

Información Importante

La Universidad de La Sabana informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad de La Sabana.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan finalidad académica, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, La Universidad de La Sabana informa que los derechos sobre los documentos son propiedad de los autores y tienen sobre su obra, entre otros, los derechos morales a que hacen referencia los mencionados artículos.

BIBLIOTECA OCTAVIO ARIZMENDI POSADA
UNIVERSIDAD DE LA SABANA
Chía - Cundinamarca

EVALUACIÓN OPERACIONAL DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE
MICROBIANA A ESCALA LABORATORIO PARA LA OBTENCIÓN DE
ELECTRICIDAD A PARTIR DE HECES DE CERDO Y RUMEN DE VACA

PAOLA ALEJANDRA TALERO MONTEALEGRE

UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ
2013

EVALUACIÓN OPERACIONAL DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE
MICROBIANA A ESCALA LABORATORIO PARA LA OBTENCIÓN DE
ELECTRICIDAD A PARTIR DE HECES DE CERDO Y RUMEN DE VACA

PAOLA ALEJANDRA TALERO MONTEALEGRE

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero
Químico

Director
Jorge Eduardo Cortázar Gómez
Ingeniero Químico
cPhD en Biotecnología

UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ
2013

Chía, 19 de Septiembre de 2013

Señores:
COMISIÓN DE FACULTAD
Facultad de Ingeniería
Universidad de La Sabana

Asunto: Nota de Aceptación de Tesis

De la manera más atenta me dirijo a ustedes para informarle que yo, JORGE EDUARDO CORTAZÁR GÓMEZ, como director del proyecto de grado “EVALUACIÓN OPERACIONAL DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA A ESCALA LABORATORIO PARA LA OBTENCIÓN DE ELECTRICIDAD A PARTIR DE HECES DE CERDO EN COMPARACIÓN CON RUMEN DE VACA” desarrollado por la estudiante PAOLA ALEJANDRA TALERO MONTEALEGRE del programa de Ingeniería Química, he revisado con detalle dicho proyecto y el trabajo escrito del mismo y doy mi aprobación para la presentación de éste a la Facultad como requisito parcial para la obtención del título de Ingeniero Químico por parte de la estudiante.

Agradezco de antemano la atención que se pueda prestar a la presente.

Cordialmente,

JORGE EDUARDO CORTAZÁR GÓMEZ
c.c. 93.406.314 de Ibagué
Docente de Cátedra Universidad de La Sabana

Los criterios expuestos, las opiniones expresadas y las conclusiones anotadas son responsabilidad del autor y no comprometen en nada a la Universidad de La Sabana.

El Autor

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Eduardo Cortázar Gómez por su constante apoyo y sus aportes científicos para el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Luis Eduardo Díaz Barrera por su apoyo incondicional y por el aporte de sus conocimientos.

A Jorge Alberto Rodríguez Orjuela por su apoyo y por el aporte de sus conocimientos en cuanto a biología molecular y procesos de anaerobiosis.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad de La Sabana por facilitarme todos los materiales, espacios y equipos requeridos para la elaboración de este proyecto.

A Martha Guerrero, Pilar Gómez, Carolina Suárez por toda la ayuda prestada en los laboratorios de la Facultad.

De forma personal agradezco a Dios, por darme los dones de paciencia, fortaleza y persistencia durante el transcurso de mi carrera. También quiero agradecer a mis padres por la comprensión y el apoyo que me han brindado, por estar siempre a mi lado. A mi novio, que a pesar de las dificultades siempre estuvo conmigo brindándome su apoyo y ayuda incondicional.

Finalmente, agradezco a toda mi familia y todas las personas que de una u otra manera participaron en la realización de este proyecto.

GLOSARIO

BIODEGRADABLE: sustancia susceptible a la descomposición de sus elementos químicos por acción de organismos vivos como plantas, animales y microorganismos, bajo condiciones ambientales naturales. (Castell, 1987).

BIODIGESTOR: contenedor hermético e impermeable, dentro del cual se deposita el material orgánico a fermentar (excrementos, desechos vegetales, excepto cítricos debido a que se acidifican, etc.), en determinada dilución de agua para que a través de la fermentación anaerobia se produzca gas metano y fertilizantes orgánicos ricos en Nitrógeno, Fósforo y Potasio y además, se disminuya el potencial contaminante de los excrementos. Pueden ser de flujo continuo o discontinuo. (Anónimo, 1999).

BIOGÁS: mezcla gaseosa constituida fundamentalmente por metano, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de hidrógeno (H_2), sulfuro de hidrógeno (SH_2) y nitrógeno (N). Este depende del material digerido y del funcionamiento del proceso. (Hilbert, 2007).

BIOMASA: masa de un conjunto de microorganismos que viven en un medio dado. (Castell, 1987).

CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA: biorreactor que convierte la energía química de los enlaces de los compuestos orgánicos en energía eléctrica a través de reacciones catalíticas de microorganismos bajo condiciones anaerobias. (Du, 2007).

DIGESTIÓN ANAEROBIA: proceso biológico degradativo, en el cual, parte de la materia orgánica contenida en un sustrato es convertida en una mezcla de gases, principalmente metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), mediante la acción de un conjunto de microorganismos en ausencia de aceptores de electrones de carácter inorgánico (O_2 , NO_3^- , $SO_4^{=}$). (Biodisol, 2002).

EFLUENTE: Producto líquido resultante de la degradación anaerobia y es la mezcla del influente estabilizada y la biomasa microbiana producida. (Hilbert, 2007).

MICROORGANISMOS: seres vivos diminutos que sólo pueden visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. Dentro de los microorganismos se encuentran organismos unicelulares procariotas como las bacterias y eucariotas como los protozoos. (Anónimo, 1993).

CONTENIDO

	pág.
1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	15
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.3. OBJETIVOS	18
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	18
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2. MARCO TEÓRICO	19
3. METODOLOGÍA	25
3.1. DISEÑO DEL EQUIPO	25
3.2. MONTAJE DE LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON HECES DE CERDO	27
3.3. MONTAJE DE LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON RUMEN DE VACA	29
3.3.1. Alimentado con Celulosa Soluble	29
3.3.2. Alimentado con Desechos Celulolíticos parcialmente Hidrolizados	30
3.3.3. Hidrólisis Ácida de Pasto Molido	31
3.4. EXTRACCIÓN DE ADN DE BACTERIAS	32
3.5. ELECTROFORESIS	32
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33

4.1.	CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON HECES DE CERDO	33
4.2.	CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON RUMEN DE VACA	34
4.2.1.	Alimentado con Celulosa Soluble	35
4.2.2.	Alimentado con Desechos Celulolíticos parcialmente Hidrolizados	37
4.3.	EXTRACCIÓN DE ADN Y ELECTROFORESIS	39
5.	CONCLUSIONES	40
6.	RECOMENDACIONES	41
7.	RECURSOS ECONÓMICOS, MATERIALES Y EQUIPOS	41
8.	BIBLIOGRAFÍA	42
9.	ANEXOS	48

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Análisis en matriz DOFA del proyecto.	16
Tabla 2. Tasas de generación de potencia reportada en la literatura.	20
Tabla 3. Costo detallado del proyecto.	42
Tabla 4. Composición de la Solución A.	48
Tabla 5. Composición de la Solución B.	48
Tabla 6. Composición de la Solución C.	48
Tabla 7. Composición de la Solución D.	49
Tabla 8. Composición de la Solución E.	49
Tabla 9. Composición de la Solución F.	49
Tabla 10. Composición de la Solución G.	49

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Gasto anual en electricidad vs. PIB per cápita en países Latinoamericanos.	15
Figura 2. Evolución de los aportes hídricos.	16
Figura 3. Celdas de Combustible Microbiano (MFC) con los pasos característicos del proceso.	21
Figura 4. Montaje de una Celda de Combustible Microbiano (MFC).	22
Figura 5. Montaje de una Celda de Combustible Microbiano de única cámara.	23
Figura 6. Montaje de una Celda de Combustible Microbiano de única cámara Con flujo descendiente.	23
Figura 7. Planos de la Celda de Combustible Microbiana diseñada vista vertical y superior.	25
Figura 8. Planos de la Celda de Combustible Microbiana diseñada vista 3D.	26
Figura 9. Imagen de la Celda de Combustible Microbiana construida.	26
Figura 10. Prueba de fugas previa al montaje.	27
Figura 11. Montaje inicial de la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.	27
Figura 12. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.	28
Figura 13. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa pura.	29
Figura 14. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con desechos celulolíticos.	30
Figura 15. Hidrólisis ácida de pasto molido.	31
Figura 16. Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.	33

Figura 17. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.	34
Figura 18. Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa pura.	35
Figura 19. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa pura.	36
Figura 20. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con desechos celulolíticos.	38
Figura 21. Solución de celulosa hidrolizada precipitada.	38
Figura 22. Bandas de ADN de la muestra final de la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo	39
Figura 23. Bandas de ADN de la muestra final de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca	39
Figura 24. Curva de calibración de DNS	50

1. INTRODUCCIÓN

Hoy por hoy la principal fuente de energía a nivel mundial es el petróleo y los diferentes productos de la industria petroquímica como el gas natural. Gracias a esto, actualmente existe un interés a nivel mundial en la búsqueda de energía a partir de fuentes renovables y biocombustibles, los cuales sean capaces de sustentar las necesidades mundiales y que se convierta en una forma de energía amigable con el medio ambiente, es decir, que considere los problemas asociados con el uso extensivo de combustibles basados en productos petroquímicos como por ejemplo la eficiencia energética, emisiones a la atmósfera y el cambio climático, actividades en áreas protegidas o sensibles y la gestión de residuos y emergencias como los derrames de petróleo (Petrobras, 2010).

La energía colombiana es una de las más competitivas del mundo, así lo señala el estudio de Competitividad Global de Energía 2012, realizado por el Instituto Choiseul y Kpmg. La energía eléctrica colombiana, según el índice es de alta calidad, confiable y respetuosa con el medio ambiente, gracias a la composición de su canasta energética, la cual combina la generación hidroeléctrica con la termoeléctrica para abastecerse en épocas de veranos muy prolongados. (Ministerio de Minas y Energía, 2011).

