



"Norteamérica y el Caribe en el camino hacia el desarrollo sostenible"

XII Congreso Regional para Norteamérica y el Caribe
Primer Simposio Interamericano de AIDIS Joven y
Primer Encuentro Internacional de Jóvenes Investigadores en Evaluación de Tecnología
Ambiental, EJITA, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, UJAT



PRODUCCIÓN DE ENERGÍA EN UN REACTOR BIO-ELECTROQUÍMICO GENERADOR DE HIDRÓGENO

Edson Baltazar Estrada-Arriaga^a, Oscar Guadarrama-Pérez^a, Jesús Hernández-Romano^b

^aInstituto Mexicano de Tecnología del Agua, Paseo Cuauhnahuac 8532, Progreso, Jiutepec, Morelos C.P. 62550, Mexico

^bUniversidad Politécnica del Estado de Morelos, Paseo Cuauhnahuac 566, Lomas del Texcal, Jiutepec, Morelos 62550, Mexico

E-mail: edson_estrada@tlaloc.imta.mx, gpoo115713@upemor.edu.mx, jhernandez@upemor.edu.mx.

Resumen

En este estudio se investigó el arranque de un reactor bio-electroquímico para la generación simultánea de electricidad y bio-hidrógeno a través de la degradación de sucrosa como fuente de carbono. El reactor fue sometido a diferentes inóculos y operado con un tiempo de residencia hidráulica de 8 d con una temperatura de 32°C. El voltaje máximo generado usando una resistencia externa de 1,000 Ω fue de 671 mV. La máxima densidad de potencia y volumétrica obtenida en el sMER-H₂ fue de 46 mW/m² y 6.4 W/m³. La velocidad máxima de producción de bio-hidrógeno fue de 5.2 L H₂/L·d. con rendimientos de hasta 2.39 mol H₂/mol sucrosa. La aplicación de esta nueva configuración de reactor bio-electroquímico generó electricidad y bio-hidrogeno en un solo paso.

Palabras claves

Reactor bio-electroquímico; electricidad; bio-hidrógeno

Introducción

Los sistemas bio-electroquímicos (SBE) se caracterizan por utilizar microorganismos para la generación de electricidad o biogás mediante reacciones anódicas y catódicas dentro de una configuración electroquímica que utilizan la materia orgánica como una fuente de combustible (McCormick et al., 2015). Los SBE pueden clasificarse en celdas de combustible microbianas (CCM) o en celdas de electrólisis microbianas (CEM); la clasificación dependerá del modo de operación y la obtención de electricidad (Pant et al., 2011). Las celdas de combustible microbianas son sistemas bio-electroquímicos que genera electricidad directamente con poca producción de hidrógeno en forma de protones que se forma durante la degradación de la materia orgánica contenida en las aguas residuales (Logan et al., 2015; Li et al., 2014). Las CEM son sistemas bio-electroquímicos que puede convertir la materia orgánica en hidrógeno utilizando una pequeña carga de electricidad (0.4-0.9 V) (Heidrich et al., 2013). La producción biológica de hidrógeno también representa una tecnología prometedora del futuro ya que se considera una fuente limpia y renovable, además de que

posee el mayor contenido energético por unidad de peso, 122-142 kJ/g, comparado con cualquier combustible conocido (Yasin et al., 2013). Para la producción de bio-hidrógeno a partir de sistemas bio-electroquímicos se ha utilizado la combinación de celdas individuales de una CCM y una CEM, donde el voltaje generado por la CCM es aplicado en la CEM para generar hidrógeno (Kadier et al., 2016). Hasta el momento no se han encontrado estudios sobre la producción simultánea de electricidad e hidrógeno en un solo reactor. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue evaluar el arranque de una configuración de reactor bio-electroquímico operado en modo continuo para la producción simultánea de electricidad y bio-hidrógeno.

