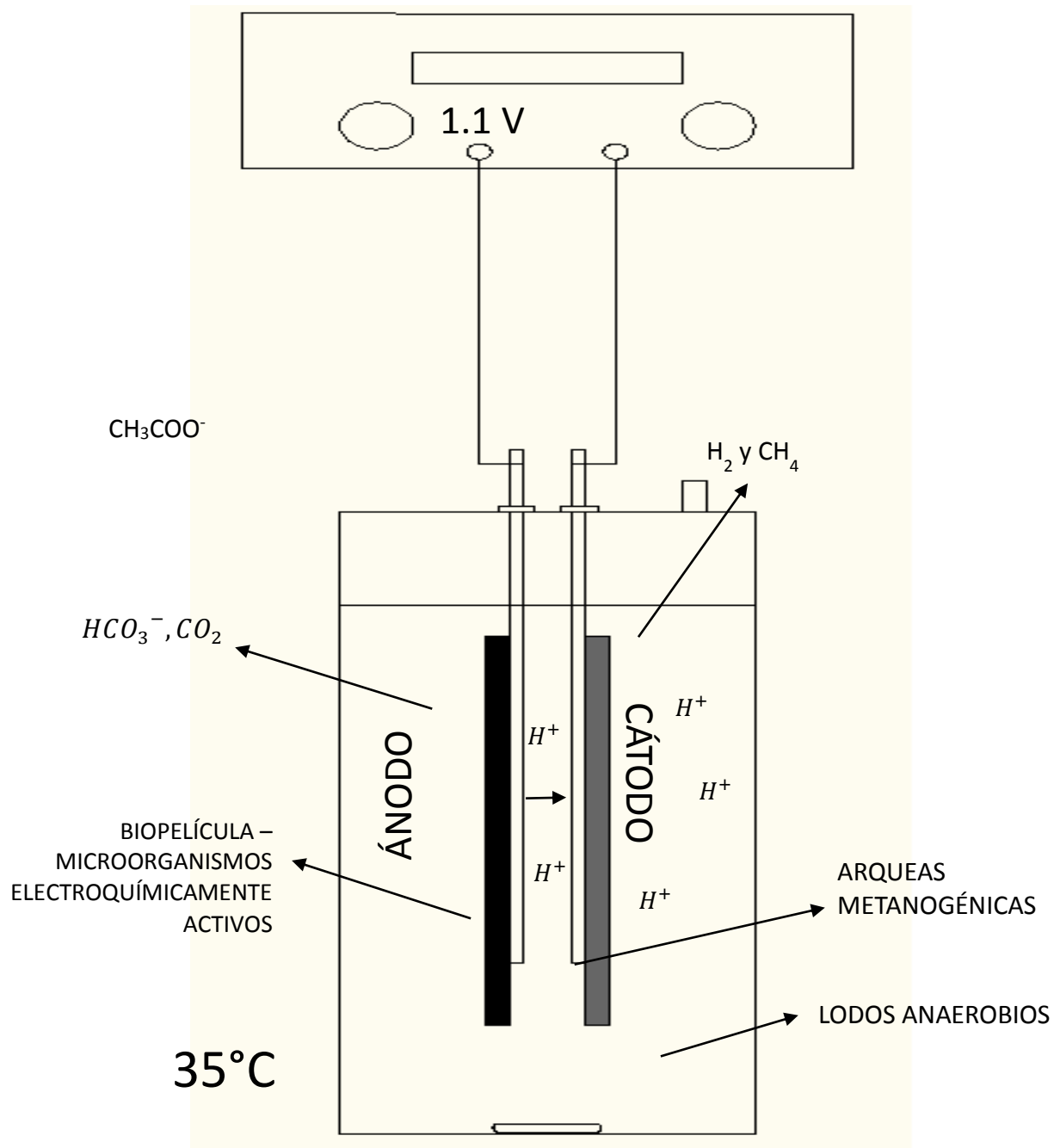


Imagen 30. Diagrama de la MEC construida

Se montaron 3 celdas: la MEC 1, la MEC 2 y el Testigo (sin aplicación de corriente). La MEC 1 se alimentó cada 168 horas, la MEC 2 se alimentó cada 48 horas.

e) Comparación materiales “GENOCOV”

Como se mencionó en la metodología, se realizó una comparación de materiales tanto para ánodo como para cátodo. Para el ánodo se probó el fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio contra cepillo de carbono “brush” (área superficial, 0.18 m^2 por pieza); mientras que para el cátodo se probó fieltro de carbono recubierto con níquel metálico contra tela de carbono recubierta con platino. A continuación se presentan los resultados obtenidos:

Fabricación de los electrodos: En las siguientes imágenes se presentan los materiales utilizados por “GENOCOV” como ánodo y cátodo para llevar a cabo la comparación.

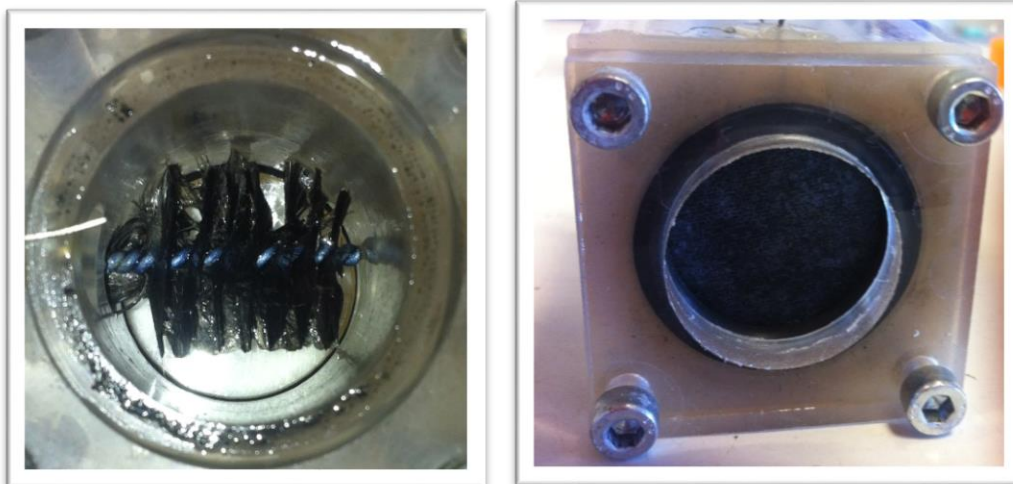


Imagen 31. (Izquierda) Ánodo Brush colocado dentro de una de las celdas, (Derecha) Cátodo tela de carbono recubierta con platino dentro de una de las celdas

Construcción de las celdas. En las siguientes imágenes se presentan las celdas construidas en modalidad MEC y modalidad MFC, respectivamente. La MEC A brush como ánodo y fieltro de carbono recubierto con platino, y la MEC B fieltro de carbono recubierto con óxido de rutenio y tela de carbono recubierta con platino.

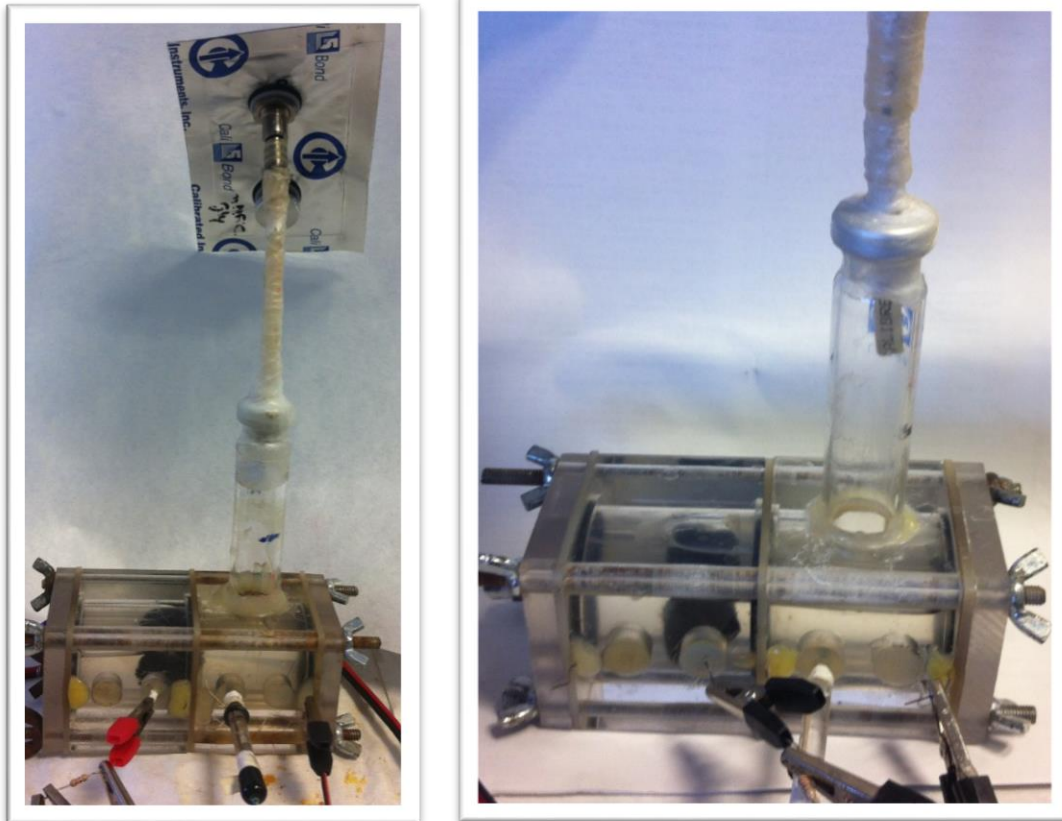


Imagen 32. (Izquierda) MEC A; (Derecha) MEC B

En la Imagen 33 se presentan las celdas montadas en modo MFC, la MEC C filtro de carbono recubierta con óxido de rutenio para el ánodo y filtro de carbono recubierta con níquel metálico, y para la MEC D brush para el ánodo y filtro de carbono recubierta con níquel metálico.

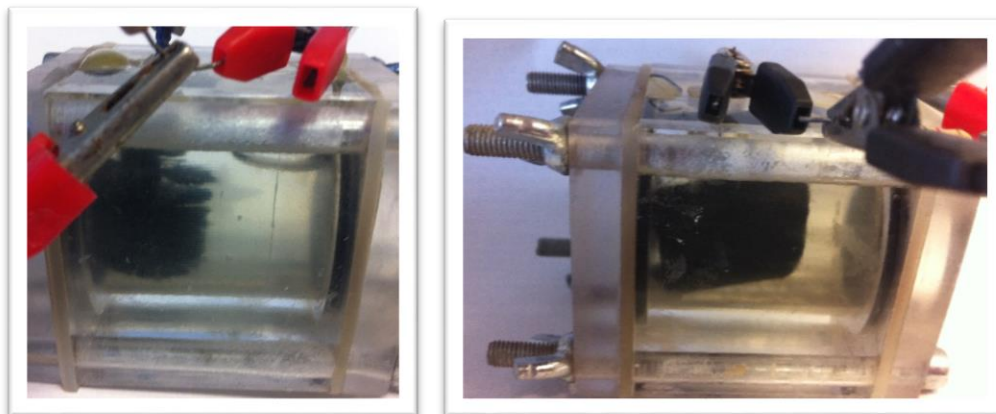


Imagen 33. Celdas C y D en modalidad MFC; (izquierda) MEC C, (derecha) MEC D

En la Imagen 34 se presentan ánodo y cátodo de la MEC C y la MEC D con la bio-película formada al realizar el cambio de modalidad MFC a MEC.



Imagen 34. Electrodos con la biopelícula formada durante el cambio de MFC a MEC para MEC C; (derecha) brush, (izquierda) Tela de Carbono

Se puede observar la formación de una bio-película significativa en el cátodo a pesar del uso de inhibidores para la metanogénesis.

Monitoreo de las celdas.

Intensidad de Corriente.

Como se ha mencionado se monitorea el potencial anódico en mV de las celdas en continuo durante toda la operación de las celdas, los datos recabados se reportan como intensidad de corriente aplicando la siguiente ecuación:

$$I (A) = \frac{E (mV)}{1000 * R(\Omega)} \quad (26)$$

A continuación se presentan los gráficos I(A) contra t (h) para todo el periodo de operación de las celdas:

- Etapa de arranque en modo MEC para MEC A y para MEC B,
- Etapa de arranque en modo MFC para MEC C y para MEC D,
- Etapa de operación en modo MEC para MEC A y para MEC B,
- Etapa de operación en modo MFC para MEC C y para MEC D
- Etapa de operación en modo MEC para la MEC C y para la MEC D.

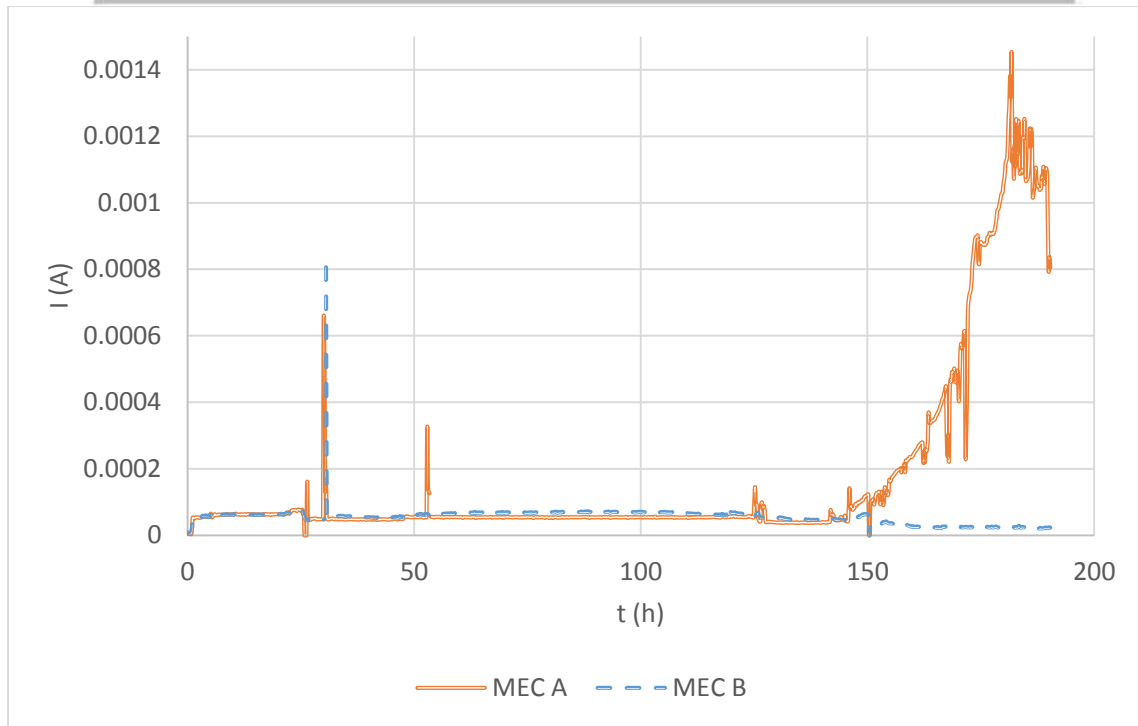


Imagen 35. Intensidad de corriente (A) vs t (h) durante el periodo de arranque en modo MEC de la MEC A y la MEC B

En la Imagen 35 se presenta la etapa de arranque para MEC A y para MEC B en modo MEC, como se puede observar MEC A tuvo un mejor arranque que MEC B alcanzando una intensidad de corriente de 0.0014 A. al comprar el arranque en modo MEC con el modo MFC se observa que la intensidad alcanzada en modo MEC es mayor que en el modo MFC, debido a que en modo MFC se utilizó una resistencia de 1000 Ω , mientras que en modo MEC se utilizó una resistencia de 12 Ω .