Pese a tener una de las energías más competitivas, varios sectores del país, sobre todo el industrial, afirman que la tarifa de cada kilovatio de energía es muy alta si se compara a Colombia con el resto del mundo; a lo que los agentes del mercado eléctrico responden que si bien producir es barato, hay bastantes factores en la generación que hacen que se incrementen los costos, aseguran que finalmente, se paga por la confiabilidad. (El Colombiano, 2013).

Otras desventajas de esta forma de obtención de energía eléctrica, son los altos costos de construcción para nuevos sistemas a gran escala; la perturbación del entorno de los ríos no navegables, la destrucción de aguazales y terrenos pantanosos a causa de la reducción del flujo de corrientes causado por las hidroeléctricas pequeñas; y cuando las turbinas se abren y cierran repetidamente, el caudal del río se puede modificar drásticamente causando dramáticas alteraciones en los ecosistemas (Colombia Energía, 2013).

Entre los principales combustibles estudiados como energías alternativas, se encuentran aquellos basados en la biomasa, debido a que ésta es la opción más lógica para el desarrollo sostenible en el contexto de las consideraciones económicas y ambientales. Los recursos biológicos renovables están disponibles a nivel mundial en forma de biomasa residual agrícola y los desechos pueden ser transformados en biocombustibles líquidos. Sin embargo, el proceso de conversión o transformación química, podría ser muy costoso y no vale la pena, mientras que el uso de una fuente económica comercial a gran escala de biocombustibles es una posibilidad viable. Y aquí es donde nace el interés en las energías alternativas (Demirbas, 2011).

Otra de las principales fuentes de energía más estudiadas, es el biodiesel y una de las técnicas más empleadas actualmente para su producción consiste en el uso de microalgas, éstas son cultivadas en biorreactores y estanques abiertos a nivel industrial. Sus diferentes tipos permiten un amplio campo de acción de las mismas, presentándose a su vez distintas aplicaciones como captura de CO₂, tratamiento de aguas residuales, entre otros (Mata, 2010).

Otro estudio que es necesario tener en cuenta (Serrano, 2009), abarca conceptos de nanotecnología, la cual ha estado generando una gran cantidad de atención en los últimos años y por lo tanto, se ha construido una gran expectativa no sólo en la comunidad académica sino también entre los inversores, los gobiernos y la industria. Su capacidad única para fabricar nuevas estructuras a escala atómica ya ha elaborado nuevos materiales y dispositivos con gran potencial de aplicaciones en un amplio número de campos. Muchos de sus avances, han sido significativos especialmente en el sector de la energía (Bunse, 2011). Esto debe hacerse de manera que incluya el medio ambiente en la ecuación de producción de riqueza a medida que se reúnan más evidencias del impacto humano sobre el clima, la biodiversidad y la calidad del aire, agua y suelo.

Los ejemplos más significativos de las contribuciones de la nanotecnología en el sector energético son el hidrógeno solar, las baterías de nueva generación y los supercondensadores.

A causa del poco rendimiento de las energías alternativas desarrolladas al día de hoy, se han generado otras nuevas opciones de energías alternativas como mezclas de dichas técnicas energéticas como por ejemplo, la fuente de energía (sol) y los medios de comunicación reactiva (agua) para la energía solar de división del agua, las cuales están fácilmente disponibles y proporcionan una fuente de energía renovable con mayor rendimiento; el combustible resultante (hidrógeno) y su producto de descarga (agua) son amigables con el medio ambiente (Giorgio, 2009). Por otro lado, Khursheed Karim realizó un estudio sobre un proceso híbrido encaminado más a la electroquímica de energía solar térmica, que aumenta sustancialmente el hidrógeno que se puede producir con la energía solar a través de una disminución de la tensión de disociación del agua que se produce al aumentar la temperatura. A diferencia de otros procesos, en este se utiliza el espectro solar completo para aumentar la eficiencia de la misma. El proceso híbrido combina la energía fotovoltaica con el exceso de calor sub-gap para entregar eficiencia a elevada temperatura y la electrólisis de agua solar para producir hidrógeno (Karim, 2005).

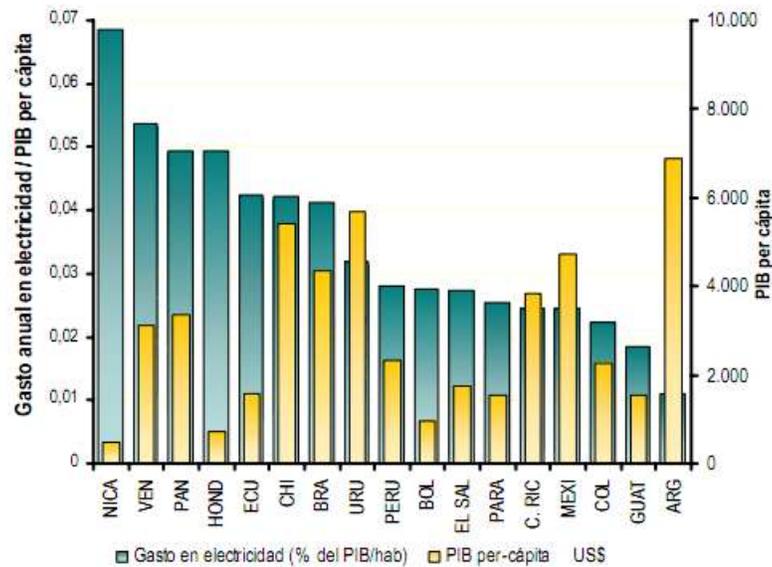
Retomando el enfoque de estudio de este proyecto, se encontró en diferentes estudios que la digestión anaerobia presenta mayor rendimiento cuando se lleva a cabo en biodigestores y se mantiene a temperaturas mesofílicas (entre 35 y 37 °C) debido a que es factible la estabilización de los residuos que alimentan el reactor. También durante la digestión anaerobia se produce biogás y a éstas temperaturas se genera mayor rendimiento del mismo (Padhiyar, 2006). Éste biogás también se emplea como energía alternativa y se obtienen excelentes resultados.

Estos altos rendimientos sumados con los bajos costos que se generan debido a que su principal alimento son desechos agroindustriales o incluso excremento de animales, lo hacen un proceso muy rentable (Ieropoulos, 2005).

1.1. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Este proyecto se realizó con el fin de encontrar una energía alternativa económica y amigable con el medio ambiente, de tal forma que contribuya a minimizar los gastos por electricidad en las familias de diferentes estratos, los cuales como se ve en la Figura 1, superan el ingreso per cápita en la mayoría de los países.

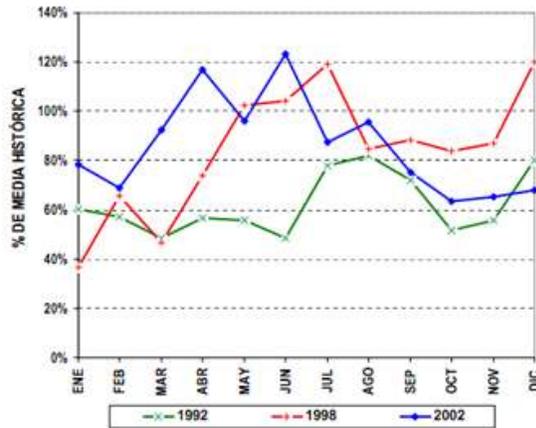
Figura 1. Gasto anual en electricidad vs. PIB per cápita en países Latinoamericanos.



Fuente: Colombia. Ministerio de Minas y Energía, 2004.

Según la Unidad de Planeación Minero Energética UPME (2013), actualmente en Colombia, el precio de la electricidad está en \$236,47/kWh (236,47 pesos colombianos por kilowatt por hora). Este elevado costo de electricidad se debe principalmente a que a medida que ha pasado el tiempo, los recursos hídricos se han convertido en la fuente primordial de energía, tal como se ve en la Figura 2. Esto implica que el costo de generación depende directamente del precio del agua, el cual a causa de la constante reducción de este recurso, es cada día más elevado.

Figura 2. Evolución de los aportes hídricos.



Fuente: UPME, 2013.

Por esta razón, surgen diversas fuentes de energías alternativas y entre ellas se encuentra la digestión anaerobia de desechos agrícolas tales como rumen de vaca y heces de animales de finca, entre las que sobresalen las de cerdo debido a que producen un mayor rendimiento que muchas otras por su gran cantidad de componentes orgánicos (Muñoz, 2009).

Este estudio presenta grandes ventajas frente al típico proceso de obtención de electricidad, tales como su precio y su contribución al medio ambiente, aprovechando los desechos que no cumplen ninguna utilidad. Sin embargo presenta debilidades como la posible contaminación olfativa, causada por los fuertes olores que se derivan de este proceso por lo cual se plantea la posibilidad de incluir filtros de carbón activado para reducir la emisión de éstos, adicionalmente el costo también puede verse afectado por la disponibilidad de las membranas, lo cual podría convertir el costo en una debilidad en lugar de una fortaleza. En la Tabla 1 se presenta la matriz DOFA del proyecto para mayor claridad del porqué del mismo.

Tabla 1. Análisis en matriz DOFA del proyecto.

MATRIZ DOFA	
Debilidades	Oportunidades
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Olores Desagradables. ▪ Posible Insuficiencia de Rendimiento. ▪ Costo Variable. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Posible Escala a Nivel Industrial. ▪ Contribución al Medio Ambiente. ▪ Innovación.
Fortalezas	Amenazas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Facilidad de Implementación. ▪ Facilidad de Obtención de Materias Primas. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Nueva Energía Alternativa.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La energía es fundamental para la humanidad debido a que es la base productiva y el tejido social de hoy en día (Casilda, 2002). Es por esto que la energía cada vez es requerida en mayores proporciones, sin embargo, el costo de la misma es cada vez más alto debido a que la producción de esta es cada vez más compleja y costosa (UPME, 2013). La mayoría de las materias primas empleadas hoy en día tales como el agua, el petróleo e incluso las que se encuentran en estudio como la energía eólica y solar, o los equipos empleados para la producción de electricidad actualmente como las hidroeléctricas, los molinos, las fotoceldas, entre otros, son onerosos o muy difíciles de controlar (Vargas, 2006).