Métodos

Sistema experimental

Se utilizó una celda de acrílico de 10 L el cual operó en modo continuo bajo condiciones anaerobias a una temperatura de 32°C y un pH entre 5.5 y 6.5. El reactor se operó con un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 8 d (Figura 1). La celda trabajo a un voltaje a circuito cerrado utilizando una resistencia externa de 1,000 Ω . La configuración de la celda fue de tipo aire-cátodo. Se utilizaron dos cátodos colocados en las paredes laterales del reactor. Cada cátodo estuvo formado por una tela de carbón con un área superficial de 0.0135 m² e impregnada con 0.5 mg de PbO₂/cm². La tela de carbón fue ensamblada a una membrana de intercambio catiónico con un área superficial de 0.0135 m². Se utilizó una lámina de cobre con un área de 0.003 m² como colector de electrones. Como ánodo se utilizaron tres fieltros de carbón apilados y conectados entre sí, todos con un área superficial de 0.0098 m². Un alambre de cobre comunicó a los tres fieltros de

carbón para formar un solo recolector de electrones. El biogás producido por bioreactor fue captado en la parte superior del reactor por medio de un separador gas-líquido-sólido.

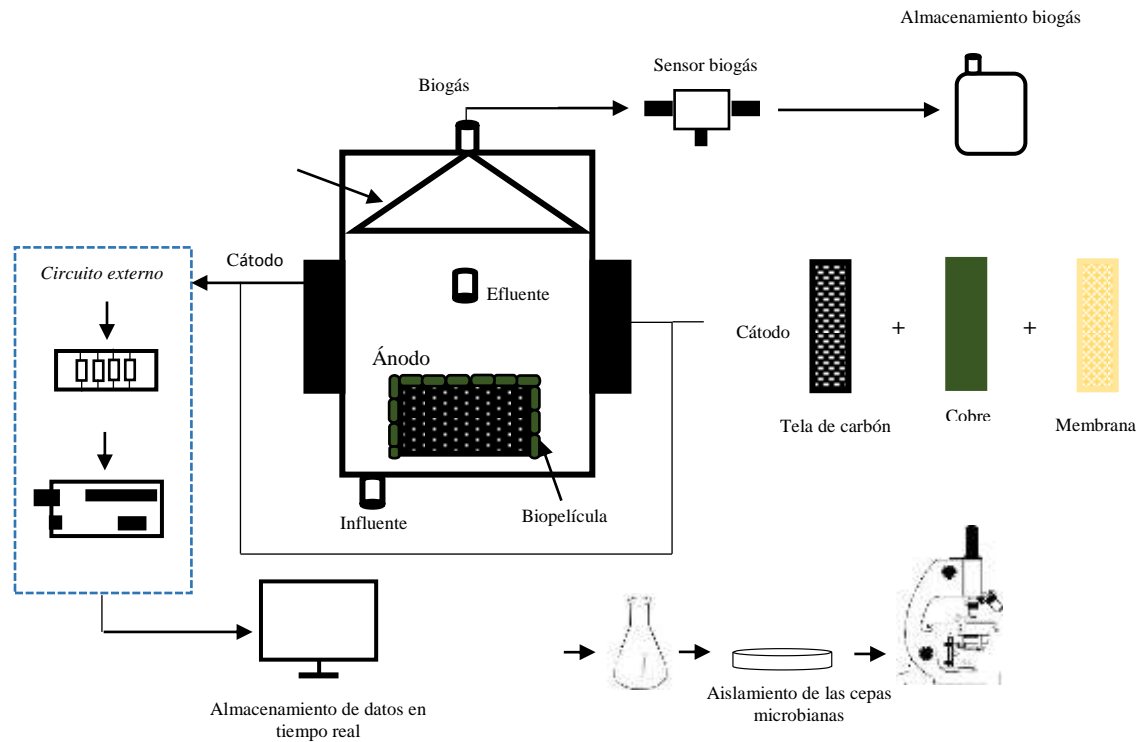


Figura 1. Reactor bio-electroquímico generador de bio-hidrógeno

El reactor fue alimentado con una solución sintética que contenía los siguientes nutrientes en g/L: 1.3 g de NH_4Cl , 0.25 g de KH_2PO_4 , 0.125 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.0025 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.025 g de K_2HPO_4 , 0.0005 g de H_3BO_3 , 0.0005 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.0001 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.0025 g de Kl , 0.0001 g de Na_2HPO_4 y 1 g de sucrosa. El agua sintética se acidificó a un pH 5.5-6.5 con H_2SO_4 .