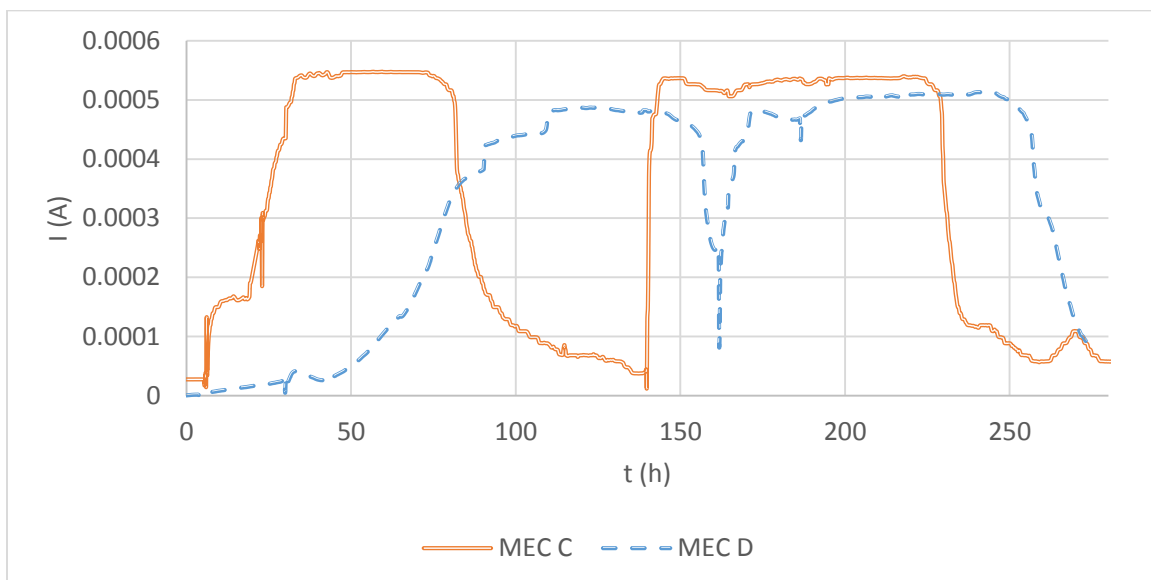


Imagen 36. Intensidad de corriente (A) vs t (h) durante el periodo de arranque en modo MFC de la MEC C y la MEC D

Como se ha mencionado una MFC tiene como función principal producir electricidad, mientras que una MEC tiene como función producir energía en forma de hidrógeno o metano. En el caso del arranque en modo MFC, MEC A obtuvo una mayor intensidad de corriente alcanzando 0.0006 A durante un mayor periodo de tiempo, como se observa en la Imagen 36.

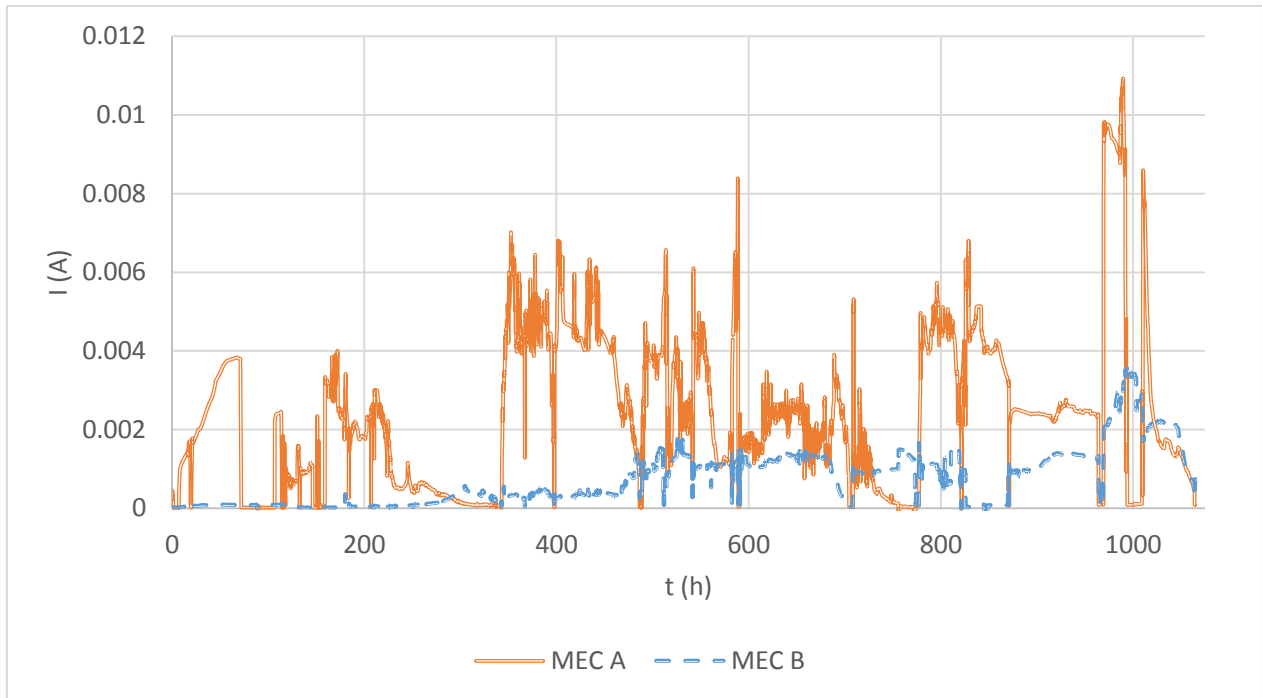


Imagen 37. I(A) vs t(h) para 10 ciclos de operación en modo MEC de la MEC A y la MEC B

De la Imagen 37 se obtiene que la máxima intensidad de corriente obtenida es para MEC A con un valor cercano a 0.01 A. En ambos casos durante los últimos dos ciclos de operación, cuando se cambió la diferencia de potencial aplicado de 0.8 a 0.6 y 1.0, respectivamente, se obtuvieron los mayores valores de intensidad de corriente. Siendo el valor de 0.038 A el valor máximo alcanzado como intensidad de corriente para MEC B durante el ciclo 9 (diferencia de potencial de 0.6 V).

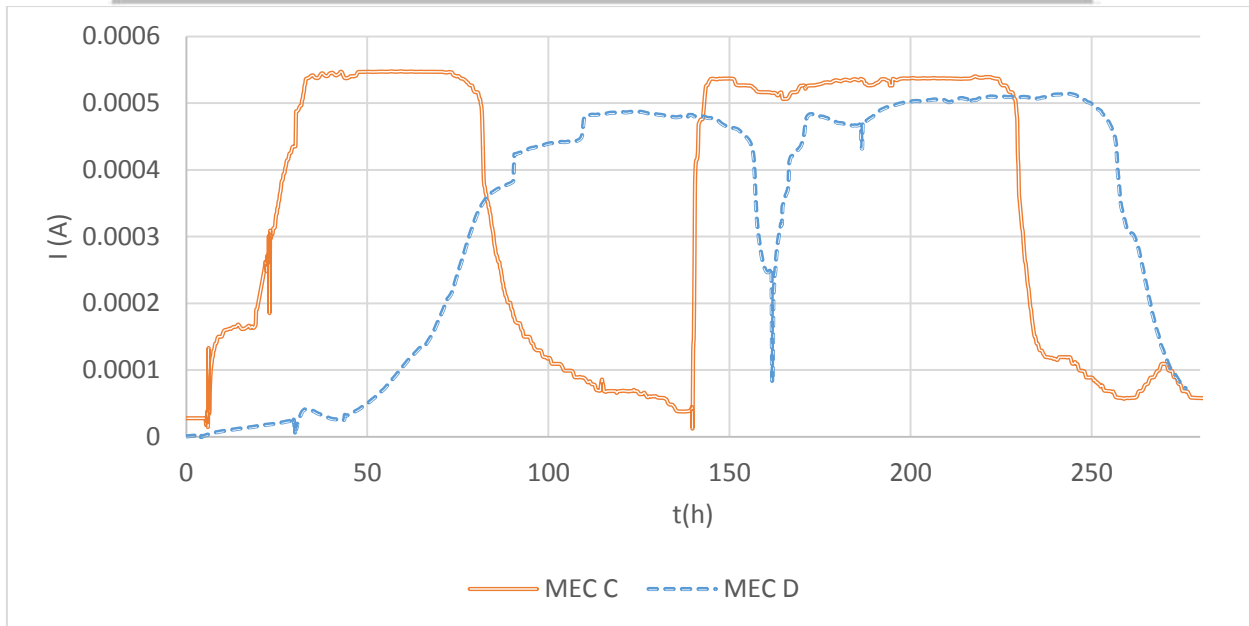


Imagen 38. I (A) vs t (h) para 4 ciclos de operación en modo MFC para la MEC C y la MEC D

En la Imagen 38 se presenta la Intensidad de corriente (A) para la operación de las celdas MEC C y MEC D durante los 4 ciclos de operación en modo MFC, se puede observar que los valores son ligeramente mayores para la MEC 3 (ánodo-brush, cátodo-níquel) cercanos a 0.00055 A, mientras que para la MEC D (ánodo-rutenio, cátodo-níquel) los máximos alcanzados para la intensidad de corriente se acercan a 0.0005 A. Con lo cual se obtiene una mayor intensidad de corriente alcanzada para la MEC C en modo MFC.

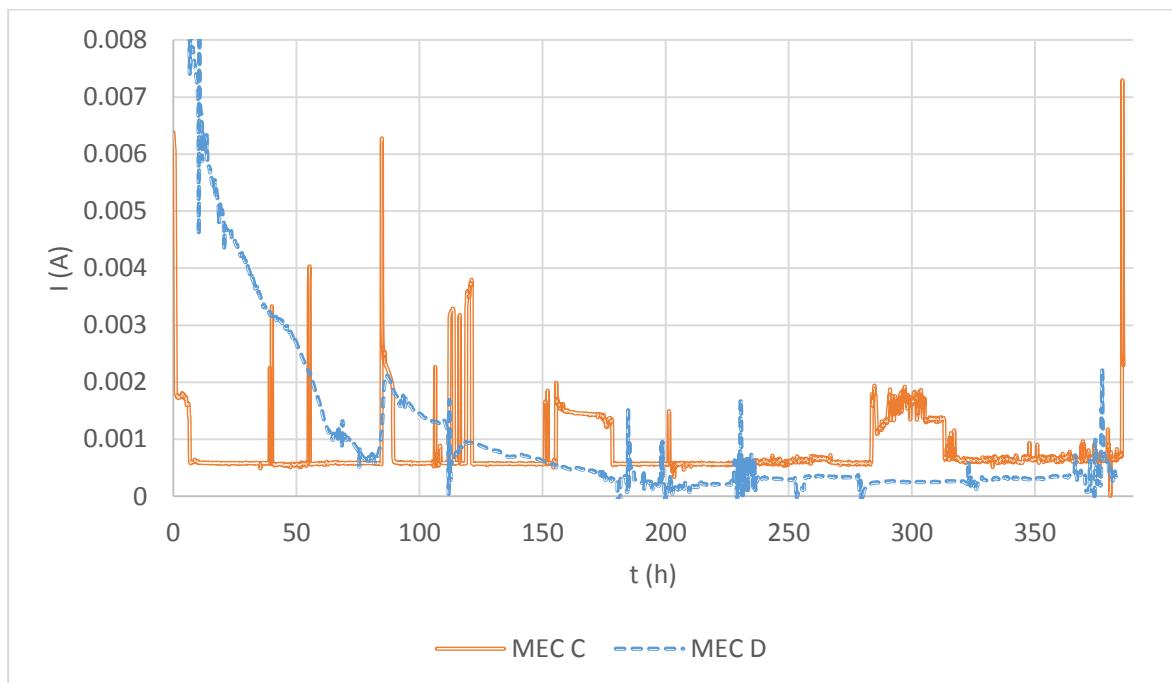


Imagen 39. I (A) vs t (h) para 5 ciclos de operación en modo MEC para la MEC C y la MEC D

En la Imagen 39 se presenta la intensidad de corriente reportada durante los 5 ciclos de operación de las celdas MEC C y la celda MEC D en modo MEC, durante el primer ciclo se



observan altas intensidades de corriente debido al cambio de MFC a MEC. En ambos casos se observa una tendencia a mantener constante el valor de la intensidad de corriente por debajo de 0.001 A, con algunas excepciones que no rebasaron el valor de 0.002 A.

En todos los casos se observa una gran presencia de “ruido” (líneas verticales con gran incremento a la tendencia que sigue el gráfico) debido a probables desconexiones de los sistemas.

A continuación se presentan los datos y resultados obtenidos del monitoreo de AGVs, coulombs y la eficiencia coulombica calculada para cada ciclo de operación de cada una de las celdas, así como el cambio de pH durante todo el tiempo de operación de las celdas.