La búsqueda constante de alternativas económicas y factibles para producir electricidad es cada vez más común y constante a nivel mundial. Con base en esto, se planteó que es posible generar electricidad a partir del tratamiento anaerobio de heces de cerdo (ALONSO, 1986) y rumen de vaca. Los microorganismos provenientes de estos desechos, son empleados como materia prima para una celda de combustible microbiana con membrana de intercambio catiónico a escala laboratorio, donde el tratamiento anaerobio provoca una liberación de energía, la cual al ser capturada por los electrodos de carbono se convierte en electricidad. Se emplea una membrana de intercambio catiónico debido a que presenta mejor rendimiento que otras membranas (Zhang, 2011). Por otro lado la principal razón para emplear electrodos de carbono es que presentan un alto rendimiento y una gran durabilidad en el tiempo.

Los tratamientos anaerobios son procesos muy complejos tanto por el número de reacciones bioquímicas que tienen lugar como por la cantidad de microorganismos que pueden estar involucrados en ellos. Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaerobia de la materia orgánica en cuatro fases o procesos: Hidrólisis, Etapa Fermentativa, Etapa Acetogénica y la Etapa Metanogénica, siendo la etapa fermentativa el punto crítico del proceso (Martí, 2006). Una celda de combustible microbiano es capaz de garantizar la producción de electricidad optimizando la etapa fermentativa; adicionalmente no involucra las etapas acetogénica y metanogénica debido a que no ha sido diseñada para la producción de biogás. Se emplearán como datos de éxito del proyecto el rendimiento de los microorganismos (capacidad de producción), la conversión en la celda (relación entre el rendimiento real y teórico de producto), el rendimiento del proceso (relación entre materia suministrada y producto obtenido) y la cantidad de electricidad capturada en los electrodos.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Montaje de una celda de combustible microbiana a escala laboratorio para evaluar la producción de electricidad empleando dos inóculos diferentes.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar y realizar el montaje a nivel laboratorio de una celda de combustible microbiana con una membrana de intercambio catiónico.
- Determinar si los microorganismos provenientes de las heces de cerdo y el rumen de vaca permiten la producción de electricidad en la celda de combustible microbiana diseñada y construida.
- Establecer preliminarmente algunos parámetros de operación (Temperatura, pH, Concentración) y de alimentación que permitan que estos microorganismos produzcan electricidad continuamente.

2. MARCO TEÓRICO

Las energías alternativas han sido investigadas en los últimos años debido a que la demanda de energía está aumentando rápidamente en todo el mundo, y en la actualidad, la energía mundialmente requerida depende en su mayoría de combustibles fósiles en el que sus recursos están disminuyendo y la inflamación debido a la producción de dióxido de carbono tiene graves efectos negativos en el medio ambiente. Debido a esto, la investigación sobre la obtención de energías renovables a partir de material orgánico ha tomado un fuerte auge debido a que está bien demostrado la capacidad de los microorganismos para producir combustible; las principales ventajas de la producción de bioelectricidad por medio de MFC son la limpieza, la eficacia, la reciclabilidad y la no producción de subproductos tóxicos (Mansoorian, 2013).

La producción de electricidad por medio de digestión anaerobia es un tema de investigación reciente (Amon, 2006), del cual no se han realizado muchos estudios. Uno de los pocos que se han llevado a cabo y se han publicado (Pant, 2011), detalla como por medio de la implementación de los Sistemas Bioelectroquímicos (BES) se llega a la conclusión que con la aplicación de técnicas para la evaluación de la vida útil como la LCA (LifeCycleAnalysis – Análisis del Ciclo de Vida), se tiene como resultado funcional $1\text{kW}/\text{m}^3$ en el compartimiento de electrodos para la producción de energía por lo cual trata de 1 a 10kg de COD^1/m^3 de aguas no tratadas (Broughton, 1998).

Adicionalmente, se han estudiado las celdas de combustible para aplicación en el tratamiento de aguas residuales (Du, 2008), debido a que las bacterias pueden ser utilizadas para catalizar la conversión de la materia orgánica presente en estas aguas en electricidad (Carmona, 2009). Sin embargo, las celdas de combustible que pueden utilizar las bacterias, se clasifican en dos tipos: *las celdas de combustible biológico*, que generan electricidad a partir de la incorporación de lanzaderas de electrones artificiales (mediadores) y *las celdas de combustible microbiano (MFC)* que no requieren la adición de un mediador. Las MFC convierten la energía de una forma a otra en presencia de combustible. Los beneficios del uso de estas celdas son: funcionamiento limpio y seguro, alta eficiencia energética, bajas emisiones y facilidad de operación. (Ghangrekar, 2011).

¹COD: Chemical Oxygen Demand – Demanda Química de Oxígeno.

Recientemente, se ha demostrado que ciertas bacterias pertenecientes a la familia *Geobacteraceae* pueden transferir directamente los electrones a los electrodos utilizando enzimas redox electroquímicamente activas, como los citocromos, pero el gran atractivo de las MFC es que no requieren un mediador, los cuales resultan comúnmente muy costosos y pueden ser tóxicos para los microorganismos (Ghangrekar, 2011).

En años recientes, los investigadores han demostrado que las MFC pueden ser usadas para producir electricidad a partir de aguas residuales, que contengan glucosa, acetato o lactato y los estudios de generación de electricidad a partir de materia orgánica de aguas residuales como sustrato, siguen en proceso (Gil, 2010).

Bajo diferentes condiciones como el cultivo del inculo (puro o mezclado), las fuentes de sustrato y las cargas externas, las MFC reportan una producción de densidad de potencia en un rango de 0,3 a 3600 mW/m², tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Tasas de generación de potencia reportada en la literatura.

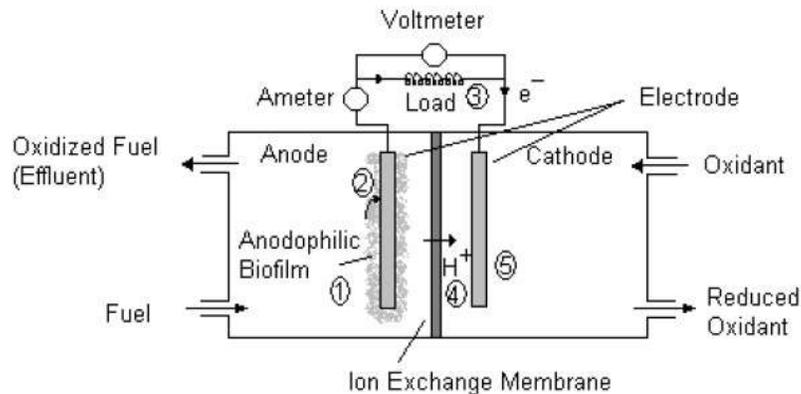
SUSTRATO	DESCRIPCIÓN	POTENCIA (mW/m ²)
Complejo	Sedimentos anaeróbicos	16
	Almidón de aguas residuales	19
	Almidón de aguas residuales	20
	Aguas residuales domésticas	24
	Sedimentos anaeróbicos	28
	Aguas residuales domésticas, CE-PEM	28
	Aguas residuales domésticas CE no PEM	146
Definido	Lactato	0.6 – 15
	Lactato, Peptona y extracto de levadura	788
	Acetato (puente salino)	0.3
	Acetato	14 – 49
	Glucosa	33 – 3600
	Glucosa – CE-PEM	262
	Glucosa – CE no PEM	494

Fuente: Ghangrekar, 2011.

Debido a las actuales preocupaciones ambientales y a la inseguridad energética, hay un interés emergente en encontrar una fuente de energía limpia y sostenible con un uso mínimo o nulo de hidrocarburos (Kim, 2010).

La Figura 3 muestra un esquema de una MFC, donde se detallan los pasos característicos del proceso. Inicialmente se colocan los dos electrodos (ánodo y cátodo) en agua y en dos compartimientos separados por una membrana de intercambio de protones (PEM). La mayoría de los estudios han empleado electrodos de grafito sólido, grafito fieltro, tela de carbono y electrodos de grafito recubiertos de platino. Los microbios oxidan el combustible en el compartimiento del ánodo generando electrones y protones. Los electrones son transferidos al compartimiento del cátodo a través de un circuito externo, mientras que los protones atraviesan la membrana. Los electrones y los protones son consumidos en el compartimiento del cátodo reduciendo el oxígeno en el agua.

Figura 3. Celdas de Combustible Microbiano (MFC) con los pasos característicos del proceso.



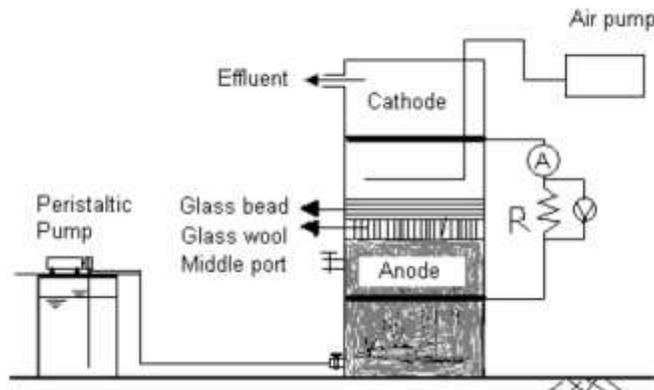
Fuente: Ghangrekar, 2011.

Pasos Característicos: (1) Suministro de oxígeno de la oxidación del combustible, (2) Transferencia de electrones de las celdas microbianas al electrodo, (3) Carga eléctrica en el circuito, (4) Suministro de protones en el compartimiento del cátodo, (5) Suministro y Reducción de oxígeno al cátodo.

El mayor interés en este proceso, es su rentabilidad y que requiere menos energía que los procesos convencionales de tratamiento de aguas. Con este sistema, se obtienen concentraciones de metano de aproximadamente 16 mg/L en el efluente. (Ghangrekar, 2011).

El rendimiento de las MFC es beneficiado con la presencia de otros microorganismos como en los digestores anaeróbicos. Aunque su potencia de salida es baja en relación con otros tipos de celdas de combustible, si se tiene en cuenta la reducción de su costo esencial, se tiene un método económico de producción de energía. (Gil, 2010). También se han desarrollado investigaciones para optimizar el funcionamiento de las mismas y se reporta un pH óptimo de 7; una resistencia mayor a 500Ω, debido a que por debajo de esta, el flujo de protones y el aporte de oxígeno eran limitados. (Wei, 2011).

Figura 4. Montaje de una Celda de Combustible Microbiano (MFC).



