



FACULTEIT BIO-INGENIEURSWETENSCHAPPEN

Academiejaar 2004 - 2005

OXIDATIE VAN ORGANISCH MATERIAAL EN  
ENERGIEPRODUCTIE BIJ MICROBIËLE  
BRANDSTOFCELLEN

Peter CLAUWAERT

Promotor : Prof. dr. ir. W. VERSTRAETE

Co-promotor : ir. K. RABAEY

Scriptie voorgedragen tot het behalen van de graad van  
BIO-INGENIEUR IN DE MILIEUTECHNOLOGIE

## Auteursrechten

---

*“De auteur en de promotoren geven de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie”*

*“The author and the promoters give the permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws; more specifically the source must be extensively specified when using results from this thesis”*

Gent, 23 mei 2005

De promotoren,

Prof. dr. ir. Willy Verstraete

ir. Korneel Rabaey

De auteur,

Peter Clauwaert

my my, hey hey  
rock and roll is here to stay  
it's better to burn out  
than to fade away  
my my, hey hey

out of the blue  
and into the black  
they give you this  
but you paid for that  
and once you're gone  
you can never come back  
when you're out of the blue  
and into the black

the king is gone  
but he's not forgotten  
this is the story of a Johnny Rotten  
it's better to burn out  
than it is to rust  
the king is gone  
but he's not forgotten

hey hey, my my  
rock and roll can never die  
there's more to the picture  
than meets the eye  
hey hey, my my

[ Neil Young, 1979 ]

## Woord vooraf

---

Mijn bescheiden zoektocht naar kennis was enorm prikkelend. Door duistere valleien en vervaarlijke spelonken ging mijn tocht, maar zonder de kennis en de visie van mijn mentor, Professor Verstraete, zou ik geen licht op het einde van de tunnel gezien hebben. Zijn charisma, betrokkenheid en overtuigingskracht waren de brandstofinjecties op momenten dat het wat minder ging. Hij was het die door zijn begeesterende lessen de onderzoeksmicrobe in mij deed ontwaken.

Het was mij een waar genoegen om met ingenieur Korneel Rabaey te mogen samenwerken. Zijn kritisch oordeel en coachende steun maakten dit eindwerk tot wat het is. Hij was het die mij inwijdde in de mysterieuze wereld van de microbiële brandstofcellen. Er was geen dag dat ik niets bijleerde uit zijn intense begeleiding. Hij wist mijn jeugdig enthousiasme te kanaliseren tot iets waar ik voor het eerst in mijn leven trots op ben. Als je geen reden hebt om te gaan slapen maar wel om op te staan, dan weet je het wel.

Men zou het al snel vergeten, maar het is de hele Gemeenschap die de randvoorwaarden creëert waardoor wetenschappelijk onderzoek mogelijk is. Bij deze dank ik alle belastingbetalers!

Moederkloek Rita wil ik danken voor haar engelengeduld waarmee ze ons exacte analytische meetwaarden leerde genereren. Ook Greet, Wendy, Els, Lutgart, Maarten, Jeroen en Peter verdienen lof voor hun hulp. De vriendelijke bijstand van Chris, Veronique, Regine en de medewerkers van de faculteitsbibliotheek wordt ten zeerste geapprecieerd.

Bovenal wil ik mijn vriendelijke thesisgenoten bedanken voor deze mooie tijd. Elke ontgoocheling en uitbundigheid deelden wij met elkaar. Wie even de grond onder de voeten voelde wegglijden, voelde de amicale steun in woord en daad. Ik laat u graag meeproeven van de klanken van die namen die mij een warm gevoel geven: Wouter Maenhout, Peter De Schryver, Olivier Gobert, Bart Kregersman en Sam Deconinck. Ook met Liesje, Kimberley, Sara, Katrien, Leen, Ellen, Bert, Pepijn, Michaël, Siegfried, Ruben, Benny, Kinfe en de andere buitenlandse studenten van het labo was het fijn samenwerken.