Tabla 12. Monitoreo MEC A

Ciclo	Tipo	coulombs	Ci (mg/L)	Ci (mol/L)	Cf (mg/L)	Cf (mol/L)	CE
Arranque	MEC	119.318	130.000	0.002	19.596	0.0003	137.680
1	MEC	1000.054	1157.079	0.020	57.260	0.0010	115.839
2	MEC	498.046	677.664	0.011	201.654	0.0034	133.292
3	MEC	814.494	747.690	0.013	55.029	0.0009	149.802
4	MEC	1350.676	1046.980	0.018	81.487	0.0014	178.219
5	MEC	1003.017	999.812	0.017	74.298	0.0013	138.063
6	MEC	956.604	1230.133	0.021	0.000	0.0000	99.067
7	MEC	808.169	977.966	0.017	68.072	0.0012	113.152
8	MEC	724.576	640.908	0.011	59.664	0.0010	158.810
9	MEC	843.650	1229.192	0.021	122.706	0.0021	97.133
10	MEC	1222.411	1077.105	0.018	24.291	0.0004	147.916

La mayor Eficiencia Coulombica (CE, por sus siglas en inglés *Coulombic Efficiency*) se alcanza en el ciclo 8; las eficiencias no deberían sobrepasar el 100% lo cual indica que la generación de hidrógeno no solo se da por la vía electroquímica, y para el caso de la MEC A en la mayor parte de los ciclos se alcanzan eficiencias superiores al 100%, en la literatura consultada se indica que eficiencias mayores al 100% se deben a una recirculación del hidrógeno, donde no todo el hidrógeno es generado por la vía electroquímica, siendo necesario la realización de un balance de la celda con el cual se pueda determinar la cantidad de hidrógeno producida tanto por la vía electroquímica como por la vía biológica.

Tabla 13. Monitoreo MEC B

Ciclo	Tipo	coulombs	Ci (mg/L)	Ci (mol/L)	Cf (mg/L)	Cf (mol/L)	CE
Arranque	MEC	37.787	130.000	0.002	38.428	0.001	52.57
1	MEC	41.249	932.828	0.016	148.641	0.003	6.70
2	MEC	100.449	1225.000	0.021	132.456	0.002	11.71
3	MEC	58.023	1297.011	0.022	739.639	0.013	13.26
4	MEC	155.340	1623.018	0.028	660.473	0.011	20.56
5	MEC	387.850	1549.834	0.026	517.870	0.009	47.88
6	MEC	490.944	1344.642	0.023	56.220	0.001	48.54
7	MEC	427.123	1133.122	0.019	617.770	0.010	105.58
8	MEC	22.467	1204.305	0.020	827.873	0.014	7.60



9	MEC	403.967	1551.792	0.026	207.270	0.004	38.28
10	MEC	774.966	1305.100	0.022	198.952	0.003	89.25

Para el caso de la MEC B las eficiencias se encuentran por debajo del 100%, lo cual indica que la generación probablemente es solo por la vía electroquímica, aunque se debe considerar que la intensidad reportada para la MEC B fue menor que para la MEC A, oscilando cerca de 0.002 A.

Tabla 14. Monitoreo MEC C

ciclo	Tipo	coulombs	Ci (mg/L)	Ci (mol/L)	Cf (mg/L)	Cf (mol/L)	CE
Arranque	MFC	26.02	130.00	0.00	20.00	0.00	30.13
1	MFC	146.61	1450.00	0.02	1179.44	0.02	69.03
2	MFC	90.14	1526.97	0.03	169.32	0.00	8.46
3	MFC	97.03	1801.78	0.03	96.16	0.00	7.25
4	MFC	218.11	1982.60	0.03	551.18	0.01	19.41
1	MEC	297.76	1145.76	0.02	108.91	0.00	36.59
2	MEC	143.36	1156.16	0.02	569.30	0.01	31.12
3	MEC	174.06	1689.01	0.03	1307.04	0.02	58.05
4	MEC	213.12	1834.42	0.03	1432.73	0.02	67.59
5	MEC	330.53	2050.47	0.03	1015.96	0.02	40.70

Las eficiencias obtenidas tanto para la MEC C como para la MEC D en modo MFC no tienen una tendencia, esta diferencia se puede deber al ruido producido en el monitoreo de los sistemas, se observan dos CE que se pueden considerar como buenas en el ciclo 1 para la MEC C con una CE del 69% y para el ciclo 2 para la MEC D con un 72.8%. Estos valores son favorables para los sistemas indican el porcentaje de coulombs que se transportan por el circuito. Para la operación en modo MEC se obtuvieron buenos valores de CE para la MEC C, a pesar de obtener bajos valores de intensidad de corriente los porcentajes de CE son favorables en comparación con la MEC D; mientras que para la MEC D los porcentajes de CE obtenidos no se consideran buenos, es importante considerar que todos los valores se encuentran por encima del 20%, y fueron las intensidades de corriente más bajas.

Tabla 15. Monitoreo MEC D

Ciclo	Tipo	Coulombs	Ci (mg/L)	Ci (mol/L)	Cf (mg/L)	Cf (mol/L)	CE
Arranque	MFC	5.22	130.00	0.00	0.00	0.00	5.12
1	MFC	151.51	1840.00	0.03	54.23	0.00	10.81
2	MFC	81.45	2065.92	0.04	1923.49	0.03	72.85
3	MFC	102.79	2273.70	0.04	1753.73	0.03	25.18
4	MFC	75.37	2574.40	0.04	4.47	0.00	3.74
1	MEC	1405.87	836.73	0.01	380.71	0.01	39.75
2	MEC	191.83	1522.11	0.03	478.92	0.01	23.43
3	MEC	55.35	1846.74	0.03	1568.37	0.03	25.33
4	MEC	96.16	2008.40	0.03	1445.09	0.02	21.75
5	MEC	157.15	1785.92	0.03	1471.61	0.02	63.70



Volumen y composición del gas generado.

Fueron pocas las muestras de gas que se pudieron obtener, debido a que solo se contó con una bolsa para captura de gas. A partir del ciclo 6 para la MEC B se colocó probeta invertida para capturar el gas generado, y a partir del cambio de modalidad para la MEC C y la MEC D. Para la MEC A se colectó el gas generado en la bolsa para gas en los ciclos 5 y 6. Los resultados del volumen y composición del gas, en el caso de aplicar se presentan en las siguientes tablas:

Tabla 16. Composición y volumen de gas generado MEC A

Ciclo	[H ₂] (mg/L)	[CH ₄] (mg/L)	[N ₂] (mg/L)	V H ₂ (mL)	V gas generado (mL)
5	72.088	0	68.040	71.819	-
6	62.784	0.008	34.624	61.790	-
7	0	0	78.736	0	30
8	13.312	22.538	64.151	3.994	30
10	0.024	0.118	80.346	0.015	61

Para la MEC A se obtuvo la mayor producción de gas y las más altas composiciones de hidrógeno, aunque es importante señalar que como en todos los casos a pesar del uso de inhibidor de metanogénesis se tuvo la presencia de metano.

Tabla 17. Composición y volumen de gas generado MEC B

Ciclo	[H ₂] (mg/L)	[CH ₄] (mg/L)	[N ₂] (mg/L)	V H ₂ (mL)	V gas generado (mL)
5	0	0.070	97.481	0	13
6	-	-	-	-	38
7	0.010	0.003	80.181	0	28
8	-	-	-	-	5
10	0.004	0	78.727	0.008	20

En algunos casos solo fue posible determinar la cantidad de gas generado y no su composición, como en el caso del ciclo 5. Para la MEC B no se reportó composición de hidrógeno significativa, debido probablemente a una mala captura del gas, como en casi todos los casos a excepción de la MEC A.

En el caso de MEC C no fue posible determinar ni composición y volumen de gas generado.

Tabla 18. Composición y volumen de gas generado MEC D

Ciclo	[H ₂] (mg/L)	[CH ₄] (mg/L)	[N ₂] (mg/L)	V gas generado (mL)	V H ₂ (mL)
2	0.038	0.142	80.023	5	0.003
3	0.011	0.008	79.217	38	-

Al igual que para la MEC B no se tienen una composición de hidrógeno significativa debido a problemas en la captura del gas.

pH.

El pH se midió cada vez que se alimentaba cada una de las celdas, en la Imagen 40 se presenta el gráfico del comportamiento de las celdas.

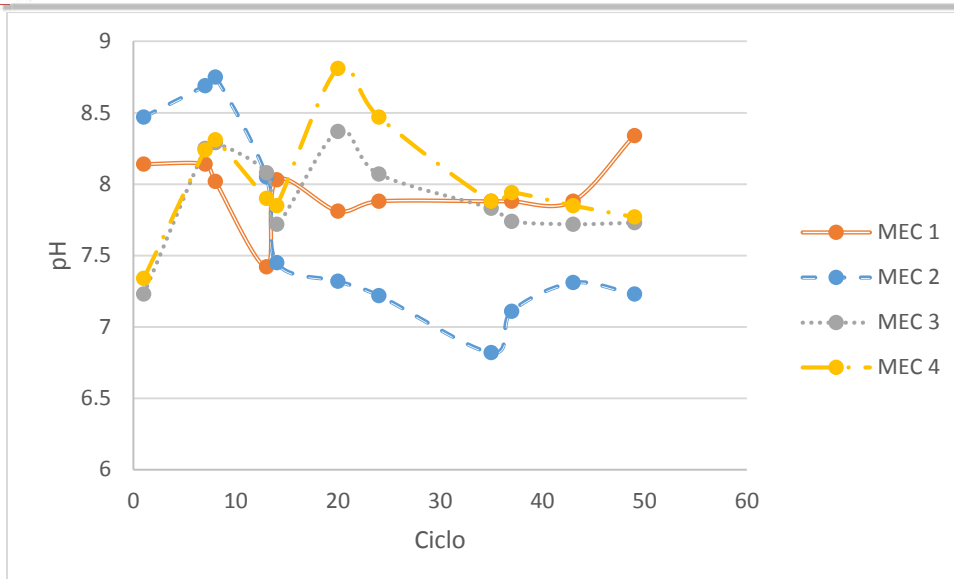


Imagen 40. pH al final de cada ciclo durante todo el tiempo de operación de las celdas

Cabe mencionar que el medio de las celdas contenía PBS para controlar el pH, y este se adicionaba cada vez que se cambiaba el medio, ya que el medio “GENOCOV” utilizado contenía dicha solución, pero a pesar del control, el pH no se mantuvo neutro, oscilando entre 7.5 y 9. Esto se puede deber al consumo de los H^+ disponibles en el medio, ya sea para producción de hidrógeno o para producción de metano por la vía metanogénica.

Voltamperometría cíclica.

El área superficial del brush es de 1800 cm^2 , para el fieltro de carbono se utilizó un trozo de $2.5 \times 5 \text{ cm}$ con un peso 0.2518 g tanto para ánodo como para cátodo, aplicando la Ecuación (25) se obtiene un área superficial de 25180 cm^2 (Ecuación 26).

$$A = \left(100000 \frac{\text{cm}^2}{\text{g}}\right) * (0.2518 \text{ g}) = 25180 \text{ cm}^2 \quad (26)$$

En los siguientes gráficos se presentan los voltamperogramas realizados para cada una de las celdas, en la Imagen 41 se compara la respuesta redox de los cuatro sistemas, como se puede observar la MEC C y la MEC D tienen respuestas electroquímicas con una menor magnitud que la MEC A y la MEC B, por lo cual se presenta un acercamiento en la Imagen 42 de ambos sistemas.

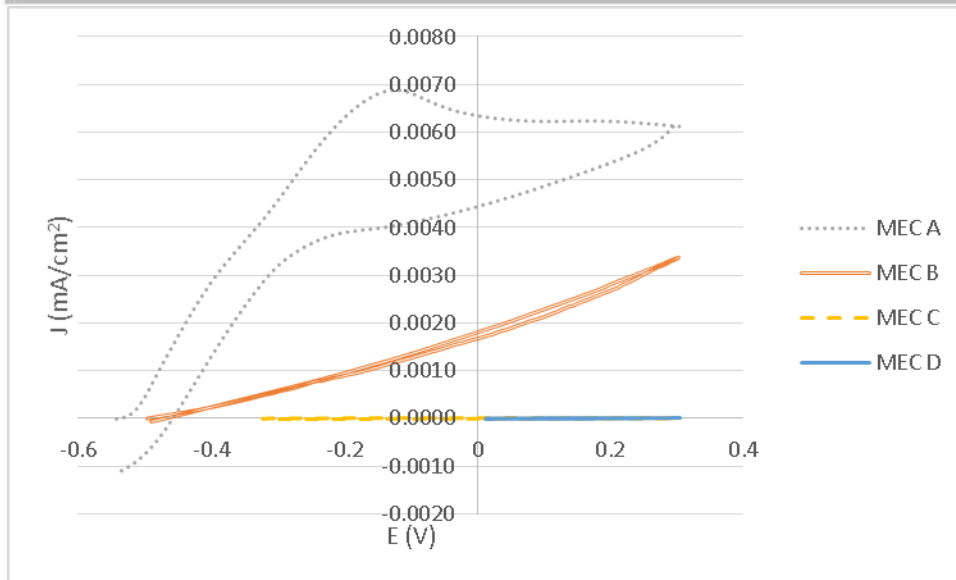


Imagen 41. Voltamperograma para los cuatro sistemas

La respuesta redox de la MEC A fue la mayor alcanzada con valores hasta de 0.007 mA/cm^2 , se observa una amplitud mayor en el voltamperograma de la MEC A, mientras que para la MEC B a pesar de que el voltamperograma alcanza valores cercanos a 0.0035 mA/cm^2 , la mitad de los valores obtenidos para la MEC A, no se observa amplitud significativa lo que indica que el electrodo de la MEC B es más estable. El borde que presenta el voltamperograma de la MEC A nos indica que hay reacciones secundarias oxidantes adicionales a la reacción de la degradación de la materia orgánica (reacción del ánodo de la MEC que es el interés de las pruebas presentadas). En estas pruebas el voltaje se estableció conforme al potencial abierto de celda, por esta razón el potencial aplicado no es el mismo en los cuatro sistemas.