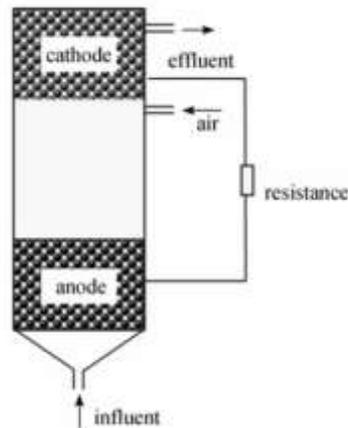
Fuente: Ghangrekar, 2011.

En la Figura 4, se presenta el montaje de una MFC con su respectiva membrana y la ubicación de los electrodos. Conociendo ya el funcionamiento de los electrodos, es importante resaltar el papel de la membrana del sistema, el cual es actuar como aislante eléctrico, permitiendo que los protones se muevan a través de ella. Sin embargo, el uso de estas puede limitar la aplicación de las MFC para tratamiento de aguas residuales debido a que éstas pueden contener sólidos suspendidos y contaminantes solubles. Adicionalmente las membranas son bastante costosas, lo cual limita aún más su aplicación. Sin embargo, el uso de éstas enriquecen los microbios electroquímicamente activos que convierten los contaminantes orgánicos en electricidad (Jang, 2008).

En general, Ghangrekar llegó a la siguiente conclusión: “la posibilidad de conversión directa de la materia orgánica en las aguas residuales a la bio-electricidad es emocionante, pero la comprensión fundamental de la microbiología y la tecnología es necesaria” (Ghangrekar, 2011).

Existe también otra configuración de las MFC que consiste en una única cámara en condiciones anaerobias, un ejemplo de este caso detalla un diagrama sin membrana como se muestra en la Figura 5, la cual fue hecha de polimetacrilato de metilo (PMMA) en forma de cilindro con un diámetro de 10cm, los electrodos fueron hechos de grafito con un diámetro de 0,5cm aproximadamente amontonados a 10,2cm de altura y 800cm^3 de volumen; la altura total del reactor era de 60cm. Los electrodos se conectaron con un hilo de cobre a través de una resistencia de 96Ω . La MFC produjo una densidad de potencia de 536mW/m^3 (Du, 2008).

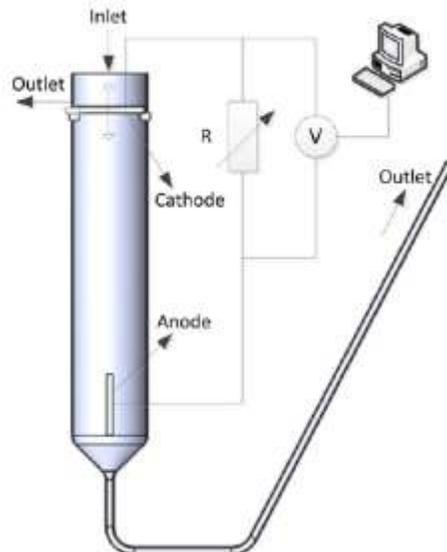
Figura 5. Montaje de Celda de Combustible Microbiana de única cámara.



Fuente: Du, 2008.

Otro caso más reciente (Zhu, 2011), presenta un esquema de flujo descendiente como se muestra en la Figura 6, consiste en un tubo cilíndrico de vidrio con un diámetro interior de 6cm, una altura de 30cm y un volumen de trabajo de 850mL; se emplearon electrodos de grafito y sin tratamiento de recubrimiento catalizador. El ánodo y el cátodo se conectaron empleando hilo de cobre y una resistencia variable externa. Este esquema adicionalmente, tiene la parte inferior en forma cónica de manera que el nivel de líquido en la cámara se puede ajustar aumentando o reduciendo la salida de un tubo plástico conectado a esta parte del equipo, lo cual es un diseño diferente en comparación a otros sistemas de celdas de combustible microbiana (Kim, 2002; 2008; Du, 2008) . Este montaje produjo finalmente una densidad de potencia máxima de $37,4\text{mW/m}^2$.

Figura 6. Montaje de Celda de Combustible Microbiana de única cámara con flujo descendiente.



Fuente: Zhu, 2011.

Pese a que la principal materia prima estudiada para la aplicación de las MFC es la materia orgánica, debido a que el estudio se realizó a partir de la investigación de tratamiento de aguas residuales, se han desarrollado investigaciones que buscan nuevos sustratos para este proceso con el único fin de encontrar cada vez un rendimiento mucho mayor. Unos de estos sustratos, son los microorganismos del rumen de vaca, el cual se utiliza como biocatalizador, y la celulosa se emplea como el donador de electrones (Rismani-Yazdi, 2010).

La biomasa de celulosa, incluyendo los productos de los residuos sólidos de las actividades agrícolas e industriales, es una de las fuentes renovables de energía más abundantes en la tierra. Se han desarrollado métodos químicos y biológicos para la obtención de electricidad a partir de materiales celulolíticos, mediante la conversión de estos a etanol, hidrógeno (H_2) y metano, sin embargo se presentan obstáculos técnicos y económicos. Una estrategia alternativa es la conversión directa de celulosa en energía eléctrica dentro de las MFC (Rismani-Yazdi, 2010).

Este estudio, estuvo basado en investigaciones previas de Niessen *et al.*, donde se desarrolló un proceso biotecnológico de fermentación para producir hidrógeno (H_2) a partir de celulosa mediante el uso de consorcios anaerobios, y cultivos de *Clostridium spp.* en celdas de combustible (Niessen, 2004, 2005, 2006). Finalmente se demostró que los microorganismos del rumen son capaces de hidrolizar la celulosa provocando la transferencia de electrones dentro de la MFC. Este sistema tiene el potencial de generar electricidad a partir de una amplia gama de residuos celulolíticos agrícolas e industriales, por lo que sigue demostrando la rentabilidad de esta bioelectricidad.

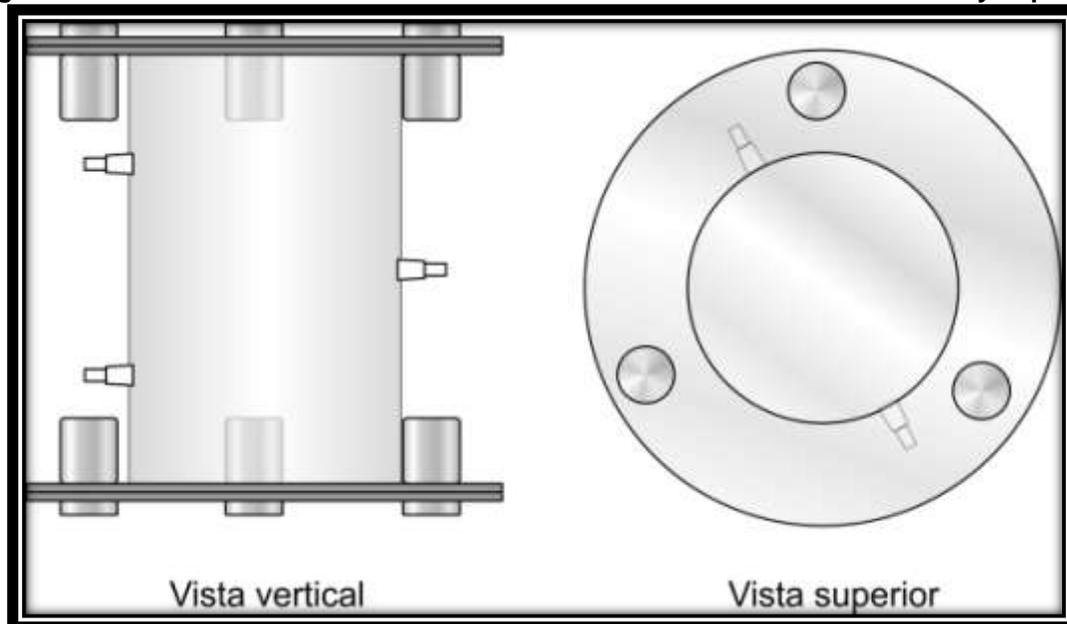
Como se mencionó previamente, la investigación de este sistema continua en proceso por lo que este proyecto se suma a esta área, teniendo como meta principal, obtener cada vez una mayor densidad de potencia con materias primas orgánicas o provenientes de desechos tanto agrícolas como industriales, manteniendo así la gran ventaja de este sistema, la cual es su rentabilidad frente a los métodos convencionales.

3. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO DE EQUIPO

La celda de combustible microbiana se diseñó a partir de los estudios mencionados en el marco teórico acerca de este método de obtención de electricidad (Du, 2008; Zhu, 2011). La celda diseñada y construida consta de una cabina cilíndrica fabricada en acrílico de un volumen aproximado de 500cm^3 , debido a que se trataba de una prueba a escala laboratorio; una membrana de intercambio catiónico (Nafion 117), debido a que presenta mayor capacidad de intercambio según la literatura (Wei, 2011; Villano, 2011); y dos telas de carbono, una de ellas con platino (0.03 mg/cm^2 20% Pt/C - GDE), las cuales cumplen la función de electrodos. La tela de sólo carbono (Freudenberg C₂ - GDL) cumplía la función de ánodo mientras que la que contenía carbono y platino cumplía la función de cátodo. La membrana se encontraba en contacto con la tela de carbono-platino y abierta al aire, para permitir la interacción con el oxígeno del medio. Tanto las telas de carbono como la membrana fueron vendidas por la empresa Fuel Cells Etc². Los planos de la celda se presentan en las Figuras 7 y 8 y la fotografía de la celda construida se presenta en la Figura 9.

Figura 7. Planos de la Celda de Combustible Microbiana diseñada vista vertical y superior.



² Fuel Cells Etc – Commercial Fuel Cell Components, es una tienda online fundada en el estado de Texas, Estados Unidos. Disponible en línea: <<http://fuelcellsetc.com/>>.

Figura 8. Planos de la Celda de Combustible Microbiana diseñada vista 3D.