Fuente de inóculos

Se probaron tres diferentes tipos de fuentes de inóculos para determinar el mejor consorcio microbiano para la mejor producción de bio-energía en términos de producción de electricidad e hidrógeno. Cada inóculo fue depositado sobre toda la superficie de los fieltros de carbón con el objetivo de desarrollar una biopelícula sobre el ánodo. El primer inóculo microbiano (I1) se formó a partir de una alimentación continua al reactor con agua residual municipal cruda. El segundo inóculo (I2) se tomó a partir de un aislamiento de bacterias proveniente de una mezcla de lodo granular anaerobio obtenido de un reactor UASB y de sedimentos recolectados de un lago artificial en proporción 50/50 (v/v).

La mezcla de lodos anaerobios fue sometida a un pretratamiento térmico y ácido, el cual consistió en calentar la mezcla en baño María a una temperatura de 35 °C durante 7 d con un pH de 5.5, después, la mezcla de lodos fue sometida a un choque térmico a 105 °C durante 15 min. Finalmente se tomaron muestras de los lodos secos y fueron sembradas de forma aseptica en cajas Petri con medio de cultivo NBY bajo condiciones anaerobias. Las colonias que crecieron en este medio fueron aisladas y caracterizadas a través de la respuesta a la técnica de Wirtz-Conklin y tinción de Gram para la determinación principalmente de Bacilos Gram positivos esporulados. Una vez identificadas las colonias, estas fueron aisladas y transferidas a un medio de cultivo líquido para su crecimiento masivo. Del cultivo líquido se tomaron 100 mL de las bacterias aisladas y fueron impregnadas uniformemente sobre la superficie del fieltro de carbón y sobre su interior. El tercer inóculo (I3) fue la mezcla de lodo granular anaerobio y sedimento anaerobio sometido al pretratamiento térmico-ácido. Quinientos mililitros del inóculo I3 en forma de polvo (< 500 μm) fue esparcido en toda el área del ánodo.

Mediciones analíticas

Las mediciones de la electricidad y bio-hidrógeno producido fueron colectadas en tiempo real usando un sistema de adquisición de datos basados en el software LabVIEW. La corriente, I (mA), se calculó usando la

formula $I = V/R_{ex}$, donde V (mV) es el voltaje y R_{ex} (Ω) es la resistencia externa. La densidad de potencia, P (mW/m^2) y la densidad de corriente, j (mA/m^2), se calcularon según $P = I \times V/A \times 1,000$ y $J = V/R_{ex} \times A$, respectivamente, donde A (m^2) es el área superficial del ánodo. La densidad de potencia volumétrica se calculó utilizando la formula $P_v = P \times A/V$, donde V (m^3) es el volumen del reactor. La composición de biogás (H_2 , CH_4 y CO_2) se determinó con un cromatógrafo de gases SRI 8610C acoplado a un detector de conductividad térmica. Para medir el flujo volumétrico del biogás se utilizaron dos métodos simultáneos: 1) utilizando Flo-Sensor McMillan 100 microturbine el cual se conectó al sistema de adquisición de datos registrando la producción de biogás en mL/min en tiempo real y 2) mediante pruebas de desplazamiento volumétrico.

Resultados y discusión

Producción de electricidad y bio-hidrógeno con tres diferentes inóculos

En la Figura 2 se muestran los valores de voltaje y densidad de potencia producidas por el reactor bio-electroquímico. Los máximos voltajes alcanzados para los inóculos I1, I2 e I3 fueron de 240, 186 y 671 mV y las máximas densidades de potencias fueron 6, 3.5 y 46 mW/m^2 respectivamente. Durante la operación del sMER- H_2 utilizando el inóculo I1, la celda trabajó a un pH de 5.5 con el objetivo de inhibir a los microorganismos metanogénicos y estimular el desarrollo de las bacterias productoras de hidrógeno (Reyes-Contreras and Vidal, 2015). Bajo estas condiciones se generó hidrógeno, sin embargo, la producción de voltaje disminuyó rápidamente llegando a valores de 0 mV, esto fue debido a las condiciones ácidas del medio lo que generó una inhibición de las bacterias exoelectrogenas. Las bacterias electroactivas se desempeñan favorablemente a pH cercanos a la neutralidad (Mckormik et al., 2015). Después, el pH fue ajustado a 6.5 favoreciéndose nuevamente el desarrollo de las bacterias exoelectrógenas e incrementándose el voltaje nuevamente. Para los inóculos I2 y I3 el pH se controló a 6.5 con el fin de incrementar la producción de electricidad e estimular el desarrollo de bacterias exoelectrogenas.