Een vette knipoog ook naar de bonte gezelschappen *De Martino's*, *Docazzz*, *De Kruidentuin* en *De Bende Van Alain*. Geen beter gezelschap kon ik genieten op momenten dat ik het glas hief op De Vriendschap. Tony dank ik om wie hij is en al het goede dat hij doet. De studentenkring, de VLK, dank ik om in haar helse fuiven waaraan menig bio-ingenieur mooie herinneringen koestert, de een al met meer schaamrood op de wangen dan de andere. Neil Young dank ik om zijn troostende muziek.

Mijn familie, mijn ouders in het bijzonder, bleven onverminderd de bron van steun en liefde waaraan ik mij kon laven. Ik dank hen om deze boeiende studies mogelijk te maken.

Maar als men De Liefde niet heeft, dan is men niets. Mijn lieve vriendin Hanne dank ik om haar liefde, begrip en luisterbereidheid. Is het de kennis niet, dan is zij het zeker die dit leven de moeite waard maakt. Haar ouders dank ik om het mooiste geschenk dat ik ooit kreeg.

Bij deze groet ik u, lezer van deze thesis, en hoop dat het u evenzeer zal boeien als het mij boeide.

## Samenvatting

---

Een nieuwe microbiële brandstofcel (MBC) werd ontworpen met het oog op een betere prestatie dan de bestaande ontwerpen. Het design integreerde zowel elektrochemische als microbiële behoeften. Vooralsnog is er gewerkt met een kathode bestaande uit hexacyanoferraat ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ). De optie om een tubulaire opstroom reactor te bouwen, gevuld met grafietkorrels bleek een goede keuze. De inwendige weerstand bleek slechts 7 ohm te bedragen, waardoor de potentiaalverliezen significant lager waren. Bijgevolg kon een hogere anodische potentiaal bekomen worden waardoor fermentatieve pathways de goede prestatie niet beletten.

Bij opstart van een nieuwe microbiële brandstofcel was de microbiële gemeenschap snel in staat om elektriciteit te produceren. In een periode van 100 - 150 h na opstart kon een maximale spanning bekomen worden, wat erop wees dat er een periode van adaptatie en aangroei van biomassa nodig was. Ook bleek de microbiële gemeenschap snel te herstellen na extreme situaties. Dit is een interessant gegeven aangezien biologische systemen vaak het nadeel hebben dat er een lange opstarttijd nodig is. Ook is de gevoeligheid van de microbiële gemeenschap een probleem bij calamiteiten.

Uit de testen kwam aan het licht hoe cruciaal het afstellen van een optimale externe weerstand, en dus de anodische potentiaal, was. De externe weerstand die de hoogste stroomproductie opleverde, viel doorgaans niet samen met de externe weerstand die de hoogste energieproductie opleverde. De externe weerstand en de netto vloeistofinhoud in de anode (NAC) limiteren dus de prestatie als deze parameters niet goed gekozen worden. Naargelang de doelstellingen van het toekomstige gebruik, waterzuivering of energieproductie, zal hier dus voldoende aandacht aan besteed moeten worden.

Uit de geteste externe weerstanden bleek dat de hoogste stroomproductie, en dus omzetting van organisch materiaal in stroom, uitgedrukt in chemische zuurstofvraag (CZV), bekomen werd bij 10 - 15 ohm. Voor glucose en acetaat bleek de maximaal bekomen stroom respectievelijk  $1,04 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (30 mA, 0,21 L NAC) en  $1,25 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (25 mA, 0,30 L NAC) te bedragen. Voor het ziekenhuis afvalwater werd er tot  $0,92 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (27 mA, 0,21 L NAC) stroom geproduceerd en voor industrieel afvalwater aangesterkt met acetaat bedroeg de stroomproductie  $0,98 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (29 mA, 0,21 L NAC). De porositeit in de reactor bedroeg 54 %. Als deze porositeit in de toekomst verder toeneemt, dan komt een omzetting van  $1 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ TAC d}^{-1}$  in zicht. Een dergelijke belasting is normaal voor een aërobe afvalwaterbehandeling.