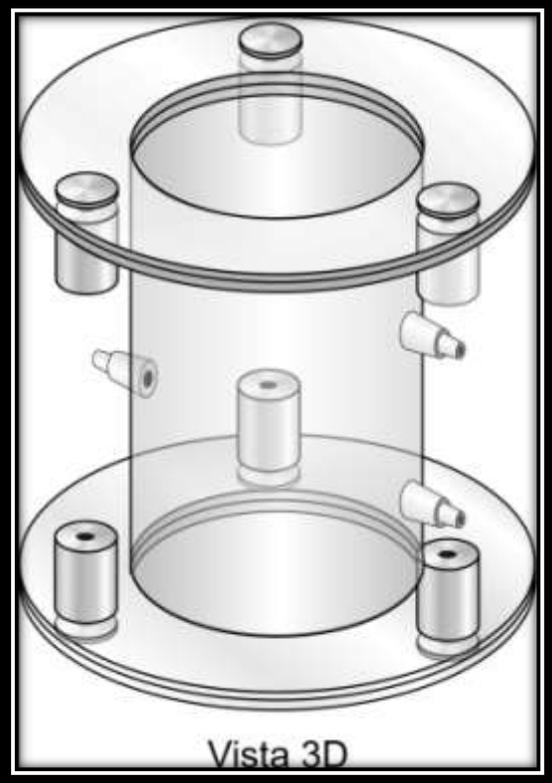
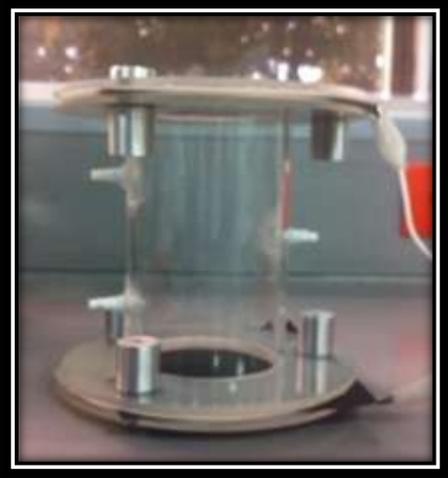


Figura 9. Imagen de la Celda de Combustible Microbiana Construida



3.2. MONTAJE DE LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON HECES DE CERDO

Previamente al montaje, se realizó la toma de muestras de las heces de cerdo requeridas para el procedimiento. Estas muestras fueron suministradas por Itacol Porcicultura³.

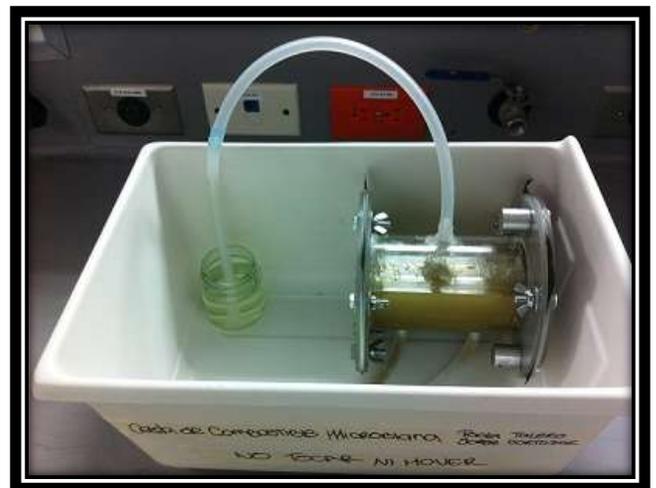
Para iniciar el montaje, se realizó una prueba de fugas por lo que se llenó el equipo con agua y se realizaron los ajustes necesarios para garantizar que no se filtrará el contenido del reactor hacia el exterior ni viceversa (Figura 10).

A continuación se alimentó el equipo con 400mL de la Solución B (Anexo) garantizando que las corrientes de entrada y salida quedarán completamente cerradas a excepción de la corriente de salida de gases, la cual llegaba directamente a una solución de hipoclorito de sodio al 15%, permitiendo que se minimizarán los olores de dichos gases (Figura 11).

Figura 10. Prueba de fugas previa al montaje



Figura 11. Montaje inicial de la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo



³ Granja ubicada en la comuna nororiental de Fusagasugá, en la vía Fusa-Sibaté.

Posteriormente, se instaló el montaje completo en un baño de maría a una temperatura de 38°C (Figura 12) y se dejó adecuar el sistema durante 72 horas. Pasado este tiempo se instaló una resistencia de 200Ω la cual permite determinar el flujo continuo de tensión eléctrica (medida en mV) y corriente eléctrica (medida en μA) para el cálculo pertinente de flujo de potencia (medido en mW/m^2). Dicho montaje requería una alimentación semicontinua o por pulsos de glucosa-sacarosa (Solución C, Anexo) que permitiera que el crecimiento de los microorganismos cultivados inicialmente se mantuviera y progresara óptimamente.

Figura 12. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.



A partir de la instalación de la resistencia en el sistema se comenzaron a tomar los datos correspondientes a tensión y corriente eléctrica y con base a esos datos se identificó que el sistema podía resistir hasta 5 días sin alimentación, sin embargo para obtener datos continuos y alcanzar el máximo de producción, el equipo requería ser alimentado con la solución C cada 36 horas aproximadamente y se tomaron datos diariamente durante un periodo de 2 semanas.

3.3. MONTAJE DE LA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON RUMEN DE VACA

3.3.1. Alimentada con Celulosa Soluble

Para el montaje de la celda de combustible microbiana con rumen de vaca (suministrado por el Frigorífico BLE⁴) alimentada con celulosa soluble (Figura 13), se llevó a cabo el mismo procedimiento del anterior literal, sin embargo en esta ocasión se agregaron 400 mL de la Solución E (Anexo) y se alimentó también de forma semicontinua pero con la Solución F (Anexo), una solución de celulosa soluble.

Figura 13. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa soluble.



Los datos se tomaron empleando el mismo procedimiento detallado en el sistema con heces de cerdo, con la diferencia que se empleó la alimentación respectiva con la Solución F para este caso.

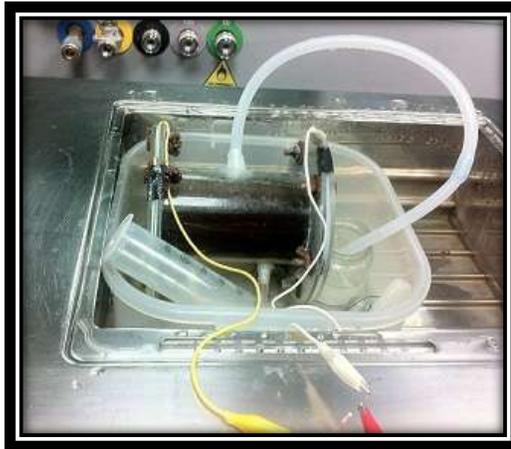
⁴ El Frigorífico BLE, anteriormente denominado Frigorífico San Martín de Porres, se encuentra ubicado en la Carrera 83 No. 17 – 51, en la ciudad de Bogotá.

3.3.2. Alimentada con Desechos Celulolíticos parcialmente Hidrolizados

Para el montaje de la celda de combustible microbiana con rumen de vaca alimentada con desechos celulolíticos parcialmente hidrolizados (Figura 14) se realizó un procedimiento adicional (Hidrólisis ácida de pasto molido), el cual se detalla en el literal 3.3. Cabe indicar que este procedimiento se lleva a cabo debido a que el pasto tiene una membrana celular con alto contenido de lignina, la cual no puede romperse por única acción de los microorganismos, por lo cual éstos no podrían tener acceso a la celulosa contenida en el pasto (Mossier, 2005).

Para este caso, se empleó el montaje realizado en el literal anterior pero se modificó la solución de alimentación semicontinua por la Solución G, solución de celulosa hidrolizada.

Figura 14. Montaje de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentado con desechos celulolíticos.



A diferencia de los dos casos anteriores, la alimentación para este caso se realizó cada 24 horas debido a que la Solución G era consumida rápidamente por los microorganismos.

3.3.3. Hidrólisis Ácida de Pasto Molido

Para obtener la celulosa requerida para alimentar continuamente la celda de una forma más económica se optó por extraerla de un desecho celulolítico tal como lo es el pasto que se poda a diario en el Campus Universitario de la Universidad de La Sabana.

El procedimiento que se llevó a cabo para dicha extracción fue la hidrólisis ácida, debido a que es un procedimiento que presenta óptimos resultados para muestras de pulpa química (Willfor, 2009) además era el método más rápido y sencillo para aplicar en comparación de otros métodos. Para realizar este procedimiento, fue necesario secar y posteriormente moler este pasto para garantizar mayor área de contacto durante la hidrólisis.

El montaje de la hidrólisis consistía en adicionar 25g de pasto molido a 250mL de Ácido Sulfúrico al 72% (H_2SO_4) y se dejaron en agitación a $100^{\circ}C$ durante 7 horas, dos sistemas de condensación con las mismas condiciones (Figura 15). Al finalizar esta reacción fue necesario emplear 350g aproximadamente de Hidróxido de Sodio (NaOH) para neutralizar la totalidad de las soluciones hidrolizadas, con el fin de realizar un análisis de azúcares reductores (DNS) para determinar la cantidad de celulosa que se alimentaría posteriormente a la celda.

Figura 15. Hidrólisis ácida de pasto molido.



3.4. EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE BACTERIAS

Con el fin de determinar la presencia real de microorganismos en el reactor, durante los diversos casos trabajados, se realizó un procedimiento de extracción de ADN genómico de los residuos del reactor en cada uno de los casos, empleando el kit de asilamiento de ADN microbiano UltraClean™ de la compañía MO BIO Laboratories, el cual incluye un protocolo específico para el manejo del mismo.

Este Kit nos permite extraer el ADN, siguiendo los siguientes pasos:

- *Lisis*: en el cuál se realiza el rompimiento de las células presentes con ayuda de calor.
- *Precipitación del ADN*: para lo cual se emplean soluciones de etanol presentes en el kit, la cual lava, limpia y purifica el ADN.
- *Resuspensión del ADN*: se resuspende el ADN ya purificado en agua otricepta.

3.5. ELECTROFORESIS

Finalmente, se empleó un procedimiento de electroforesis en gel la cual es una técnica de separación de moléculas según la movilidad en un campo eléctrico y con la cual es posible determinar la pureza y la cantidad de ADN genómico que se extrajo mediante el procedimiento anterior.

Este procedimiento se realizó empleando gel de agarosa en concentración del 1% corrido en un buffer de Tris-borato-EDTA (TBE) y a 90 voltios. Después del corrido electroforético, se realizó una tinción del gel con Sybr green de Invitrogen para observarlo a través de un transiluminador de luz ultra-violeta, para visualizar las bandas de ADN genómico.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para este proyecto se empleó la fermentación anaerobia de heces de cerdo alimentada con una solución de glucosa y sacarosa y de rumen de vaca alimentada con una solución de celulosa soluble y de rumen de vaca alimentada con una solución de desechos celulolíticos parcialmente hidrolizados.