Para cada condición de operación, se observó un incremento del voltaje durante los primeros días, este comportamiento fue debido a la colonización y desarrollo de la biopelícula (principalmente bacterias exoelectrógenas y productoras de hidrógeno) sobre el materia anódico lo que facilitó el transporte de electrones hacia el ánodo. Después se observó una disminución y estabilización del voltaje debido a una fase de decaimiento de las bacterias exoelectrogenas, lo cual afectó la producción y transferencia de electrones. Este comportamiento sugiere la presencia de otros microorganismos anaerobios adheridos sobre el ánodo

generando una competencia por el consumo del sustrato entre las bacterias exoelectrogenas y no exoelectrogenas. En condiciones estables los voltajes obtenidos fueron de 250, 110 y 85 mV con el inóculo I3, I1 y I2, respectivamente.

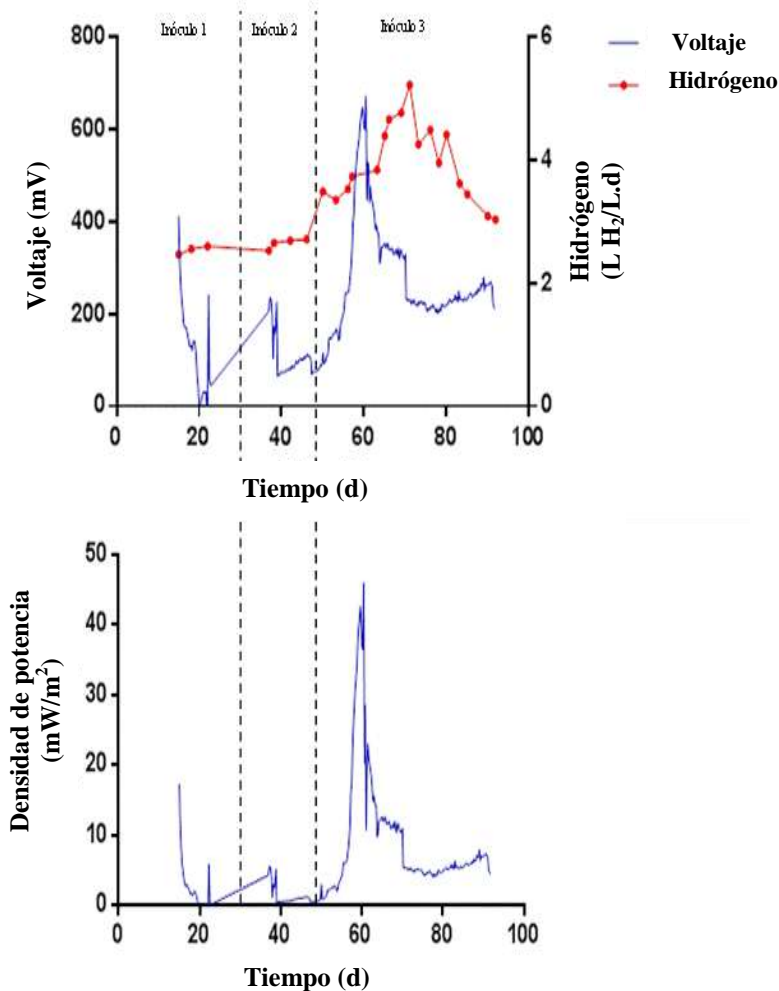


Figura 2. Evolución de la producción simultanea de electricidad y bio-hidrógeno en el reactor bio-electroquímico