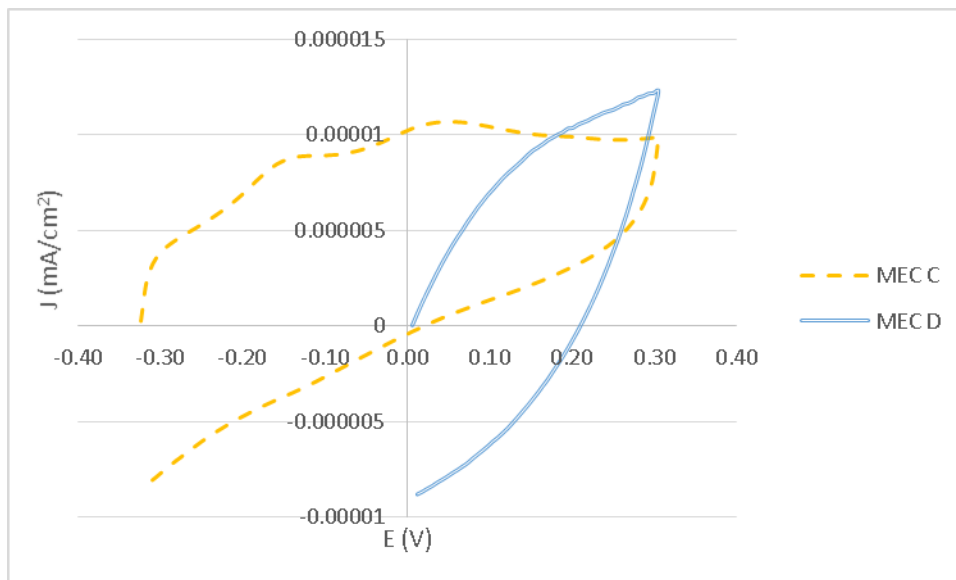


Imagen 42. Voltamperograma para la MEC C y para la MEC D



Para el caso de la MEC C y la MEC D ambos voltamperogramas se encuentran cercanos a 0.1×10^{-4} mA/cm², pero para el caso de la MEC C el voltamperograma se observa mayor “ruido”, mayor amplitud, lo que se puede deber a menor estabilidad del electrodo. Para el caso de la MEC D, el potencial se evaluó a partir de 0.006 V, del cual fue el valor de circuito de la celda, por esta razón tan solo se evaluó el comportamiento reductor del sistema ya que no se aplicó una diferencia de potencial al sistema para evaluar el comportamiento total (barrido de oxidación) del electrodo.

Rendimiento

El rendimiento solo se pudo calcular en los casos en los que hubo producción representativa de hidrógeno, para la celda MEC A en los ciclos 5 y 6, respectivamente.

Tabla 19. Rendimiento de la MEC A durante los ciclos 5 y 6.

H ₂ (mL)	H ₂ (mol)	moles e ⁻	coulombs	joules	r _{CAT}	Energía H ₂	r _E
71.82	0.00293	0.00587	567.15	123.64	21.80	0.84	6.79
61.79	0.00252	0.00505	487.95	304.87	62.48	0.73	2.37

El rendimiento catódico (r_{cat}) del sistema para el ciclo 6 fue de 62.48%, el cual indica que del 100% de los coulombs el 62.48% llegan al cátodo como intensidad de corriente. El rendimiento con respecto a la electricidad (r_E) fue muy bajo en ambos casos con 6.79 y 2.37% para el ciclo 5 y el ciclo 6, respectivamente, tan sólo el 7 y el 2% de la energía aplicada a los sistemas se recupera como hidrógeno.

2. Segunda etapa, Operación – Solución sintética

Para la etapa de operación se alimentó la Celda de Electrólisis Microbiana con acetato de sodio, con una relación del 30% de carbono; también se llevó a cabo una caracterización del acetato de sodio alimentado y de los lodos anaerobios empleados como inóculo de la celda.

a) Caracterización Solución sintética e Inóculo

En la siguiente tabla se presentan los resultados de la caracterización del acetato de sodio utilizado como sustrato, y de los lodos anaerobios utilizados como inóculo.

Tabla 20. Caracterización solución sintética e Inóculo

Parámetro	Sustrato	Inóculo	Unidades
DQO	993.64	10370.44	mg/L
COT	1280	1911	mg/L
ST	5460	18500	mg/L
SV	1700	14200	mg/L
pH	7.52	8.47	-

Como se puede observar el COT disponible para ambas caracterizaciones resultaron con altos valores lo que los hace candidatos idóneos para el proceso. El acetato se emplea para simular los productos intermedios del proceso de digestión anaerobia, y como se puede observar el valor de COT es alto, lo que resulta beneficioso para la operación de la Celda, al tener disponible una alta fuente de carbono. En la siguiente imagen se muestran los lodos anaerobios con acetato de sodio disgregados y con agitación constante.



Imagen 43. Lodos Anaerobios con acetato de sodio licuados

b) Monitoreo de la Celda de Electrólisis Microbiana

Se operaron las celdas en semicontinuo: la MEC 1 se monitoreo durante 71 días, la MEC 2 durante 73 días y el testigo durante 73 días, resultando 12, 24 y 11 periodos de alimentación para cada celda, respectivamente. El monitoreo se realizó antes y después de cada

alimentación, el medio y el inoculo no se alteraron durante toda la operación del sistema, solo se alimentaron 4.91 g de acetato de sodio diluyéndolos en el mismo medio.

Volumen de gas generado normalizado. En la Imagen 44 se presenta el volumen de gas generado normalizado para 13 periodos de alimentación para los tres sistemas. Para la MEC 1 se obtuvo un promedio de 1.41 L/periodo de alimentación con un máximo de 2.36 L. Para la MEC 2 se obtuvo un promedio de 0.67 L/periodo de alimentación con un máximo de 2 L. En el caso del testigo la generación de gas fue mínima con tan solo 0.002 L/periodo de alimentación. El monitoreo de los tres sistemas se presenta en los Anexos 9, 10 y 11.

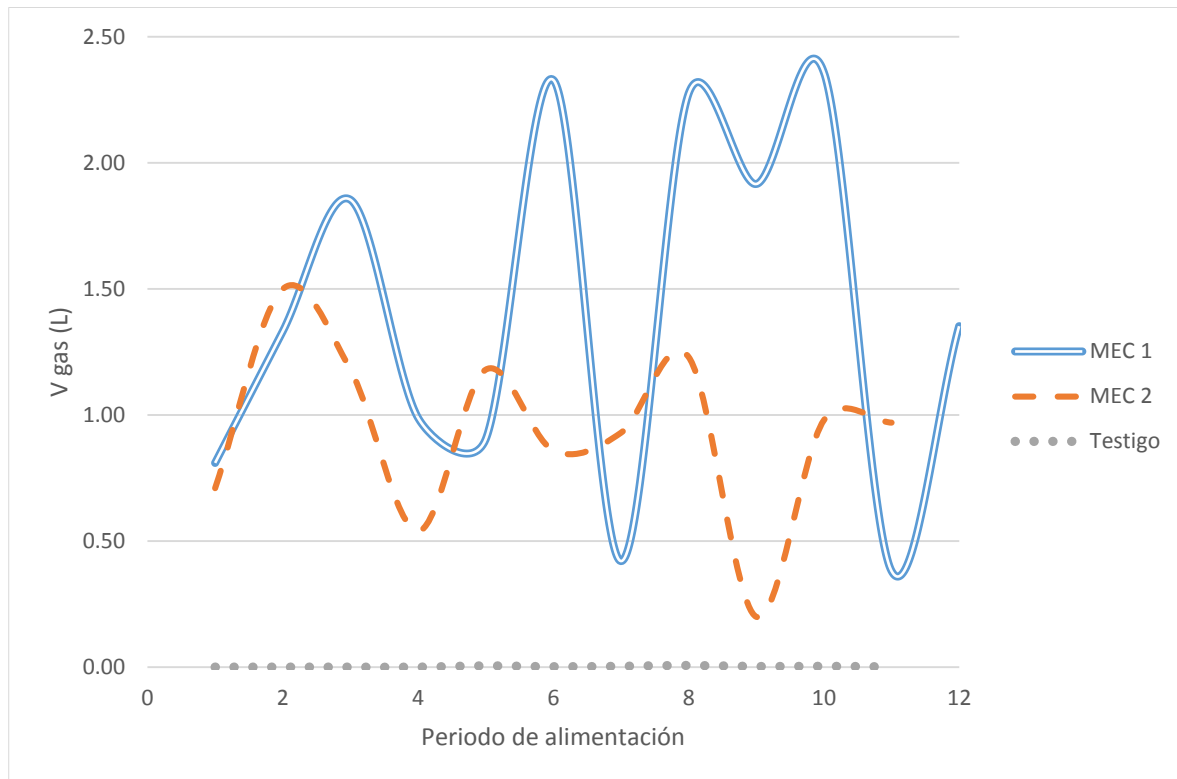


Imagen 44. Volumen de gas normalizado generado por cada una de las celdas

Se puede apreciar que hay una mayor generación de gas para la MEC1, debido a que la MEC 1 opero el triple de tiempo que MEC 2. La mayor generación de gas para la MEC 1 fue durante las primeras 48 horas de operación por esta razón se seleccionó el periodo de alimentación cada 48 horas.

En la Tabla 21 se observa una gran variación de un periodo de alimentación a otro para el mismo sistema, para la MEC 2 se tienen variaciones desde 0 hasta 2.0 L, y en la MEC 1 desde 0.38 hasta 2.76 L; esta gran variación se pudo deber a posibles fugas en las celdas que permitían el escape del gas generado.



Tabla 21. Volumen de gas generado normalizado para MEC 1, MEC 2 y el testigo

Periodo	V (L/periodo)		
	MEC 1	MEC 2	Testigo
1	0.81	0	0
2	1.33	0.05	0
3	1.85	0.71	0
4	0.99	1.50	0.00000
5	0.90	1.18	0.0047
6	2.33	0.54	0.0016
7	0.42	1.18	0.0031
8	2.27	0.86	0.0062
9	1.92	0.93	0.0023
10	2.36	0.29	0.0031
11	0.38	0.07	0.0008
12	1.35	1.23	0
13	-	0.20	-
14	-	0.98	-
15	-	0.00	-
16	-	0.49	-
17	-	0.43	-
18	-	0.16	-
19	-	0.66	-
20	-	0.97	-
21	-	0.66	-
22	-	0.86	-
23	-	2.00	-
24	-	0.19	-
Promedio	1.41	0.67	0.002
DS	0.735	0.509	0.002

Composición del gas generado. Se midió tres veces la composición del gas generado para la MEC 1 y la MEC 2, para la MEC 1 en los periodos de alimentación 2, 5 y 11, para la MEC 2 en los periodos de alimentación 5, 9 y 14; mientras que para el testigo solo se tomaron dos muestras en los periodos de alimentación 3 y 10. En la Tabla 22 se presentan los resultados de la cromatografía de gases realizada a las muestras indicadas para cada sistema: Para el testigo

Tabla 22. Composición del gas generado para MEC 1, MEC 2 y el testigo en diferentes periodos de alimentación

Sistema	Periodo	V gas (L)	% CH ₄	% H ₂	% O ₂	V CH ₄ (L)	V H ₂ (L)
MEC 1	2	1.33	0.99	0.01	0.01	1.32	0.01
	5	0.90	0.94	0.01	0.05	0.85	0.01
	11	0.38	0.99	0.01	0.00	0.38	0.00
MEC 2	5	1.18	0.27	0.73	0.00	0.31	0.87
	9	0.93	0.03	0.97	0.00	0.03	0.90
	14	0.98	0.00	0.79	0.21	0.00	0.78
Testigo	3	0.006	1.00	0	0	0.006	0
	10	0.003	0.98	0.00	0.02	0.0031	0.00

En el testigo se observa que a pesar de ser una mínima cantidad de gas generado en su totalidad se trata de metano, lo que puede suponer que se trate de un proceso de digestión anaerobia puro. La presencia de oxígeno en algunos casos se debe a que los sistemas no se purgaron con ningún gas para evitar su presencia, por lo cual se considera que los sistemas no eran estrictamente anaerobios.

Para la MEC 1 se observa una mínima cantidad de hidrógeno generado (1%) y una gran cantidad de metano, debido al aumento del periodo de alimentación se puede suponer que el hidrógeno producido en la celda es empleado por las arqueas metanogénicas para producir metano o que el hidrógeno producido escapa del sistema al ser mayor el tiempo de almacenamiento dentro de la celda. Mientras que en la MEC 2 se tiene una alta proporción de hidrógeno, desde 73 hasta 97%, se puede suponer que al tener disponible una mayor cantidad de sustrato no le da tiempo a las arquea metanogénicas de consumir el hidrógeno producido.

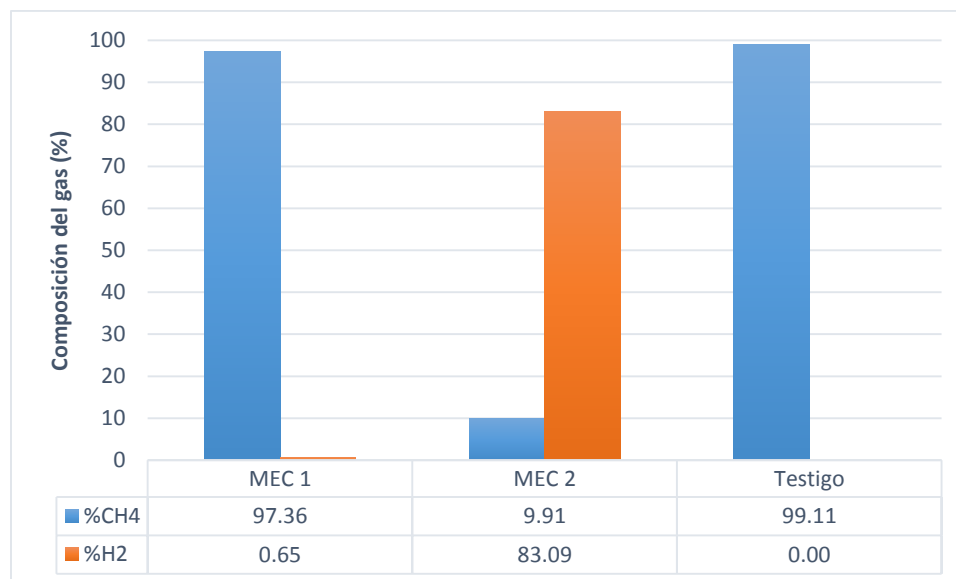


Imagen 45. Promedio de la composición del gas para la MEC 1, la MEC 2 y el testigo

En la Imagen 45 se presentan los promedios para cada uno de los sistemas, para MEC 1 se encuentra una mínima cantidad de hidrógeno (1%) y una gran cantidad de metano (97%), mostrando que para largos periodos de alimentación la parte biológica conlleva un mayor peso dentro del sistema. Para la MEC 2 las altas composiciones de hidrógeno (en promedio, 83%)

muestran que a cortos periodos de alimentación se favorece más la generación y la obtención del hidrógeno.