4.1. CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON HECES DE CERDO

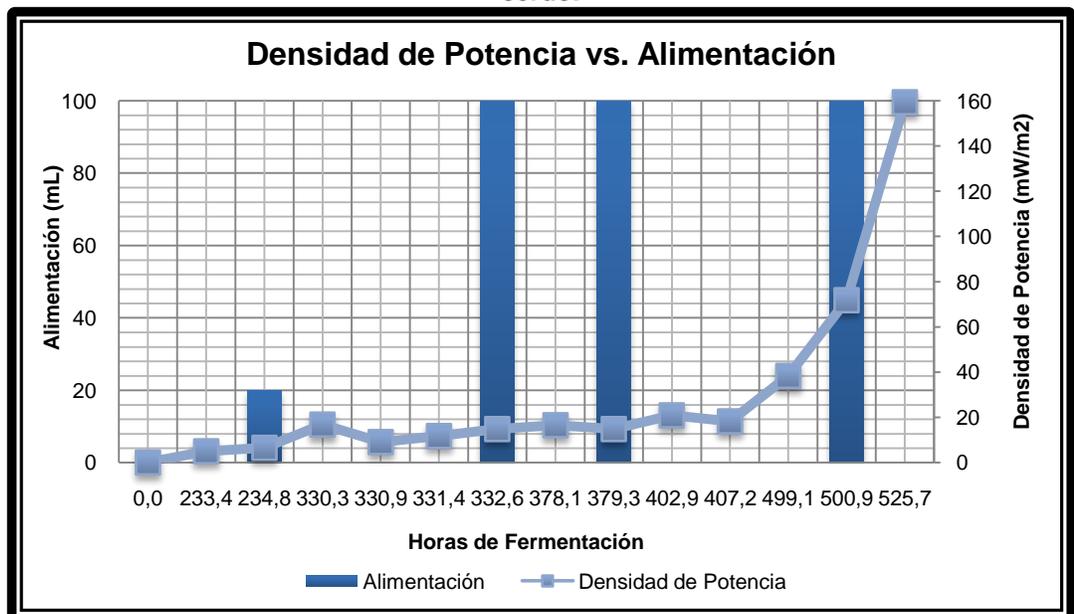
Por medio del montaje detallado en el literal 3.2, también mostrado en la Figura 16, se logró obtener una densidad de potencia máxima de $159,32 \text{ mW/m}^2$, como se muestra en la Figura 17.

Figura 16. Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.



Como se observa en la Figura 17, a medida que la alimentación se suministra de forma más continua, la tendencia de producción de densidad de potencia también aumenta de forma continua; la alimentación se suministraba con una frecuencia de 48 horas. De esta forma se logró alcanzar el pico más alto de densidad de potencia previamente mencionado.

Figura 17. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con heces de cerdo.



Esta producción se considera alta en comparación con las reportadas en la literatura, donde encontramos valores desde 33 mW/m² hasta 3600 mW/m² para sistemas de glucosa (Tabla 2), teniendo en cuenta que un posible medio de cultivo sin inóculo sólo sería capaz de producir 4,25 mW/m² (Chen, 2010), lo cual indica que las condiciones a las que se mantuvo la fermentación fueron ideales para el desarrollo de la misma, facilitando la interacción de las bacterias allí involucradas con el sistema. Pese a que no se mantuvieron condiciones anaerobias estrictas, las bacterias productoras de electricidad contenidas en las heces de cerdo son capaces de sobrevivir a esas condiciones y con esa alimentación.

4.2. CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANA CON RUMEN DE VACA

Después de los buenos resultados obtenidos con las heces de cerdo se decidió probar un material orgánico diferente para realizar la comparación respectiva, para esto se empleó rumen de vaca, debido a que este material realiza un tratamiento anaerobio en el estómago de las vacas muy similar al requerido en este proyecto, por lo cual se decidió emplearlo para probar esa misma capacidad de degradación realizada en el interior del animal, pero a las condiciones de la celda diseñada.

Este inóculo de rumen de vaca, requería una alimentación de celulosa, para lo cual se pensó en aprovechar desechos celulolíticos para la alimentación del mismo, pero para esto era necesario en primer lugar estabilizar el sistema de fermentación con una alimentación de la cual se tenía una certeza total de acople de los microorganismos tal como la celulosa soluble.

Teniendo en cuenta esto, se presentan los resultados obtenidos de la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentado con celulosa soluble (literal 4.2.1) y alimentado con desechos celulolíticos, específicamente, hidrólisis de pasto molido (literal 4.2.2).

4.2.1. Alimentada con Celulosa Soluble

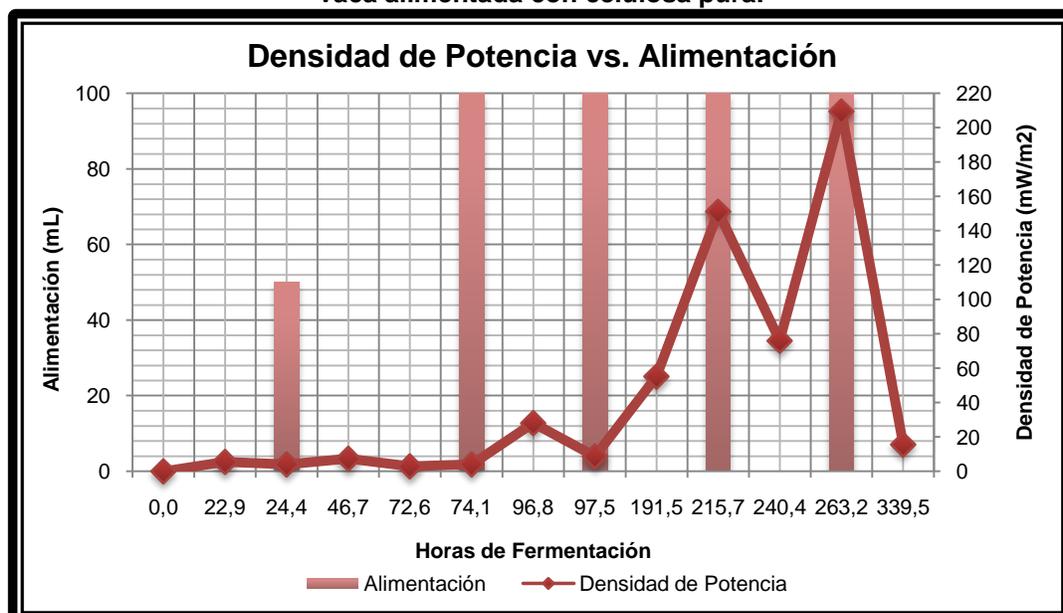
Por medio del montaje detallado en el literal 3.3.1, también mostrado en la Figura 18, se logró obtener una densidad de potencia máxima de 209,43 mW/m², como se muestra en la Figura 19.

Figura 18. Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa pura.



Como se observa en la Figura 19, a medida que la alimentación se suministra de forma más continua, la tendencia de producción de densidad de potencia también aumenta de forma continua. A diferencia del sistema con heces de cerdo, el rumen de vaca consumía más rápidamente el suministro de alimentación por lo que en este caso se alimentó con una frecuencia de 24 horas. De esta forma se logró alcanzar un pico de densidad de potencia aún más alto que el obtenido con las heces de cerdo.

Figura 19. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con celulosa pura.



Así como la producción de las heces de cerdo se consideró alta en comparación con las reportadas en la literatura, la producción obtenida con el rumen de vaca fue aún mejor y se puede comparar con los resultados obtenidos para sistemas de sedimentos anaeróbicos como 28mW/m^2 y para sistemas de aguas residuales domésticas CE no PEM donde se obtuvo 146mW/m^2 (Tabla 2) y tomando como blanco el mismo mencionado para las heces de cerdo, debido a que la variación del medio de cultivo en ambos casos fue mínima, lo cual indica que al igual que el montaje con heces de cerdo, las condiciones a las que se mantuvo la fermentación fueron ideales para el desarrollo de la misma, facilitando la interacción de las bacterias allí involucradas con el sistema. Pese a que no se mantuvieron condiciones anaerobias estrictas, las bacterias productoras de electricidad contenidas en las heces de cerdo son capaces de sobrevivir a esas condiciones y con esa alimentación. Adicionalmente, se puede concluir que las bacterias presentes en el rumen de vaca tienen mayor capacidad de adaptación y supervivencia en el sistema diseñado en este proyecto, razón por la cual fue capaz de producir mayor cantidad de energía que las presentes en las heces de cerdo.

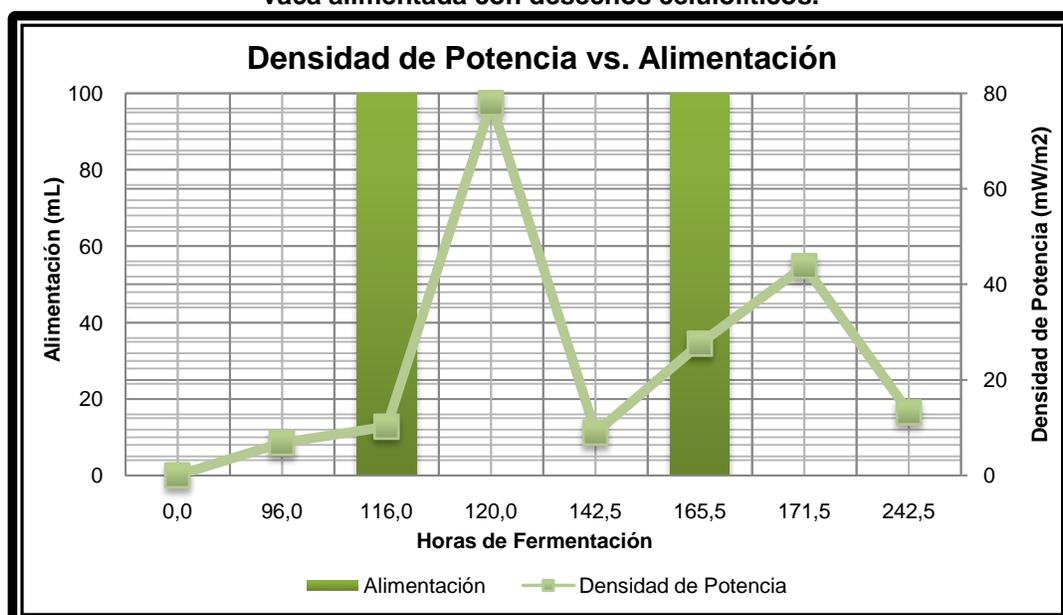
4.2.2. Alimentada con Desechos Celulolíticos parcialmente Hidrolizados

Con el fin de reducir aún más los costos de esta obtención de electricidad, se empleó un desecho celulolítico para la alimentación del sistema, el cual fue una hidrólisis de pasto molido (procedimiento detallado en el literal 3.3.3). Esta solución contenía 4.40 g/L de azúcares reductores, lo cual se calculó a partir del dato de absorbancia obtenido (0.693) en el análisis de DNS realizado a la solución final, empleando la ecuación obtenida con la curva de calibración mostrada en el Anexo 2, la cual fue suministrada por el laboratorio de Microbiología de la Universidad de La Sabana.