La tasa de producción de hidrógeno se vio favorecida con el inóculo I3. La máxima producción de hidrógeno obtenido fue de 5.2 L $H_2/L \cdot d$. La producción de hidrógeno con el inóculo I1 fue de 2.4 L $H_2/L \cdot d$ y con el inóculo I2 se obtuvo una producción de 2.6 L $H_2/L \cdot d$. Parte del hidrógeno generado por el bioreactor fue utilizado en forma de protones (H^+), por lo que se generaron posiblemente altos potenciales catódicos. El incremento de electricidad fue proporcional al incremento de hidrógeno generado. Con el inóculo 3, la producción de hidrógeno y electricidad fue mayor debido probablemente a que este inóculo contenía un amplio consorcio bacteriano tanto de bacterias



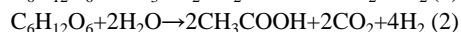
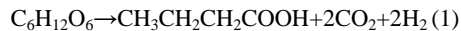
"Norteamérica y el Caribe en el camino hacia el desarrollo sostenible"

XII Congreso Regional para Norteamérica y el Caribe
Primer Simposio Interamericano de AIDIS Jóvenes y
Primer Encuentro Internacional de Jóvenes Investigadores en Evaluación de Tecnología
Ambiental, EJTA, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, UJAT



exoelectrónicas como de productoras de hidrógeno. Asimismo, la resistencia externa utilizada en la sMER-H₂ fue un factor clave para el desarrollo de ambos microorganismos. En estudios se han generado diferentes tasas de producción de hidrógeno en una CEM que van desde 0.015 hasta 17.8 L H₂/L.d (Heidrich et al., 2013). Estas variaciones dependieron del tipo de configuración de la celda, operación, de tipo sustrato e inóculo utilizado y de el voltaje aplicado. A través de los procesos de fermentación oscura se han obtenido tasas de producción de hidrógeno a nivel laboratorio entre 4 y 8 L H₂/L.d (Tao et al., 2007).

La cantidad de hidrógeno producido por mol de sustrato en la práctica es de alrededor de 2-3 moles de hidrógeno por mol de sustrato (Hallenbeck y Benemann, 2002). El rendimiento que puede alcanzarse en el proceso de producción de hidrógeno por digestión anaerobia es solamente el 33% de la demanda química de oxígeno (DQO) considerando que cada mol de sustrato es fermentada a dos moles de acetato, dos moles de dióxido de carbono y cuatro moles de hidrógeno (Kalogo y Bagley, 2008). Generalmente, la DQO transformada en hidrógeno está por debajo del 20% que corresponde a una media de 2.5 mol hidrógeno/mol sustrato. En este estudio el rendimiento para los inóculos I1, I2 y I3 fueron de 2.25, 2.32 y 2.39 mol H₂/mol sucrosa, respectivamente. Existen diferentes métodos para la producción de bio-hidrógeno, una de las principales formas de obtención es a través de la fermentación oscura utilizando reactores en lotes y completamente mezclado, con estos procesos se han obtenido rendimientos entre 0.58 y 4.55 mol H₂/mol de glucosa (Argun y Kargi, 2011). Por medio de las CEM se han obtenidos rendimientos de 3.7 mol H₂/mol de sucrosa. Teóricamente de la sucrosa se puede obtener directamente 2-4 mol H₂/mol de sucrosa (ecuación.1 y 2) (Hussy et al., 2005) por microorganismos anaerobios facultativos y obligados a través de compuestos intermediarios como el butirato o el acetato. Los valores obtenidos en este estudio se encontraron dentro de los valores teóricos de moles de hidrógeno a partir de la oxidación de la sucrosa.



Las condiciones de operación de esta nueva propuesta de configuración de la sMER-H₂ para la producción de hidrógeno tiene características semejantes a los reactores de fermentación oscura and de las CEM, sin embargo, la ventaja de esta nueva configuración del reactor bio-electroquímico es que no se utilizó una fuente de electricidad externa para la producción de hidrógeno generándose simultáneamente electricidad en un solo paso o bio-reactor. En la Tabla 1 se muestran los valores máximos de voltaje, densidad de potencia, densidad de potencia volumétrica, producción y

rendimiento hidrógeno generados por el reactor bio-electroquímico para cada inóculo.