Porcentaje de Remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO). La DQO medida estuvo en el rango de 1000 mg/L para los tres sistemas, lo cual concuerda con la caracterización de los lodos anaerobios de la Tabla 20. Fue necesario realizar dilución de las muestras 1:10 ó 1:25 debido a la alta concentración de DQO de las muestras, la curva de DQO utilizada se empleó para concentraciones desde 20 hasta 900 mg/L, y en este caso se tienen valores por encima de 1000 mg/L.

En la Imagen 46 se presenta la remoción de DQO para los primeros 10 periodos de alimentación.

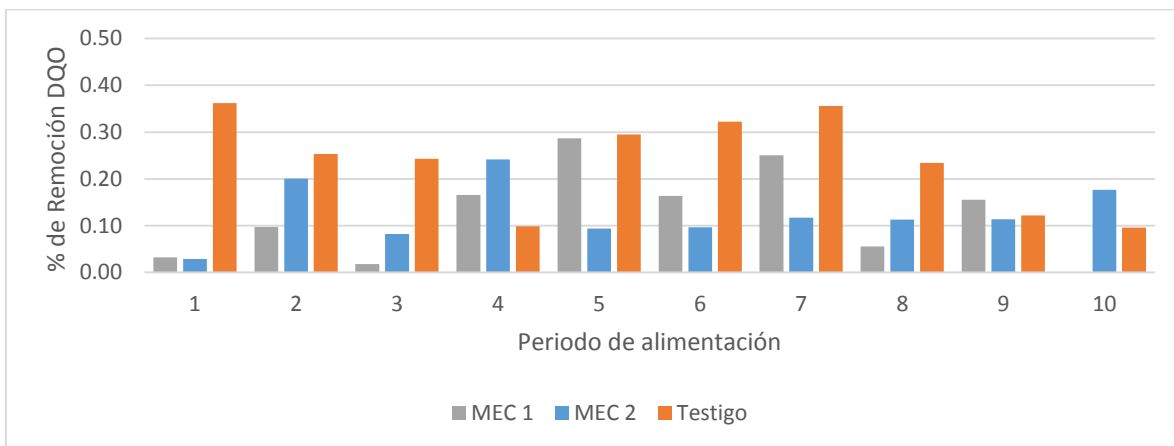


Imagen 46. Porcentaje de Remoción de DQO durante los 10 primeros periodos de alimentación para la MEC 1, la MEC 2 y el testigo

En el ANEXO 12 se presenta el cambio en la concentración [Δ DQO (mg/L)] y el porcentaje de remoción para los periodos de alimentación correspondientes 9, 21 y 11 para los tres sistemas, respectivamente.



Las celdas tuvieron casi el mismo periodo de operación, razón por la cual al tener periodos de alimentación menores para la MEC 2, se obtuvieron más periodos de alimentación durante el mismo tiempo de operación, debido a esto se generaron 24 periodos de alimentación para la MEC 1, 9 periodos de alimentación para la MEC 2 y 10 periodos de alimentación para el testigo.

La mayor remoción de DQO se obtuvo para el testigo, lo cual no justifica la mínima cantidad de gas generado en el sistema, se puede deber a fugas en el sistema o a la acumulación de sustrato o crecimiento de biota, lo cual se analizará en el análisis de Sólidos. La remoción de DQO para la MEC 1 y la MEC 2, es baja con 14 y 16%, respectivamente, para la MEC 1 una máxima remoción de DQO de 29% y para la MEC 2 una máxima remoción del 37%.

Sólidos Totales y Sólidos Volátiles. Los sólidos totales se monitorearon antes y después de alimentar, considerando antes de alimentar como el fin del periodo de alimentación y el después como el inicio del periodo de alimentación.

Tabla 23. Monitoreo de ST y SV para la MEC 1 durante 9 periodos de alimentación

Periodo	Fecha	Día	ST (mg/L)	SV (mg/L)	Δ ST (mg/L)	Δ SV (mg/L)
1	08/09/2014	1	18500	14200	4980	5540
		1	23480	19740		
2	14/09/2014	7	10940	5980	1260	780
		8	12200	6760		
3	22/09/2014	13	27100	16760	5000	640
		14	32100	16120		
4	29/09/2014	20	24720	14520	7620	3160
		21	32340	17680		
5	06/10/2014	28	20640	12540	4540	3340
		29	25180	9200		
6	13/10/2014	34	22260	10640	6860	2300
		35	29120	12940		
7	20/10/2014	41	36200	20380	940	3020
		42	37140	17360		
8	27/10/2014	48	38060	18720	8100	4740
		49	46160	23460		
9	04/11/2014	56	33180	12080	140	240
		57	33320	12320		

En la tabla anterior se presentan los sólidos totales y los sólidos volátiles para la MEC 1. Para sólidos totales se tienen datos desde 10,000 hasta 46000 mg/L, y para sólidos volátiles desde 6,000 hasta 23,000 mg/L.

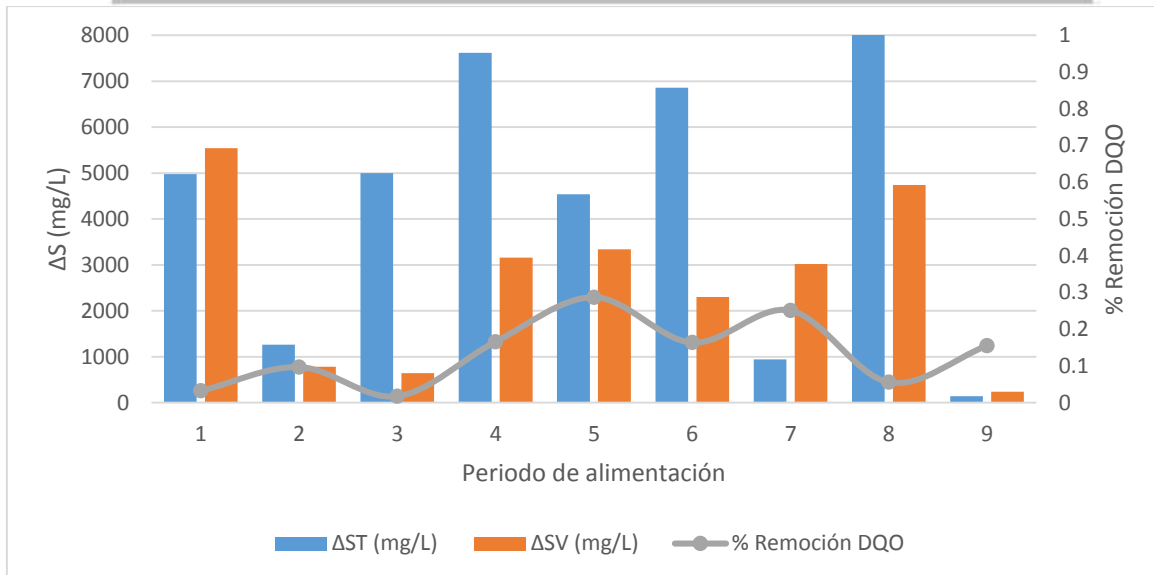


Imagen 47. ΔST (mg/L) y ΔSV (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para la MEC 1

Para la MEC 2 en la tabla siguiente se presentan los valores de ST y SV para 18 periodos de alimentación de los 24 periodos de alimentación disponibles para esta celda. Los ST van desde 18,000 hasta 43,000 mg/L, y los SV desde 12,000 hasta 19,000 mg/L. Por lo cual se deduce una menor variación en la materia orgánica del sistema y una mayor presencia de biota.

Tabla 24. Monitoreo de ST y SV para la MEC 2 durante 9 periodos de alimentación

Periodo	Día	ST (mg/L)	SV (mg/L)	ΔST (mg/L)	ΔSV (mg/L)
1	1	18500	14200	340	1500
	2	18160	12700		
3	8	20880	13220	4660	880
	9	25540	12340		
4	15	25640	17580	5280	580
	16	30920	17000		
7	22	41100	18740	3700	660
	23	37400	19400		
11	29	43820	19460	13280	4620
	30	30540	14840		
12	36	32000	14880	1400	420
	37	33400	15300		
15	43	24980	12400	10260	6800
	44	35240	19200		
16	50	27820	13300	9080	2440
	51	36900	15740		
18	56	39760	17620	2960	6020
	57	36800	11600		

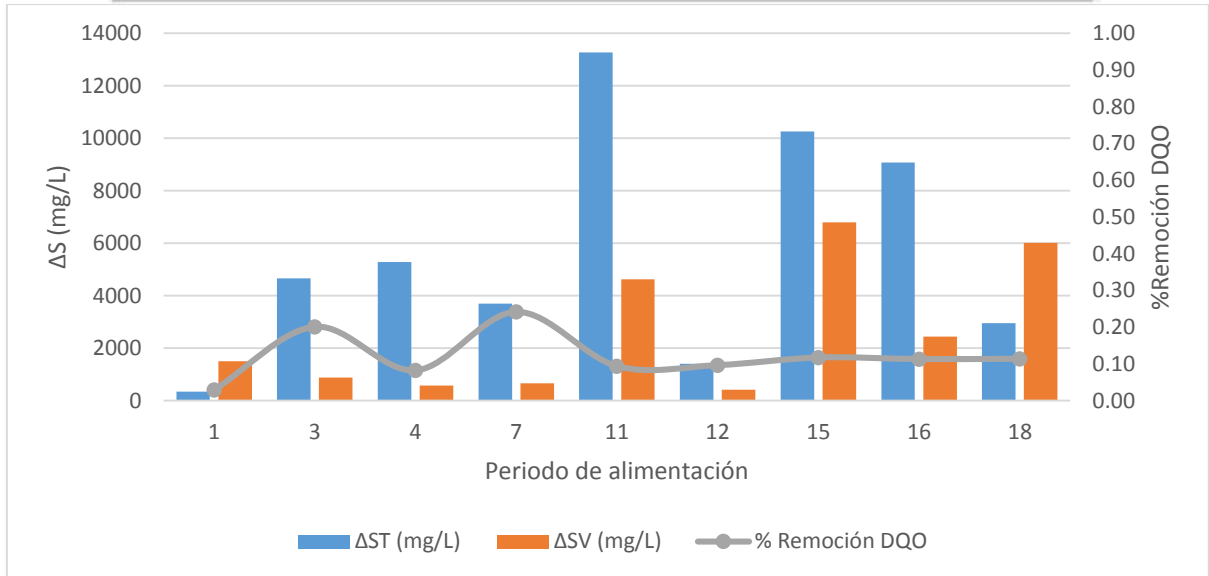


Imagen 48. ΔST (mg/L) y ΔSV (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para la MEC 2

En la Imagen 48 se presenta el cambio de ST y SV en la MEC 2 comparados con el Porcentaje de Remoción de DQO. Durante los primeros periodos de alimentación el cambio de SV es muy bajo por lo cual no hay variación en la biota del sistema pero si hay un crecimiento o descenso de biota después del periodo de alimentación 15. En cuanto a ST a la mitad del tiempo de operación se observa un cambio drástico, lo que indica el consumo del sustrato disponible. Lo que puede indicar que a la mitad del tiempo de operación el sistema alcanza cierto equilibrio en el cual el sustrato alimentado se alcanza a degradar casi en su totalidad, lo cual se puede corroborar con una tendencia después del periodo 11 para el porcentaje de la remoción de la DQO.

Tabla 25. Monitoreo de ST y SV para el Testigo durante 9 periodos de alimentación

Periodo	Día	ST (mg/L)	SV (mg/L)	Δ ST (mg/L)	Δ SV (mg/L)
1	1	18500	14200	33300	24600
	1	51800	38800		
2	8	66140	32420	40120	12840
	9	26020	19580		
3	13	25080	13000	4160	240
	14	20920	13240		
4	20	34640	17760	17460	8900
	21	52100	26660		
5	28	32960	27260	7440	16000
	29	25520	11260		
6	34	16100	6720	3050	3200
	35	13050	9920		
7	41	20270	8870	4650	510
	42	24920	9380		
8	48	29640	12520	2160	2020
	49	31800	10500		
9	56	35240	12020	16420	14800
	57	51660	26820		

Para el testigo se alcanzan valores desde 13,000 hasta 66,000 mg/L de ST y valores desde 6,000 hasta 38,000 mg/L de SV como se puede observar en la Tabla 25. En este caso hay una mayor variación tanto de sustrato como de biota presente en el sistema.