Teniendo la solución de alimentación, se empezó a suministrar dicha solución al montaje ya implementado con celulosa soluble, y se realizó el análisis correspondiente de los cambios presentados en el sistema. Empleando esta alimentación, se logró obtener una densidad de potencia máxima de 77,95 mW/m², como se muestra en la Figura 20 y tomando como blanco el mismo mencionado para las heces de cerdo y el rumen de vaca alimentado con celulosa soluble, debido a que el medio de cultivo fue exactamente el mismo del caso anterior.

En esta figura también podemos detallar que a diferencia de los casos anteriores, pese a que la alimentación se suministra de forma más continua, la tendencia de producción de densidad de potencia no aumenta de igual forma, esto se debe a que la cantidad de azúcares reductores útiles para la alimentación de las bacterias es muy pequeña por lo cual las bacterias la consumen más rápido, situación que podría solucionarse empleando un sistema que permita una alimentación continua.

Figura 20. Gráfica de producción de densidad de potencia y alimentación suministrada versus el tiempo de fermentación en la Celda de Combustible Microbiana con rumen de vaca alimentada con desechos celulolíticos.



Por otro lado, esta celulosa hidrolizada no era lo suficientemente soluble, por lo cual se precipitaba instantáneamente (Figura 21) por lo cual no era accesible para las bacterias que se encontraban adheridas a la membrana y las láminas de carbono, quienes eran realmente las encargadas de la producción de energía. Lo cual nos indica que no es favorable el empleo de desechos celulolíticos hidrolizados para la alimentación del sistema debido a que no es posible obtener celulosa soluble por este método y no permite que las bacterias aprovechen la alimentación suministrada.

Figura 21. Solución de celulosa hidrolizada precipitada.



4.3. EXTRACCIÓN DE ADN Y ELECTROFORESIS

La extracción de ADN genómico se realizó en la muestra final tomada de la celda después de la prueba con heces de cerdo y con rumen de vaca alimentada con desechos celulolíticos, debido a que entre las dos pruebas realizadas con rumen de vaca (alimentada con celulosa pura y desechos celulolíticos) no se desmontó el equipo, no fue posible realizar este procedimiento para el caso alimentado con celulosa pura.

En el caso de las heces de cerdo, la extracción de ADN genómico se realizó exitosamente, obteniendo una concentración aproximada de 80 $\mu\text{g/mL}$ de ADN, lo cual es una cantidad adecuada para cualquier análisis genético que se pudiera desarrollar más adelante. Adicionalmente, esta alta composición da a entender que claramente que si se tiene presencia de microorganismos en las membranas del reactor, por lo que se puede concluir que realmente la producción de electricidad fue realizada por los microorganismos provenientes de las heces de cerdo La Figura 22 muestra la fotografía de las bandas de ADN genómico obtenidas en este procedimiento.

Por el contrario, en el caso del rumen de vaca alimentado con desechos celulolíticos (Figura 23), no es posible evidenciar claramente las bandas producidas, esto se debe a que no fue posible extraer exitosamente el ADN genómico. Esto pudo ser causado por la contaminación que pudo provocar el alimento de celulosa hidrolizada, lo cual pudo generar interferencia en la extracción.

Figura 22. Bandas de ADN genómico de la muestra final de la celda de combustible microbiana con heces de cerdo.

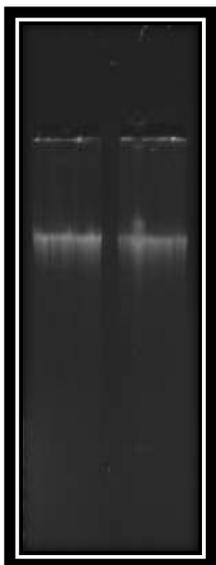


Figura 23. Bandas de ADN genómico de la muestra final de la celda de combustible microbiana con rumen de vaca.



5. CONCLUSIONES

- La celda de combustible microbiana diseñada con una sola cámara anaerobia, es capaz de mantener las condiciones necesarias para el adecuado desarrollo de las bacterias productoras de energía.
- El inóculo de heces de cerdo en la celda diseñada y a las condiciones establecidas (pH 7, 38°C, anaerobiosis) y alimentado con glucosa y sacarosa es capaz de producir hasta 159,32 mW/m².
- El inóculo de rumen de vaca en la celda diseñada y a las condiciones establecidas (pH 7, 38°C, anaerobiosis) y alimentado con celulosa soluble es capaz de producir hasta 209,43 mW/m².
- El inóculo de rumen de vaca en la celda diseñada y a las condiciones establecidas (pH 7, 38°C, anaerobiosis) y alimentada con celulosa hidrolizada es capaz de producir hasta 77,95 mW/m².
- La celulosa hidrolizada no es capaz de solubilizarse en el inóculo de rumen de vaca, por lo cual no es un alimento adecuado para este tipo de procesos que no contiene agitación.
- A causa de la insolubilidad de la celulosa hidrolizada, el procedimiento de extracción de ADN no es factible debido a que interfiere en el rompimiento de las células.
- Las celdas de combustible microbiano son un método de obtención de energía alternativa que puede reducir los costos de producción de la misma y tiene un gran campo de investigación aún pendiente por desarrollar.

6. RECOMENDACIONES

Si se desea replicar este proyecto, se recomienda investigar nuevas membranas más económicas como las de fibra de vidrio, con el fin de evaluar la capacidad de interacción de las bacterias con el medio aerobio por medio de la misma. También es posible investigar en otra forma de aprovechar los desechos celulolíticos para alimentar el sistema con rumen de vaca, o la posibilidad de convertir la celulosa obtenida en un producto soluble.

Finalmente, como continuidad de este proyecto se podría realizar un análisis de pirosecuenciación genética para determinar finalmente cuales fueron los organismos que sobrevivieron a las condiciones prestadas siendo capaces de generar la energía, con el fin de garantizar la replicación adecuada de este proyecto.

7. RECURSOS ECONÓMICOS, MATERIALES Y EQUIPOS

La presente investigación se realizó bajo condiciones de laboratorio en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería del Campus Universitario de la Universidad de La Sabana ubicada en el km 7 de la Autopista norte de Bogotá, en el municipio de Chía, Cundinamarca.

La Universidad de La Sabana, también proporcionó los materiales básicos para el montaje y operación del equipo tales como reactivos, termómetros, erlenmeyers, probetas, agitadores, entre otros. Por otro lado, las materias primas, como las heces fecales de cerdo, fueron suministradas por Itacol Porcicultura, el rumen de vaca por el Frigorífico BLE, y los desechos celulolíticos (pasto podado) por la Universidad de La Sabana⁵.

⁵ La Universidad de La Sabana, debido a su gran cantidad de zonas verdes se ve en la necesidad de podar el pasto diariamente por lo que se obtienen aproximadamente 2 toneladas diarias del mismo, los cuales van directamente a la basura.

Los elementos que conforman el equipo tales como la celda en acrílico, la membrana de intercambio catiónico Nafion 117, las telas de carbono y carbono-platino (electrodos), los acoples de Nylon, los empaques siliconados, la manguera siliconada, el multímetro y demás recursos financieros solicitados para el desarrollo del proyecto fueron suministrados por el director de proyecto de grado, Jorge Eduardo Cortázar Gómez. La Tabla 3 presenta el costo detallado del proyecto, dando como resultado un costo total de \$ 1.119.900 (COP).

Tabla 3. Costo detallado del proyecto.

Producto	Cantidad	Costo (\$, COP)
Celda en acrílico	1	30.000
Manguera Siliconada	2 m	80.000
Acoples de Nylon	3	12.000
Empaque Siliconado	1,20 m ²	27.000
Tornillos	18	6.000
*Tela de Carbono-Platino (C-Pt)	0,06 m ²	298.350
*Tela de Carbono (C ₂)	0,06 m ²	346.850
*Membrana de Intercambio Catiónico Nafion 117	0,04 m ²	319.700

* El costo de las telas de C₂ y C-Pt y de la membrana incluyen el valor del envío y los impuestos, debido a que fueron importadas de Estados Unidos.

8. BIBLIOGRAFÍA

ALONSO, M. Evaluación bromatológica del estiércol fresco de cerdo, fermentado y fermentado con urea. Universidad Veracruzana. 1986.

AMON, T., *et al.* Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. International Congress Series. 2006. Vol. 1293 pp. 217-220.

ANÓNIMO, Biodigestor: Construcción y Diseño [en línea]. 1999 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en Internet:<<http://www.ruralcostarica.com/biodigestor-2.html>>.

ANÓNIMO, Clasificación de los microorganismos [en línea]. 1993 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <<http://www.solociencia.com/biologia/microbiologia-microorganismos-clasificacion.htm>>.

BIODISOL. Digestión anaerobia. Proceso de producción de biogás [en línea]. 2002 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <<http://www.biodisol.com/que-es-el-biogas-digestion-anaerobia-caracteristicas-y-usos-del-biogas/digestion-anaerobia-proceso-de-produccion-de-biogas-biocombustibles-energias-renovables/>>.

BROUGHTON, Michael, *et al.* Anaerobic batch digestion of sheep tallow. *Water Research*. 1998. Vol. 32 No. 5 pp. 1423-1428.

BUNSE, M., *et al.* Integrating energy efficiency performance in production management. *Cleaner Production*. 2011. Vol. 19 pp. 667-679.