Tabla 1. Producción máxima de electricidad y de hidrógeno en el reactor bio-electroquímico

Inóculo	Voltaje (mV)	Densidad de potencia (mW/m ²)	Densidad de potencia volumétrica (W/m ³)
I1	240	5.88	0.82
I2	186	3.53	0.49
I3	671	46	6.43

Inóculo	Producción de hidrógeno (L H ₂ /L.d)	Rendimiento de hidrógeno (mol H ₂ /mol sucrosa)
I1	2.7	2.2
I2	3.5	2.3
I3	5.2	2.4

En este estudio a través de la técnica de tinción de esporas (Wirtz-Conklin) se observaron bacterias Gram positivos esporulados (Figura 3). Se aislaron 8 bacterias de forma pura en el inóculo I2, dentro de la identificación morfológica con la tinción de Gram y la de Wirtz-Conklin se observó bacterias bacilos Gram positivas de tamaño corto, mediano y largo, algunas bacterias presenciaron esporas en los extremos de cada bacteria, otras contenían la espora en el centro, algunas esporas se observaron con mayor intensidad en el teñido. Con el inóculo I3 se aislaron 6 tipos de bacterias, en este inóculos se observó bacterias tanto Gram positivas como negativas en forma de cocos y bacilos de tamaño corto y mediano, no todas las bacterias presenciaron esporas, la tinción de esporas fue con menor intensidad en comparación con las bacterias provenientes del I2. En los aislamientos de ambos inóculos la forma de crecimiento se observó en colonias dispersas. Las bacterias observadas en este estudio podrían pertenecer a los géneros *Clostridium spp.*, *Citrobacterspp.* y *Bacullisspp.* (bacterias formadoras de esporas).

Producción total de biogás

En la Figura 4 se muestra la producción y composición del biogás (hidrógeno, metano y dióxido de carbono) en el reactor bio-electroquímico. Durante la operación del sistema con los inóculos I1, I2 y I3 la producción promedio de biogás fue de 3.2, 3.5 y 7 L/d, respectivamente. Del biogás total generado, el 74.5% correspondió al hidrógeno, el 18% al CH₄ y del 7.5% al CO₂. La producción de hidrógeno varió de acuerdo al inóculo utilizado dentro del sistema. La generación de metano se debió posiblemente a un desarrollo de pequeñas colonias de microorganismos metanogénicos sobre el material anódico pudiéndose haberse generado una competición por el dador de electrones entre los microorganismos productores de hidrógeno y otros microorganismos que pueden generar metano. Sin embargo, la producción de CH₄ y CO₂ fue baja y no fue

incrementada excepto con el inóculo I3 en donde el CO_2 se incrementó hasta un 18%. Un parámetro de operación que influyó en la producción de metano y dióxido de carbono en este estudio fue el alto HRT (8 d). Se ha demostrado que con bajos HRT se favorece la producción de hidrógeno (Sivagurunathan et al., 2016; Zhang et al., 2006). Otro parámetro que influyó en la aparición de CH_4 y CO_2 fue el pH. Las bacterias metanogénicas tienen actividad en un rango de pH 6-8, algunas especies acidófilas como *Methanobacterium espanolae* crecen a pH entre 5.6 y 6.2 (Bräuer et al., 2006b), por lo que algunas bacterias metanogénicas desarrolladas en el ánodo del bio-reactor pudieron haber producido metano.