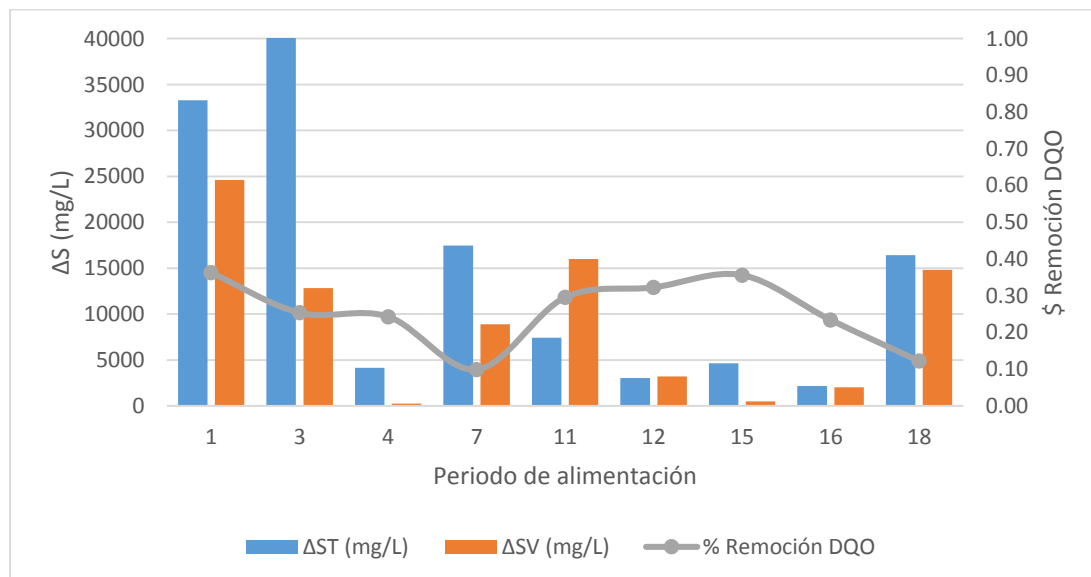


Imagen 49. Δ ST (mg/L) y Δ SV (mg/L) comparado con el % de Remoción de DQO para el testigo

La variación de ST alcanza un cambio hasta de 40,000 mg/L, lo que indica que el sustrato se consume, el cambio en los SV indican que hay crecimiento de biota y este punto puede justificar el alto porcentaje de remoción de DQO alcanzado (Imagen 49).

pH. Para el caso de ambas MEC el pH incrementa debido a la formación de bicarbonatos por la reacción global de la celda, tendiendo un valor de 9 por la disminución de protones libres en el sistema utilizados para la generación del hidrógeno. En el caso del testigo el sistema no se acidifica como se esperaba, también tiende a un pH de 9, esto se puede deber a que los protones disponibles en el sistema son utilizados por las arquea metanogénicas para generar metano. La variación del pH para los tres sistemas se presenta en la Imagen 50 durante el tiempo de operación de las celdas.

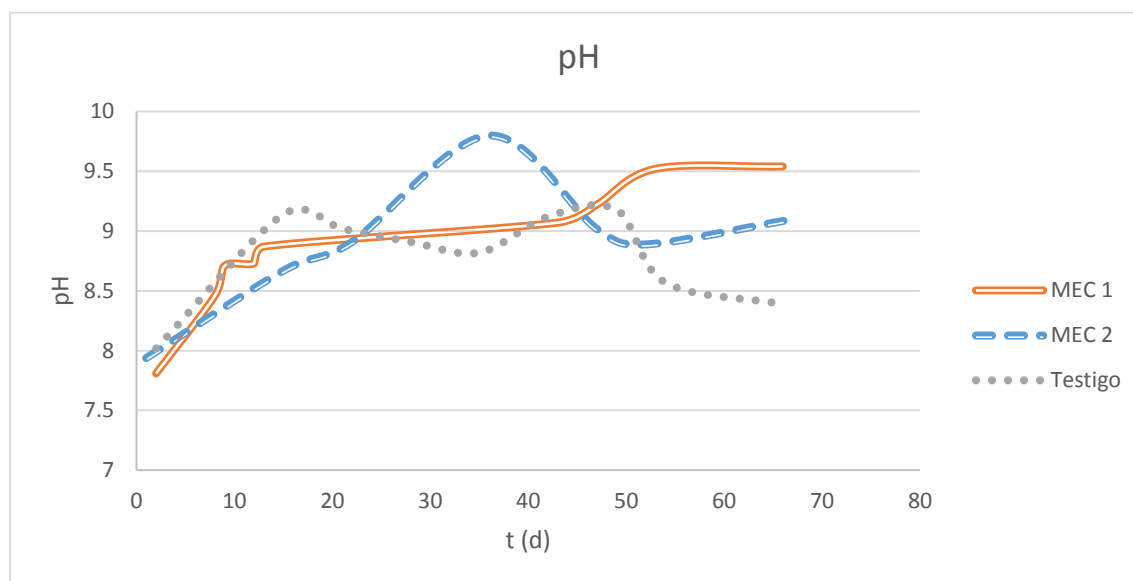


Imagen 50. pH de los tres sistemas durante todo el ciclo de operación

Intensidad de corriente. La intensidad de corriente se midió directamente en la fuente de poder en el caso de la MEC 2 cuando se alcanzaba a leer el valor o con un multímetro cuando la fuente marcaba 0. Como se midió periódicamente la intensidad de corriente de ninguno de los sistemas, se reporta la máxima y constante intensidad de corriente medida en cada uno de los sistemas, ya que permanecía constante durante casi todo el ciclo de operación de las celdas, dichos valores se presentan a continuación en la Tabla 26.

Tabla 26. Intensidad de corriente máxima para cada sistema

Sistema	Intensidad de corriente
MEC 1	0.00002 A
MEC 2	0.03 A
Testigo	0

En el caso de la MEC 1 la medición siempre tuvo un valor constante de 0.0002 A, el cual fue el valor utilizado para calcular las eficiencias del sistema, como se verá en el siguiente apartado. En el caso de la MEC 2 la intensidad medida tuvo valores desde 0 hasta 0.03 A, en la Imagen 51 se presenta la suposición de la intensidad de corriente con base en los valores medidos,

teniendo el valor menor de 0.02 A al inicio del periodo de alimentación hasta 0.03 A durante la mayor parte del periodo de alimentación, tendiendo a disminuir al final del periodo.

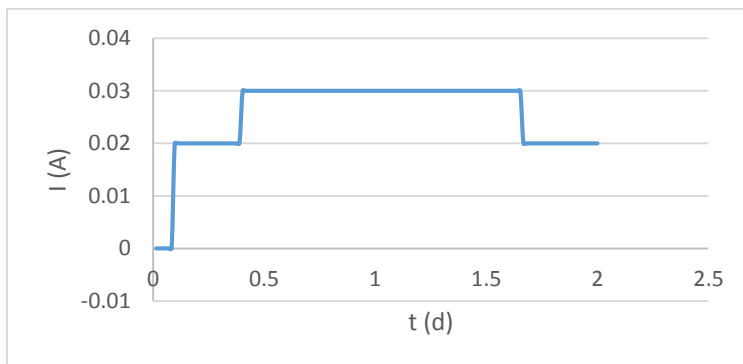


Imagen 51. Suposición del comportamiento de la intensidad de corriente para la MEC 2 durante un periodo de alimentación

Los valores de intensidad de corriente aquí descritos se utilizarán para el cálculo de las eficiencias de los sistemas en el siguiente apartado.

c) Determinación del potencial y de la eficiencia del sistema.

Eficiencia.

La eficiencia de cada una de las celdas se presenta en las siguientes tablas. Es importante señalar que se realizó la determinación de las eficiencias sin considerar la energía utilizada para brindar agitación y calentamiento a los sistemas.



Tabla 27. Determinación de las Eficiencias para la MEC 1 y para la MEC 2

Parámetro	MEC 1			MEC 2		
t (d)	13	35	64	22	36	59
Período	2	5	12	5	10	14
ΔDQO (mg/L)	1160.50	3249.39	1724.16	1458.91	1790.48	1458.91
% Remoción DQO	0.10	0.29	0.16	0.11	0.16	0.12
Δ DQO (g/L)	1.16	3.25	1.72	1.46	1.79	1.46
Δ DQO (mol/L)	0.0363	0.1015	0.0539	0.0456	0.0560	0.0456
coulombs/periodo	10.51	10.51	10.51	4392.13	4392.13	4392.13
CE (%)	12.02	4.29	8.09	62.40	50.85	62.40
V gas generado (L)	1.11	0.79	1.35	1.18	1.23	0.66
%CH ₄	0.99	0.94	0.99	0.73	0.97	0.79
%H ₂	0.01	0.01	0.01	0.27	0.03	0.00
Vol CH ₄ (L)	1.10	0.74	1.34	0.31	0.04	0.00
Vol H ₂ (L)	0.0079	0.0047	0.0087	0.8703	1.1878	0.5186
moles H ₂	0.0003	0.0002	0.0004	0.0356	0.0486	0.0212
mol e ⁻	0.0006	0.0004	0.0007	0.0712	0.0971	0.0424
coulombs H ₂	62.2722	37.3338	68.3352	6866.1411	9370.2149	4091.1971
Joules _{Eeq}	-80989.65	-80989.65	-80989.65	-18312.33	-18312.33	-18312.33
rCAT (%)	5.92	3.55	6.50	156.33	213.34	93.15
Energía generada como H ₂ (KJ)	0.09	0.06	0.10	10.17	13.88	6.06
rE (%)	12.20	7.31	13.39	210.51	287.28	125.43
moles consumidos	0.0363	0.1015	0.0539	0.0456	0.0560	0.0456
E _{sustrato} (KJ)	29.28	81.94	43.50	36.80	45.17	36.80
rE+S (%)	0.08	0.03	0.08	16.97	20.32	10.11

Los rendimientos calculados se realizaron sin considerar los equipos utilizados para calentar y agitar las celdas ya que no fue posible determinar la cantidad de energía requerida para la agitación y el calentamiento debido a una gran cantidad de pérdidas y resistencias en los sistemas, siendo mucho mayor la energía generada por el equipo que la que realmente utiliza el sistema.

Al evaluar el rendimiento sin considerar el calentamiento y la agitación, el rendimiento catódico para la MEC 1 dio rendimientos positivos pero muy bajos, mientras que para la MEC 2 los rendimientos fueron mayores al 100% lo que indica (como se ha mencionado en casos anteriores) que hay una recirculación del hidrógeno, y no todo es producido por la vía electroquímica. Es necesario realizar estudios adicionales para determinar el balance electrónico en el sistema.

Al considerar la eficiencia con respecto al sustrato y a la energía aplicada por separado (r_E y r_S), ninguno sobrepasa el 15% determinando que el sistema no es eficiente. Mientras que para la MEC 2 la eficiencia con respecto a la energía suministrada y al sustrato se encuentran por encima, en casi todos los casos, sobre el 100%. Al considerar la energía y el sustrato para el



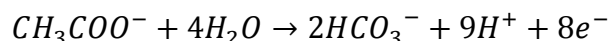
mismo rendimiento (r_{E+S}) en ambos casos los valores son muy bajos tanto para MEC 1 como para MEC 2.

En el caso del testigo no fue posible determinar ni eficiencia coulombica ni rendimiento debido a que no hubo producción de hidrógeno ni intensidad de corriente.



Conclusiones

- De las pruebas preliminares para la selección de la configuración de electrodos a utilizar que favorece la generación de hidrógeno y la remoción de DQO, resultó la selección de óxido de rutenio depositado en el ánodo y níquel metálico depositado en el cátodo.
- Utilizando la configuración de electrodos seleccionada en la pruebas preliminares realizadas, óxido de rutenio recubriendo el ánodo y níquel metálico recubriendo el cátodo, se obtuvo una generación promedio de $0.87 \text{ L}_{\text{Gas}}/\text{periodo}/\text{L}_{\text{reactor}}$ para la Celda de Electrólisis Microbiana para un ciclo de 168 horas; y un promedio de $1.15 \text{ L}_{\text{Gas}}/\text{periodo}/\text{L}_{\text{reactor}}$ para la Celda de Electrólisis Microbiana para un ciclo de 48 horas.
- De las pruebas realizadas para la comparación de materiales, se concluyó que el óxido de rutenio no supera la capacidad del platino como recubrimiento del ánodo debido a que se alcanzaron mayores intensidades de corriente con la celda con fieltro de carbono recubierto con platino para el ánodo.
- De las pruebas realizadas a los electrodos (EDS, área superficial, CV y SEM), se concluye que la presencia del óxido de rutenio incrementa la capacidad oxidante del fieltro de carbono actuando como catalizador e incrementando la cantidad de sitios activos en el electrodo, de tal forma que se incrementa la productividad de la celda.
- Para la celda alimentada cada 168 horas se tiene una producción de hidrógeno de $0.05 \text{ L}_{\text{H}_2}/\text{periodo}/\text{L}_{\text{reactor}}$ y de $1.1 \text{ L}_{\text{H}_2}/\text{periodo}/\text{L}_{\text{reactor}}$ para la celda con alimentada cada 48 horas.
- El gas generado en el blanco resultó en su mayoría metano por lo cual se asume que predomina un proceso de digestión anaerobia pura.
- Los sólidos volátiles promedio fueron de $4600 \text{ mg/d}/\text{L}_{\text{reactor}}$ para la Celda de Electrólisis Microbiana, todos los valores fueron cercanos, lo que indica que no hay un incremento relevante en la generación de microorganismos presentes en el sistema. En el blanco se observa una variación en la cantidad de sólidos volátiles en el sistema, lo cual indica generación o descenso de biota.
- Al reducir el tiempo de alimentación de 168 a 48 horas se obtuvo un incremento en la intensidad de corriente de 0.00002 A a 0.03 A ; lo que indica una menor resistencia en el sistema al flujo de electrones, lo que puede explicar el aumento en la generación de hidrógeno. Lo anterior se puede justificar por una mayor cantidad de sustrato disponible, que utilizan las archea metanogénicas en lugar del hidrógeno para generar metano.
- El pH se mantuvo en todos los casos entre 8 y 9.5, inclusive en el blanco, lo cual se puede deber a la generación de bicarbonatos en el sistema. El incremento de pH se debe a una disminución de protones disponibles (H^+) que son utilizados para producir hidrógeno, y a una posible generación de bicarbonatos. La presencia de carbonato puede ser un indicador de la generación de hidrógeno.



- El níquel metálico utilizado en el cátodo favorece la electrogeneración de hidrógeno.
- Con las pruebas realizadas en cromatografía se obtuvo una concentración de hasta 221056 ppm de hidrógeno (**96.78%**) para la celda operada con un periodo de



alimentación de 48-72 horas. En otras muestras se obtuvieron porcentajes entre el **75 y 80%** de hidrógeno.

- Al disminuir a la tercera parte el ciclo, 168 a 48 horas, se observó aumentó el porcentaje de generación de hidrógeno. Durante las primeras 48 horas del ciclo alto se observaba la mayor generación de gas, mientras que las siguientes 120 horas la producción de gas disminuía drásticamente, lo que indicaba que probablemente el sustrato se había terminado, y la generación de gas se debía a la producción por partes de las arquea Metanogénicas.