CARMONA, Alessandro, *et al.* Obtención de energía eléctrica mediante una celda de combustible microbiana utilizando como inóculo un digester metanogénico. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. México. 2009.

CASILDA, Ramón. Energía y desarrollo económico en Latinoamérica [en línea]. 2002 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <<http://www.energiasur.com/sustentabilidad/BejarEnergiaDesaSostenible.pdf>>.

CASTELL, Roberto, *et al.* Diccionario enciclopédico HACHETTE CASTELL Tomo 1. 1ª ed. Barcelona, España: Ediciones Castell, 1987. 267 p. ISBN 84-7489-155-8.

CHEN, Bor-Yann, *et al.* Feasibility study of simultaneous bioelectricity generation and dye decolorization using naturally occurring decolorizers. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2010. Vol. 41 pp. 682-688.

COLOMBIA ENERGÍA, Generación hidráulica, fuente de energía y dínamo para las exportaciones [en línea]. 2013 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <<http://www.colombiaenergia.com/node/111>>.

DEMIRBAS, Ayhan. Competitive liquid biofuels from biomass. *Applied Energy*. 2011. Vol. 88 pp. 17-28.

DU, Zhuwei; LI, Haroan y GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*. 2007. Vol. 25 pp. 464-482.

DU, Zhuwei, *et al.* Electricity generation using membrane-less microbial fuel cell during wastewater treatment. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2008. Vol. 16 pp. 772-777

EL COLOMBIANO, Energía de Colombia es una de las más competitivas del mundo [en línea]. 2013 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <http://www.elcolombiano.com/BancoConocimiento/E/energia_de_colombia_es_una_de_las_mas_competitivas_del_mundo/energia_de_colombia_es_una_de_las_mas_competitivas_del_mundo.asp>.

GHANGREKAR, M. y SHINDE, V. Microbial fuel cell: a new approach of wastewater treatment with power generation. 2011.

GIL, G., *et al.* Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosens. Bioelectron*. 2010. Vol. 18 pp. 327-334.

GIORGIO, Vincenzo, *et al.* Cleaner energy for sustainable future. *Journal of Cleaner Production*. 2009. Vol. 17 pp. 889-895.

HILBERT, Jorge, Ing. Manual para la producción de biogás. Instituto de Ingeniería Rural I.N.T.A. – Castelar. Argentina. 2007.

IEROPOULOS, Ioannis, *et al.* Comparative study of three types of microbial fuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*. 2005. Vol. 37 pp. 238-245.

JANG, J.K, *et al.* Construction and operation of a novel mediator-and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochem*. 2008. Vol. 39 pp. 1007-1012.

KARIM, Khursheed, *et al.* Anaerobic digestion of animal waste: Effect of mode of mixing. *Water Research*. 2005. Vol. 35 pp. 3597-3606.

KIM, Hyung, *et al.* A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*. 2002. Vol. 30 pp. 145-152.

KIM, In, *et al.* Microbial Fuel Cells: Recent advances, bacterial communities and application beyond electricity generation. *Society of Environmental Engineers*. Vol. 13, No. 2, pp. 51-65, 2008.

KIM, Mi-Sun y LEE, Yu-jin. Optimization of culture conditions and electricity generation using *Geobacter sulfurreducens* in a dual-chambered microbial fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2010. Vol. 35 pp. 13028-13034.

MANSSORIAN, Hossein. Bioelectricity generation using two chamber microbial fuel cell treating wastewater from food processing. *Enzyme and Microbial Technology*. 2013. Vol. 52 pp. 352-357.

MARTÍ, Nuria. Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process [en línea]. 2006 [citado el 17 de Abril de 2011]. ISBN: 1-58112-335-9. Disponible en internet: <<http://www.bookpump.com/dps/pdf-b/1123329b.pdf>>.

MATA, Teresa; MARTINS, Antonio y CAETANO, Nidia. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2010. Vol. 14 pp. 217-232.

MINISTERIO DE MINAS Y ENERGÍA. Memorias: Sector Energía Eléctrica [en línea]. Colombia, 2011 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <http://www.minminas.gov.co/minminas/downloads/UserFiles/File/Memorias/Memorias_2011/05-ENERGIA.pdf>.

----- . Plan de expansión de referencia 2003-2012 [en línea]. Colombia, 2004 [citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <<http://www.simec.gov.co/Portals/0/Documental/1039.pdf>>.

MOSIER, Nathan, *et al.* Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2005. Vol. 96 pp. 673-686.

MUÑOZ, Marco Arturo, *et al.* Energía posible con biodigestor de excrementos. Trabajo de grado Ingeniero químico. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química, 2009.

NIESSEN J., *et al.* Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation – a bacterial fuel cell operating on starch. *ElectrochemCommun.* 2004. Vol. 6 pp. 955-958.

------. Gaining electricity from in situ oxidation of hydrogen produced by fermentative cellulose degradation. *LettApplMicrobiol.* 2005. Vol. 41 pp. 286-290.

------. Heat treated soil as convenient and versatile source of bacterial communities for microbial electricity generation. *ElectrochemCommun.* 2006. Vol. 8 pp. 869-873.

PADHIYAR, Nitin, *et al.* Nonlinear inferential multi-rate control of Kappa number at multiple locations in a continuous pulp digester. *Journal of Process Control.* 2006. Vol. 16 pp. 1037-1053.

PANT, Deepak, *et al.* An introduction to the life cycle assessment (LCA) of bioelectrochemical systems (BES) for sustainable energy and product generation: Relevance and key aspects. *Renewable and Sustainable Energy Review.* 2011. Vol. 15 pp. 1305-1313.

PETROBRAS. Sustainability Report. 2010.

RISMANI-YAZDI, Hamid, *et al.* Electricity generation from cellulose by rumen microorganism in microbial fuel cells. *Biofuels and Environmental Biotechnology.* DOI 10.1002/bit 21366. 2010.

SERRANO, Elena, RUS, Guillermo y GARCÍA-MARTÍNEZ, Javier. Nanotechnology for sustainable energy. *Renewable and SUSTAINABLE Energy Reviews.* 2009. Vol. 13 pp. 2373-2384.

UPME. Precio promedio de la bolsa de energía eléctrica [en línea]. [Citado el 5 de Septiembre de 2013]. Disponible en internet: <http://www.upme.gov.co/GeneradorConsultas/Consulta_Indicador.aspx?IdModulo=1&ind=4>.

VARGAS, Miguel. Introducción a las energías alternativas con experimentos sencillos [en línea]. 2006 [citado el 20 de Agosto de 2011]. Disponible en internet: <<http://www.cienciafacil.com/energiascapitulo1.pdf>>.

VILLANO, Marianna, *et al.* Electrochemically assisted methane production in a biofilm reactor. *Journal of Power Sources*. 2011.

WEI, Liling, *et al.* Study on electricity-generation characteristics of two-chambered microbial fuel cell in continuous flow mode. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2011. pp. 1-7.

WILLFOR, Stefan, *et al.* Carbohydrate analysis of plant materials with uronic acid-containing polysaccharides – A comparison between different hydrolysis and subsequent chromatographic analytical techniques. *Industrial Crops and Products*. 2009. Vol. 29 pp. 571-580.

ZHANG, Xiaoyuan, *et al.* Scalable air cathode microbial fuel cells using glass fiber separators, plastic mesh supporters, and graphite fiber brush anodes. *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102 pp. 372-375.

ZHU, Feng, *et al.* Electricity generation in a membrane-less microbial fuel cell with down-flow feeding onto the cathode. *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102 pp. 7324-7328.

9. ANEXOS

9.1. Anexo 1. Composición de las Soluciones.

En este anexo se detallan las composiciones⁶ de las soluciones A, B, C, D, E, F y G referidas previamente.

- **Solución A:** Buffer de pH 6,5 y 0,5M empleado para preparar la solución B.

Tabla 4. Composición de la Solución A.

Compuesto	Cantidad
Fosfato de Potasio Dibásico	33,56 g
Fosfato de Potasio Monobásico	41,98 g
Glucosa	5 g
Sulfato de Sodio	0,6 g
Ácido acético	1 mL

- **Solución B:** Preparación de inóculo de heces de cerdo disuelto en la solución A.

Tabla 5. Composición de la Solución B.

Compuesto	Cantidad
Solución A	500 ml
Heces de Cerdo	100 g

- **Solución C:** Alimentación de glucosa y sacarosa empleada en el sistema de heces de cerdo.

Tabla 6. Composición de la Solución C.

Compuesto	Cantidad
Fosfato de Potasio Dibásico	0,6 g
Glucosa	5 g
Sacarosa	5 g
Carbonato de Sodio	3 g
Bicarbonato de Sodio	3 g
Cloruro de Amonio	0,6 g
Sulfato de Sodio	0,6 g
Ácido acético	20 mL

⁶ Todas las composiciones aquí presentadas están en base de 1 litro de solución, a excepción de las soluciones B, E y G que referencian un volumen aproximado a las cantidades de la tabla.

- **Solución D:** Buffer de pH 6,0 y 0,5M empleado para preparar la solución E.

Tabla 7. Composición de la Solución D.

Compuesto	Cantidad
Fosfato de Potasio Dibásico	33,56 g
Fosfato de Potasio Monobásico	41,98 g
Celulosa Soluble	5 g
Sulfato de Sodio	0,6 g
Ácido acético	1 mL

- **Solución E:** Preparación de inóculo de rumen de vaca disuelto en la solución D.

Tabla 8. Composición de la Solución E.

Compuesto	Cantidad
Solución D	350 MI
Solución F	100 mL
Rumen de Vaca	100 g

- **Solución F:** Alimentación de celulosa pura empleada en el sistema de rumen de vaca.

Tabla 9. Composición de la Solución F.

Compuesto	Cantidad
Fosfato de Potasio Dibásico	0,6 g
Celulosa Soluble	10 g
Carbonato de Sodio	3 g
Bicarbonato de Sodio	3 g
Cloruro de Amonio	0,6 g
Sulfato de Sodio	0,6 g
Ácido acético	20 MI

- **Solución G:** Alimentación de celulosa hidrolizada empleada en el sistema de rumen de vaca.

Tabla 10. Composición de la Solución G.

Compuesto	Cantidad
Pasto Molido	50 g
Ácido Sulfúrico al 72%	500 mL
Hidróxido de Sodio	350 g

9.2. Anexo 2. Curva de Calibración DNS

Figura 24. Curva de calibración de DNS.