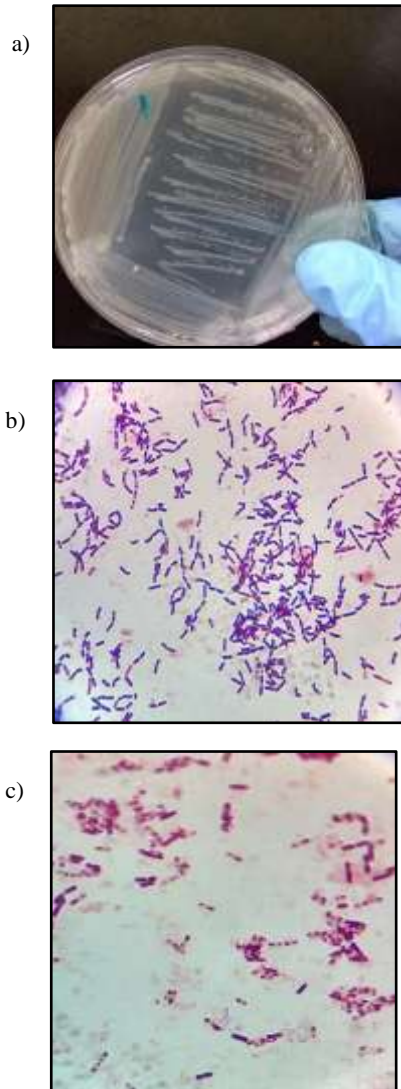


Figura 3. Aislamiento de las bacterias (a). Tinción de Gram (b). Tinción de esporas por el método de Wirtz Conklin (c)

Yang et al. (2007), ha reportado la presencia de metano en reactores productores de hidrógeno, indicando que es

posible que algunos de los microorganismos metanogénicos pueden resistir en la biopelícula formada en las paredes del bioreactor o en los materiales floculentos en suspensión protegiéndose de los pH ácidos.

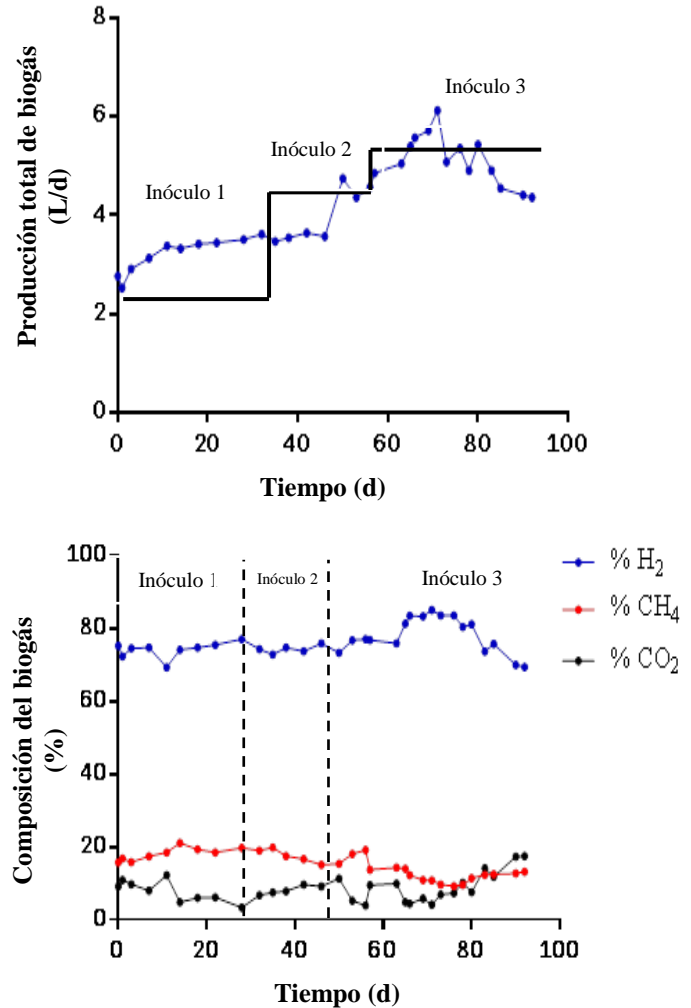


Figura 4. Producción y composición del biogás en el reactor bio-electroquímico

Conclusiones

El estudio demostró que durante el arranque del reactor bio-electroquímico generador de bio-hidrogeno un factor importante fue la selección de la fuente de inóculo y el pH. La máxima producción de electricidad y de hidrógeno en el reactor se obtuvo utilizando una mezcla del 50% de lodo granular anaerobio y sedimentos pretratados mediante un choque térmico y ácido. El voltaje máximo obtenido fue 671 mV, con una densidad de potencia de 46 mW/m^2 y una densidad de potencia volumétrica de 6.4 W/m^3 . La tasa de



“Norteamérica y el Caribe en el camino hacia el desarrollo sostenible”

XIII Congreso Regional para Norteamérica y el Caribe
Primer Simposio Interamericano de AIDIS Jóvenes y
Primer Encuentro Internacional de Jóvenes Investigadores en Evaluación de Tecnología
Ambiental, EJITA, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, UJAT



producción de hidrógeno fue de 5.2 L H₂/L.d con un rendimiento de hidrogeno 2.39 mol H₂/mol sucrosa. El pretratamiento que se realizó a los inóculos I2 e I3 y las condiciones de operación del reactor promovieron el desarrollo de bacterias productoras de electricidad y de hidrógeno en un solo paso.