Conclusión general

- El uso de una membrana de intercambio iónico es una forma de control para la inhibición de las arqueas metanogénicas y generación de hidrógeno en los procesos de la Celda de Electrólisis Microbiana. En la literatura se ha insistido en su uso con tal de minimizar la cantidad de metano generado como subproducto, pero en este trabajo se ha observado que con un sistema sumamente simple sin membrana, en el cual se ocupan electrodos recubiertos con óxido de rutenio y níquel metálico, se pueden obtener altos porcentajes de hidrógeno sin concentración significativa de metano (**97% hidrógeno y 3% de metano**). Se requiere realizar estudios de los sistemas para determinar el balance electrónico en ambos y con esto justificar tanto los valores de remoción como el volumen de gas generado, determinando la generación de hidrógeno o metano con base en la caracterización de la biota del sistema; determinar presencia de electroquímicamente activos y acetoclásticos, y poder corroborar la procedencia del gas hidrógeno generado.



Bibliografía

- Ambler, J., & Logan, B. (2011). Evaluation of stainless steel cathodes and a bicarbonate buffer for hydrogen production in microbial electrolysis cells using a new method for measuring gas production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 16(1), 160-166.
- ASPO, Asociación para el estudio del CENIT del petróleo y el gas. (2004). *Asociación para el estudio del CENIT del petróleo y el gas, Boletín N.47*. Cork, Irlanda: ASPO, Association of the study of Peak Oil and Gas.
- Baranitharan, E., Maksudur, R., & Prasad, D. (2013). Treatment of Palm Oil Mill Effluent in Microbial Fuel Cell Using Polyacrylonitrile Carbon Felt as Electrode. *Journal of Medical and Bioengineering*, 2(4), 252-256.
- Bitton, G. (2005). *WasteWater Microbiology* (Tercera Edición ed.). Florida: WILEY.
- Call, D., & Logan, B. (2008). Hydrogen Production in a Single Chamber Microbial Electrolysis Cell Lacking a Membrane. *Environ Sci Technol*, 42, 3401-3406.
- Causapé Rodríguez, A. (2006). Las tecnologías de almacenamiento de hidrógeno en vehículos y su proyección de futuro. *Canales de mecánica y electricidad*, 20-23.
- Cercado, B., Cházaro-Ruiz, L., Ruiz, V., López-Prieto, I., Buitrón, G., & Razo-Flores, E. (2013). Biotic and abiotic characterization of bioanodes formed on oxidized carbon electrodes as a basis to predict their performance. *Science Direct, Biosensors and Bioelectronics*, 50, 373-381.
- Chen, Y., Zhisheng, L., Jianming, X., Dongqing, P., Yingxin, L., Jiaxian, C., . . . Chaohai, W. (2012). Stainless steel mesh coated with MnO₂/carbon nanotube and polymethylphenyl siloxane as low-cost and high-performance microbial fuel cell cathode materials. *Journal of Power Sources*, 201, 136-141.
- Clauwaert, P., & Verstraete, W. (2008). Methanogenesis in membraneless microbial electrolysis cell. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82, 836-842.
- Croese, E., Jeremiasse, A., Marshall, I., Spormann, A., Euverink, G.-J., Geelhoed, J., . . . Plugge, C. (2014). Influence of setup and carbon source on the bacterial community of biocathodes in microbial electrolysis cells. *Enzyme and Microbial Technology*, 61-62, 67-75.
- Fierro, J. (3 de Noviembre de 2014). *Cuadernos de la Fundación General CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas)*. Obtenido de LYNCHOS:
http://www.fgcsic.es/lychnos/es_es/articulos/hidrogeno_metodologias_de_produccion
- Generalitat de Catalunya. Gobierno de Catalunya. (Junio 2011). *Metodología de Inventarios de Gases de Efecto Invernadero (GEI). Cuestiones básicas*. Oficina Catalana de Cambio Climático. Obtenido de
http://canviclimatic.gencat.cat/web/.content/home/politiques/inventaris_demissions/mes_informacio_sobre_metodologies/metodologia_annex_es.pdf
- Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. (2008). *Cambio Climático 2007, Informe de Síntesis*. Suecia: Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, OMM y PNUMA.



- Grupo Lendiscal. (s.f.). *¿Qué combustible elegir? Valor energético de los combustibles*. Obtenido de Contenidos CTS de Termoquímica :
<http://www.gobiernodecanarias.org/educacion/3/usrn/lentiscal/1-cdquimica-tic/ctsa/ctstermo.pdf>
- Guo, K., Xinhua, T., Zhuwei, D., & Haoran, L. (2010). Hydrogen production from acetate in a cathode-on-top-single-chamber microbial electrolysis cell with a mipor cathode. *ElServier*, 51, 48-52.
- Guo, X., Liu, J., & Xiao, B. (2013). Bioelectrochemical enhancement of hydrogen and methane production from the anaerobic digestion of sewage sludge in single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38, 1342-1347.
- Gutiérrez Jodra, L. (2005). El hidrógeno, combustible del futuro. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.*, 99(1), 49-67.
- Hong, L., & Hongqiang, H. (2010). Microbial electrolysis : novel technology for hydrogen production from biomass. *Future Science Group*, 1, 129-142.
- Hrapovic, S., Manuel, M., Luong, J., Guiot, S., & Tartakovsky, B. (2010). Electrodeposition of nickel particles on a gas diffusion cathode for hydrogen production in a microbial electrolysis cell. *Science Direct*, 35, 7313-7320.
- Hu, H., Fan, Y., & Liu, H. (2008). Hydrogen production using single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *Water Research*, 42, 4172-4178.
- Ibañez Abad, J. (Septiembre 2010). *Desarrollo de microsensores de oxígeno disuelto*. Barcelona: UAB.
- IPCC, I. P. (2014). *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change*. Berlín: WHO, UNEP.
- Jeremiasse, A. W., Hamelers, H., & Buisman, C. (2010). Microbial electrolysis cell with microbial biocathode. *ElServier*, 78(1), 39-43.
- Kuroda, M., & Watanabe, T. (1995). CO₂ Reduction to methane and acetate using a bio-electroreactor with immobilized methanogens and homoacetogens on electrodes. *Pergamon*, 36, 6-9.
- Lenin, B. M. (2013). Bio-electrolytic conversión of acidogenic effluents to biohydrogen: An integration strategy for higher substrate conversion and product recovery. *ElServier*, 133, 322-331.
- Logan, B. (2008). Microbial Electrolysis Cells for High Yield Hydrogen Gas Production from Organic Matter. *Enviromental Science and Technology*, 42, 23-29.
- Mook, W., Taeib Aroua, M., Chakrabarti, M., & Noor, I. (2013). A review on the effect of bio-electrodes on denitrification and organic matter removal processes in bio-electrochemical systems. 19(1-13).
- Nam, J.-Y., Tokash, J., & Logan, B. (2011). Comparision of microbial electrolysis cells operated with added voltaje or by seting the anode potencial. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 10550-10556.
- Perl, H. (Septiembre de 2007). Hidrógeno: El hijo del viento. *Ciencia Hoy*, 17(100). Obtenido de <http://www.estrucplan.com.ar/articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=1675>
- Rader, G., & Logan, B. (2010). Multi-electrode continuos flox microbial electrolysis cell for biogas production from acetate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 8848-8854.



- Revelo, D., Hurtado, N., & Ruíz, J. (2013). CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS (CCMS): UN RETO PARA LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y LA GENERACIÓN DE ENERGÍA ELÉCTRICA. *24(6)*.
- Revelo, D., Hurtado, N., & Ruíz, J. (2013). Microbial Fuel Cells (MFCS): A challenge for the removal of organic matter and electricity generation. *Scielo Chile, Scientific electronic Library Online, 24*.
Obtenido de http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642013000600004&script=sci_arttext
- Rozendal, R. (2007). *Tesis Doctorado: Hydrogen production through biocatalyzed electrolysis*. Wageningen, Países Bajos: Wageningen University.
- Rozendal, R., Hamelers, H., Molenkamp, R., & Buisman, C. (2008). Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends Biotechnol, 26 (8)*, 450-459.
- Ruíz, Y., Baeza, J., & Guisasola, A. (2014). Enhanced Performance of Bioelectrochemical Hydrogen Production using a pH Control Strategy. *Chem Pub Soc, 1-10*.
- Selembo, P., Merrill, M., & Logan, B. (2009). The use of stainless Steel and nickel alloys as low-cost cathodes in microbial electrolysis cells. *Electrochim Acta, 54*, 271-278.
- Tice, R., & Younggy, K. (2014). Methanogenesis control by electrolytic oxygen production in microbial electrolysis cells. *Hydrogen Energy, 39*, 3079-3086.
- Turner, J. (2004). Sustainable Hydrogen Production. *Science Magazine, 305*, 972-974.
- Wang, A., Wenzong, L., Shaoan, C., Defeng, X., Jizhong, Z., & Logan, B. (2009). Source of methane and methods to control its formation in single chamber microbial electrolysis cell. *Electrochim Acta, 54(9)*, 3653-3658.
- Wrana, N., Sparling, R., Cicek, N., & Levin, D. (2010). Hydrogen gas production in a microbial electrolysis cell by electrohydrogenesis. *Journal of Cleaner Production, 18*, S105-S111.
- Xiao, P., Zhang, Y., García, B., Sepehri, S., Liu, D., & Cao, G. (2008). Nanostructured Electrode with Titania Nanotube Arrays: Fabrication, Electrochemical Properties, and Applications for Biosensing. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 8*, 1-11.
- Xuesong, G., Junxin, L., & Benyi, X. (2013). Bioelectrochemical enhancement of hydrogen and methane production from the anaerobic digestion of sewage sludge in single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells. *International Journal of Hydrogen Energy, 38*, 1342-1347.
- Zhisheng, L., Daohai, X., Xianjun, Y., Chunhua, F., & Chaohai, W. (2012). Ruthenium oxide-coated carbon felt electrode: A highly active anode for microbial fuel cell applications. *Journal of Power Sources, 210*, 26-31.

Anexos

ANEXO 1. Normalización del volumen

El volumen generado se normalizo con base en la siguiente ecuación:

$$V_N = \frac{V \cdot P \cdot T_N}{T \cdot P_N} \quad (27)$$

Donde V es el volumen medido, P = 0.77 atm y T=295.15, que son la presión atmosférica y la temperatura ambiente de la Cd. De México. T_N y P_N , son la temperatura y la presión a condiciones estándar, 1 atm y 298.15 k, respectivamente.

ANEXO 2. Solución PBS 10X

Tabla 28. Preparación Solución PBS 10X

Reactivo	Masa (g)	
NaCl	80.06	Preparar la solución y llevar el pH a 7.3 con ácido clorhídrico
KCl	2.013	
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	11.52	Para la Microscopía electrónica de barrido diluir 1:10, para utilizar la PBS 1X
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1.93	

ANEXO 3. Solución de micronutrientes utilizada

Tabla 29. Solución de micronutrientes

Solución	Reactivo	Concentración
<i>Solución de micronutrientes Para la preparación de la solución disolver primero la rezarsurina y después agregar los demás elementos. Agitar hasta la completa disolución</i>	FeCl ₃ · 4H ₂ O	2000 mg/l
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	2000 mg/l
	MnCl · 4H ₂ O	500 mg/l
	CuCl · 2 H ₂ O	30 mg/l
	ZnCl ₂	50 mg/l
	H ₃ BO ₃	50 mg/l
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	90 mg/l
	NaSeO ₃ · 5H ₂ O	100 mg/l
	NiCl ₂ · 6H ₂ O	50 mg/l
	EDTA	1000 mg/l
	HCl 36%	1 mg/L
	Resazurina	500 mg/L

ANEXO 4. Demanda Química de Oxígeno.

La Demanda Química de Oxígeno es una medición del equivalente al oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica e inorgánica en el agua, que es susceptible a una oxidación mediante un agente químico oxidante fuerte. El método para determinar DQO se realizó con base a la NMX-AA-030-SCFI-2001, en el cual se lleva a cabo una oxidación enérgica de la materia orgánica e inorgánica en un medio fuertemente ácido (H_2SO_4) con una solución valorada de dicromato de potasio a $140^{\circ}C$. Posteriormente se cuantifica el dicromato remanente espectrofotométricamente mediante una curva de calibración. La ecuación obtenida para la curva de calibración fue la siguiente:

$$DQO \left(\frac{mg}{L} \right) = 3315.7 * Absorbancia - 7.704 \quad (28)$$



Imagen 52. Curva de calibración DQO

ANEXO 5. Carbono Orgánico Total

El Carbono Orgánico Total (COT) se determinó con un analizador de COT con una curva de calibración de 0 a 1000 mg/L. El principio de operación del analizador de COT es la combustión de la materia orgánica para finalmente obtener dióxido de carbono y agua, los gases de combustión se hacen pasar a través de un analizador de infrarrojo sensibilizado para dióxido de carbono y la respuesta se recoge en un registrador. La muestra para determinar el COT fue 1:100. Se colocaron aproximadamente 30 mL de muestra en los tubos del equipo y se agregó 1 mL de ácido nítrico. Posteriormente se colocaron en el equipo, se utilizó una curva de calibración para altas mediciones de COT (de 100 a 1000 g COT/L).

ANEXO 6. Sólidos Totales y Sólidos Volátiles

Los Sólidos Totales (ST) y los Sólidos Volátiles (SV) se determinaron con base en la NMX-AA-034-SCFI-2001. Los ST determinan la cantidad total de materia orgánica presente y se obtienen por la evaporación de un volumen conocido de muestra hasta llevarlo a sequedad a $105^{\circ}C$ y cuantificando la masa del residuo. Los SV determinan la cantidad de biota presente en la muestra y se determinan por la diferencia de los ST y los ST calcinados a una temperatura de $550^{\circ}C$. Para los sólidos se tomaron 5 mL de cada para cada muestra. El pH de hidrógeno se cuantificó con un potenciómetro.



ANEXO 7. Medio preparado "GENOCOV"

Se trabajó con el medio que utiliza GENOCOV como inóculo, a continuación se presenta en la siguiente tabla la preparación de un 0.5 L de dicha solución.