Referencias

Argun, H., Kargi, F., Kapdan, I. K. (2009). Microbial culture selection for bio-hydrogen production from waste ground wheat by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, **34**(5), 2195-2200.

Bräuer, S. L., Yashiro, E., Ueno, N. G., Yavitt, J. B., Zinder, S. H. (2006b). Characterization of acid-tolerant H₂/CO₂-utilizing methanogenic enrichment cultures from an acidic peat bog in New York State. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **57**, 206-216.

Hallenbeck, P.C., Benemann, J.R. (2002). Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**, 1185-1193.

Heidrich, E.S., Dolfing, J., Scott, K., Edwards, S.R., Jones, C., Curtis, T.P., (2013). Production of hydrogen from domestic wastewater in a pilot-scale microbial electrolysis cell. *Environmental Biotechnology*, **97**, 6979-6989.

Hussy, I., Hawkes, F. R., Dinsdale, R., Hawkes, D. L. (2005). Continuous fermentative hydrogen production from sucrose and sugarbeet. *International Journal of Hydrogen Energy*, **30**(5), 471-483.

Kadier, A., Simayi, Y., Abdesahian., Azman, N.F., Chandrasekhar, K., Kalil, M.S. (2016). A comprehensive review of microbial electrolysis cells (MEC) reactor designs and configurations for sustainable hydrogen gas production. *Alexandria Engineering Journal*, **55** (1), 427-443.

Kalogo, Y., Bagley, D.M. (2008). Fermentative hydrogen gas production using biosolids pellets as the inoculum source. *Bioresource Technology*, **99**, 540-546.

Li, W.-W., Yu, H.-Q., He, Z. (2014). Towards sustainable wastewater treatment by using microbial fuel cells-centered technologies. *Energy and Environmental Science*, **7**, 911-924.

Logan, B.E., Wallack, M.J., Kim, K.-Y., He, W., Feng, Y., Saikaly, P.E. (2015). Assessment of microbial fuel cell configurations and power densities. *Environmental Science and Technology Letters*, **2**, 206-214.

McCormick, A. J., Bombelli, P., Bradley, R. W., Thorne, R., Wenzel, T., Howe, C. J. (2015). Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in

the world of bioelectrochemical systems. *Energy and Environmental Science*, **8**(4), 1092-1109.

Pant, D., Singh, A., Van Bogaert, G., Gallego, Y. A., Diels, L., Vanbroekhoven, K. (2011). An introduction to the life cycle assessment (LCA) of bioelectrochemical systems (BES) for sustainable

energy and product generation: Relevance and key aspect. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **15**, 1305-1313.

Reyes-Contreras, C., and Vidal, G. (2015). Methanogenic toxicity evaluation of chlortetracycline hydrochloride. *Electronic Journal of Biotechnology*, **18**(6), 445-450.

Sivagurunathan, P., Anburajan, P., Kumar, G., Kim S.-H. (2016). Effect of hydraulic retention time (HRT) on biohydrogen production from galactose in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, **41**(46), 21670-21677

Tao, Y., Chen, Y., Wu, Y., He, Y., Zhou Z. (2007). High hydrogen yield from a two-step process of dark- and photo-fermentation of sucrose. *International Journal of Hydrogen Energy*, **32** (2), 200-206.

Yang, P., Zhang, R., McGarvey, J. A., Benemann, J. R. (2007). Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. *International Journal of Hydrogen Energy*, **32**(18), 4761-4771.

Yasin, N. H. M., Mumtaz, T., Hassan, M. A. (2013). Food waste and food processing waste for biohydrogen production: a review. *Journal of Environmental Management*, **130**, 375-385.

Zhang, Z.-P., Show K.-Y., Yay, J.-H., Liang, D.T, Lee D.-J., Jiand W.-J. (2006). Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry*. **41**, 2118-2123.