Tabla 30. Preparación 0.5 L medio "GENOCOV"

Reactivos	Concentración		Cantidad	
PBS	172	mL/L	86	mL
NH ₄ Cl	9.75	mL/L	4.875	mL
FeCl ₂	1	mL/L	0.5	mL
Na ₂ S	1.5	mL/L	0.75	mL
micronutrientes	5	mL/L	2.5	mL
BES	2.11	g/L	1.055	g
CH ₃ COONa	40	mL/L	20	mL
BES	50	mM	5.275	mL

ANEXO 8. Método de la bolsa de gas "Ambler"

Para el método de ambler es necesario realizar dos pruebas de cromatografía por cada muestra. La primera se toma directamente de la bolsa, posteriormente se inyecta un volumen de nitrógeno conocido a la muestra (en este caso se utilizaron 3mL) y finalmente se realizan los cálculos que se presentan a continuación. El volumen inicial de nitrógeno en la bolsa de gas ($V_{T,b,i}$) se puede calcular como el producto de la fracción mol inicial en la bolsa de gas ($X_{T,b,i}$) y el volumen total inicial del volumen en la bolsa de gas ($V_{b,i}$) como se presenta en la siguiente ecuación:

$$V_{T,b,i} = X_{T,b,i} * V_{b,i} \quad (29)$$

Después del análisis de la composición inicial del gas (la cual implica pérdidas del volumen del gas) y la adición de cierto volumen de nitrógeno, la fracción mol de nitrógeno puede calcularse como sigue:

$$X_{T,b,f} = \frac{V_{T,b,i} + V_{T,b,a} - V_L * X_{T,b,i}}{V_{b,i} + V_{T,b,a} - V_L} \quad (30)$$

Donde $X_{T,b,f}$ es la fracción mol de nitrógeno después de la adición de un volumen de nitrógeno conocido a la bolsa y V_L es el volumen total de gas perdido en la bolsa durante el análisis. Combinando ambas ecuaciones y arreglando términos, el volumen total inicial de la bolsa de gas se puede obtener de los datos obtenidos en ambos análisis:

$$V_{b,i} = \frac{-V_{T,b,a} + V_L * X_{T,b,i} + V_{T,b,a} * X_{T,b,f} - V_L * X_{T,b,f}}{X_{T,b,i} - X_{T,b,f}} = V_L + V_{T,b,a} \frac{1 - X_{T,b,f}}{X_{T,b,f} - X_{T,b,i}} \quad (31)$$

El volumen total de hidrógeno y metano puede calcularse como el producto de su fracción molar inicial y el volumen de gas y el volumen libre en el reactor (V_h):

$$V_{H_2} = X_{H_2,b,i} * (V_{b,i} + V_h) \quad (32)$$

Donde V_{H_2} es el volumen de hidrógeno producido y $X_{H_2,b,i}$ es la fracción mol inicial de hidrógeno en la bolsa de gas.

$$V_{CH_4} = X_{CH_4,b,i} * (V_{b,i} + V_h) \quad (33)$$

Donde V_{CH_4} es el volumen de metano producido y $X_{CH_4,b,i}$ es la fracción mol inicial de metano en la bolsa de gas.



ANEXO 9. Producción de gas para la MEC 1 durante 71 días

Tabla 31. Producción de gas por la MEC 1 durante 71 días

Periodo	Fecha	Día	Hora	Δt (h)	V p (mL)	V a (mL)	V p n (mL)	V a n (mL)	V n por periodo (L)
1	11/09/2014	1	10:00	0	0	0	0	0	0.81
		1	14:00	4	10	10	7.79	7.13	
	15/09/2014	5	10:00	68	30	40	23.36	28.54	
		5	16:00	6	1000	1040	778.84	742.07	
2	18/09/2014	8	09:00	139	640	1680	498.45	1198.73	1.33
		8	14:00	5	1000	2680	778.84	1912.26	
	22/09/2014	12	09:00	89	70	2750	54.52	1962.21	
3	25/09/2014	15	09:00	144	1000	3750	778.84	2675.74	1.85
	29/09/2014	19	09:00	96	610	4360	475.09	3110.99	
		20	10:00	25	500	4860	389.42	3467.76	
	30/09/2014	20	14:00	4	270	5130	210.29	3660.41	
01/10/2014		22	09:00	19	1000	6130	778.84	4373.94	0.99
	22	12:00	3	100	6230	77.88	4445.29		
	02/10/2014	23	10:00	22	50	6280	38.94	4480.97	
4	03/10/2014	24	10:00	24	120	6400	93.46	4566.60	0.90
	07/10/2014	28	17:00	103	150	6550	116.82	4673.63	
		13/10/2014	34	20:00	141	1000	7550	778.84	
5	14/10/2014	35	10:00	14	10	7560	7.788	5394.29	2.33
	15/10/2014	36	10:00	24	0	7560	0	5394.29	
16/10/2014		37	10:00	24	420	7980	327.11	5693.98	
17/10/2014		38	10:00	24	230	8210	179.13	5858.09	
18/10/2014		39	14:00	28	1000	9210	778.84	6571.62	
20/10/2014		40	13:00	47	340	9550	264.80	6814.22	
6	21/10/2014	41	10:00	21	1000	10550	778.84	7527.75	0.42
	23/10/2014	43	11:00	25	0	10550	0	7527.75	



8		43	13:00	2	260	10810	202.50	7713.27	2.27
	24/10/2014	44	10:00	21	280	11090	218.07	7913.06	
	31/10/2014	51	09:00	167	1700	12790	1324.02	9126.06	
	03/11/2014	54	09:00	72	800	13590	623.07	9696.88	
	04/11/2014	55	12:00	27	50	13640	38.94	9732.57	
	05/11/2014	56	10:00	22	330	13970	257.02	9968.03	
9	07/11/2014	56	14:00	4	40	14010	31.15	9996.57	1.91
		58	09:00	19	80	14090	62.31	10053.65	
	10/11/2014	58	19:00	10	80	14170	62.31	10110.73	
		61	11:00	64	1000	15170	778.84	10824.26	
	11/11/2014	61	14:00	3	120	15290	93.46	10909.89	
		62	12:00	22	60	15350	46.73	10952.70	
12/11/2014	63	11:00	23	190	15540	147.98	11088.27		
	63	14:00	3	920	16460	716.53	11744.72		
	63	17:00	3	10	16470	7.79	11751.85		
10	13/11/2014	64	09:00	16	1000	1000.00	17470.00	778.84	2.36
	14/11/2014	65	10:00	25	650	700.00	18170.00	545.19	
	17/11/2014	68	09:00	71	760	290.00	18460.00	225.86	
	18/11/2014	69	09:00	24	30	30.00	18490.00	23.37	
		69	14:00	4	580	580.00	19070.00	451.73	
	19/11/2014	70	09:00	20	0	0.00	19070.00	0.00	
70		18:00	9	530	430.00	19500.00	334.90		
11	20/11/2014	71	14:00	20	440	20460	342.69	14598.84	0.38
		71	17:00	3	50	20510	38.94	14634.52	

* p -puntual

* a – acumulado

* n – normalizado



ANEXO 10. Producción de gas para la MEC 2 durante 73 días

Tabla 32. Producción de gas por la MEC 2 durante 73 días

Periodo	Fecha	Día	Hora	Δt (h)	V p (mL)	V a (mL)	V p n (mL)	V a n (mL)	V n por periodo (L)
1	08/09/2014	1	17:00	0	0	0	0.00	0.00	0
2	12/09/2014	5	11:00	49	72	72	51.37	51.37	0.05
3	18/09/2014	11	09:00	47.33	1000	1072	713.53	764.91	0.71
4		11	14:00	5	1000	2072	713.53	1478.44	1.50
	19/09/2014	12	11:00	19	60	2132	42.81	1521.25	
		12	14:00	3	1040	3172	742.07	2263.32	
5	22/09/2014	15	09:00	45	300	3472	214.06	2477.38	1.18
	23/09/2014	16	10:00	25	90	3562	64.22	2541.60	
		16	14:00	4	260	3822	185.52	2727.12	
	24/09/2014	17	12:00	23	1000	4822	713.53	3440.65	
6	25/09/2014	18	09:00	19	660	5482	470.93	3911.58	0.54
		18	11:00	2	30	5512	21.41	3932.98	
		18	14:00	3	60	5572	42.81	3975.79	
7	29/09/2014	22	10:00	92	1000	6572	713.53	4689.33	1.18
		22	17:00	7	590	7162	420.98	5110.31	
	30/09/2014	23	10:00	17	70	7232	49.95	5160.26	
8		23	14:00	4	1000	8232	713.53	5873.79	0.86
	01/10/2014	24	09:00	19	200	8432	142.71	6016.49	
9		24	12:00	3	300	8732	214.06	6230.55	0.93
	02/10/2014	25	10:00	22	1000	9732	713.53	6944.08	
10	03/10/2014	26	10:00	24	400	10132	285.41	7229.50	0.29
11	07/10/2014	30	10:00	24	95	10227	67.79	7297.28	0.07
12	13/10/2014	36	10:00	144	1000	11227	713.53	8010.81	1.23
	14/10/2014	37	10:00	24	720	11947	513.74	8524.55	
13	16/10/2014	39	10:00	48	280	12227	199.79	8724.34	0.20



14	17/10/2014	40	10:00	24	380	12607	271.14	8995.48	0.98
	18/10/2014	41	14:00	28	1000	13607	713.53	9709.02	
15	20/10/2014	43	13:00	49	0	13607	0.00	9709.02	0.00
	21/10/2014	44	10:00	21	0	13607	0.00	9709.02	
16	24/10/2014	47	10:00	24	680	14287	485.20	10194.22	0.49
17	31/10/2014	53	09:00	168	600	14887	428.12	10622.33	0.43
18	03/11/2014	56	09:00	72	200	15087	142.71	10765.04	0.16
	04/11/2014	57	12:00	27	20	15107	14.27	10779.31	
19	06/11/2014	59	10:00	46	650	15757	463.80	11243.11	0.66
		59	14:00	4	270	16027	192.65	11435.76	
20	10/11/2014	63	11:00	93	70	16097	49.95	11485.71	0.97
		63	14:00	3	150	16247	107.03	11592.74	
	11/11/2014	64	10:00	22	895	17142	638.61	12231.35	
		64	12:00	2	240	17382	171.25	12402.59	
21	12/11/2014	65	11:00	23	190	17572	135.57	12538.17	0.66
		65	14:00	3	200	17772	142.71	12680.87	
		65	17:00	3	390	18162	278.28	12959.15	
	13/11/2014	66	09:00	16	150	18312	107.03	13066.18	
22	14/11/2014	67	10:00	1	1000	19312	713.53	13779.71	0.86
		67	13:00	3	200	19512	142.71	13922.42	
23	17/11/2014	70	09:00	68	1000	20512	713.53	14635.95	2.00
	18/11/2014	71	09:00	24	1000	21512	713.53	15349.48	
		71	14:00	5	270	21782	192.65	15542.13	
	19/11/2014	72	09:00	19	530	22312	378.17	15920.30	
24	20/11/2014	73	14:00	29	210	22522	149.84	16070.14	0.19
		73	17:00	5	50	22572	35.68	16105.82	

* p -puntual

* a – acumulado

* n – normalizado



ANEXO 11. Producción de gas para el testigo durante 73 días

Tabla 33. Producción de gas Testigo durante 73 días

Periodo	Fecha	Día	Hora	Δt (h)	V p (mL)	V a (mL)	V p n (mL)	V a n (mL)	V n por periodo (L)
1	10/09/2014	1	13:00	0	0	0	0.0000	0.0000	0.0000
	11/09/2014	2	10:00	21	0	0	0.0000	0.0000	
2	18/09/2014	9	10:00	168	0	0	0.0000	0.0000	0.0000
3	28/09/2014	19	10:00	240	0	0	0.0000	0.0000	0.0000
4	07/10/2014	28	10:00	216	0	0	0.0000	0.0000	0.0000
5	10/10/2014	31	10:00	72	6	6	4.6730	4.6730	0.0047
6	17/10/2014	38	10:00	168	2	8	1.5577	6.2307	0.0016
7	21/10/2014	42	10:00	96	2	10	1.5577	7.7884	0.0031
	23/10/2014	44	10:00	48	2	12	1.5577	9.3460	
8	29/10/2014	50	16:00	150	4	16	3.1153	12.4614	0.0062
	31/10/2014	52	10:00	42	4	20	3.1153	15.5767	
9	06/11/2014	58	10:00	144	1	21	0.7788	16.3556	0.0023
	07/11/2014	59	16:00	30	2	23	1.5577	17.9132	
10	12/11/2014	64	16:00	120	4	27	3.1153	21.0286	0.0031
11	25/11/2014	73	16:00	216	1	28	0.7788	21.8074	0.0008

* p -puntual

* a – acumulado

* n – normalizado



ANEXO 12. Δ DQO y porcentaje de remoción DQO para los tres sistemas.

Tabla 34. Δ DQO (mg/L) y Porcentaje de Remoción DQO para la MEC 1, la MEC 2 y el Testigo

Sistema	MEC 1		MEC 2		Testigo	
	Δ DQO (mg/L)	% Remoción DQO	Δ DQO (mg/L)	% Remoción DQO	Δ DQO (mg/L)	% Remoción DQO
1	397.88	0.03	331.57	0.03	5835.63	0.36
2	1160.50	0.10	2354.15	0.20	3249.39	0.25
3	198.94	0.02	862.08	0.08	2155.21	0.24
4	2287.83	0.17	3448.33	0.24	663.14	0.10
5	3249.39	0.29	1127.34	0.09	2884.66	0.30
6	1724.16	0.16	1127.34	0.10	2221.52	0.32
7	629.98	0.25	1293.12	0.12	4045.15	0.36
8	663.14	0.06	1392.59	0.11	2752.03	0.23
9	1724.16	0.16	1458.91	0.11	1425.75	0.12
10	-	-	2519.93	0.18	1094.18	0.10
11	-	-	2088.89	0.18	-	-
12	-	-	1259.97	0.10	-	-
13	-	-	1293.12	0.11	-	-
14	-	-	1458.91	0.12	-	-
15	-	-	1790.48	0.16	-	-
16	-	-	2088.89	0.18	-	-
17	-	-	1160.50	0.10	-	-
18	-	-	3050.44	0.29	-	-
19	-	-	1624.69	0.20	-	-
20	-	-	4708.29	0.37	-	-
21	-	-	2420.46	0.30	-	-
22	-	-	3050.44	0.26	-	-
23	-	-	1293.12	0.12	-	-
24	-	-	1027.87	0.09	-	-
Promedio		0.14		0.16		0.24

Para la MEC 1 se tuvieron 9 periodos y para el testigo 10 periodos, por esta razón se coloca (-) ya que solo MEC 2 tuvo 24 periodos.