Het is ook belangrijk de coulometrische efficiëntie in beschouwing te nemen. Een coulometrische efficiëntie van  $86 \pm 5 \%$  bleek mogelijk voor specifieke substraten. Bij afvalwater was een coulometrische efficiëntie van ongeveer 30 % slechts mogelijk bij substraten met een hoge fractie aan biodegradeerbaar organisch materiaal.

De energieproductie bij een optimale externe weerstand leverde bij glucose  $49 \pm 8 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  en  $52 \pm 10 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  bij acetaat. Dit stemde overeen met een energetische efficiëntie van respectievelijk  $22 \pm 3 \%$  en  $32 \pm 6 \%$  (maximaal 55 %). Het maximale uurgemiddelde betrof

91 Watt m<sup>-3</sup> NAC bij het gebruik van deze specifieke substraten. Dit is gelijkaardig aan de energetische efficiëntie bij de omzetting van substraat tot elektriciteit via een anaërobe vergisting gevolgd door een biogasverbranding. Voor het ziekenhuis afvalwater werd er 14 ± 2 Watt m<sup>-3</sup> NAC bekomen bij een externe weerstand van 50 ohm, wat overeenstemde met een energetische efficiëntie van 4 ± 1 %. Een piekbelasting leverde bij 10 ohm evenwel maximaal 35 Watt m<sup>-3</sup> NAC. Het toevoegen van acetaat aan het industriële afvalwater resulteerde in een vermogen van 44 ± 8 Watt m<sup>-3</sup> NAC (maximaal 57 Watt m<sup>-3</sup> NAC) bij een externe weerstand van 15 ohm, alhoewel de energetische efficiëntie slechts 5 % betrof.

Bij de specifieke substraten was een CZV-verwijdering van 90 ± 4 % mogelijk. Dit betekende dat mits een goede keuze van de externe weerstand (in casu 10 ohm bij glucose) het substraat tot een restconcentratie van 30 mg CZV L<sup>-1</sup> kon verbruikt worden.

Bij het afvalwater was een CZV-verwijdering van 50 - 60 % normaal zolang de belasting niet te hoog werd zoals bij het industrieel afvalwater waar de CZV-verwijdering slechts 27 % betrof. Er moet wel rekening gehouden worden met het feit dat er een significante hoeveelheid van de verwijderde CZV bij het gebruik van afvalwater accumuleerde in de reactoren. In toekomstige ontwerpen moeten maatregelen genomen worden om dit tegen te gaan. Het recalcitrant organisch materiaal werd slechts beperkt gemetaboliseerd in de microbiële brandstofcellen.

Onderzoek naar de verliezen bracht aan het licht dat sulfaatreductie een parameter is die nauwgezet in het oog moet gehouden worden. Het belang aan sulfaatreductie was gecorreleerd met de energetische inhoud van het substraat. De theoretische energiewinst voor bacteriën uit sulfaatreductie betrof per mol elektronen voor glucose, acetaat en afvalwater respectievelijk 21 kJ, 6 kJ en 11 kJ. Zo was er tot 0,21 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> van de influentbelasting dat een dergelijk verlies kon uitmaken bij glucose terwijl dit bij acetaat verwaarloosbaar was. Afvalwater bleek een intermediaire sulfaatverwijdering te vertonen.

Fermentatie tot vluchtige vetzuren bleek geen probleem te zijn in de gebouwde reactor. Aangezien er situaties konden gecreëerd worden waarbij er 90 ± 4 % van de influentbelasting verwijderd werd terwijl er 86 ± 5 % van de influentbelasting omgezet werd in stroomproductie. Er kon ook besloten worden dat een oxidatief metabolisme door zuurstofpermeatie door het kationuitwisselingsmembraan erg beperkt bleef.

De technologie blijft in een experimenteel stadium zolang er geen betere en goedkopere kathode ontwikkeld wordt. De uitgevoerde testen in dit eindwerk toonden evenwel aan dat microbiële brandstofcellen over interessante mogelijkheden beschikken. Gebruik van specifieke substraten zoals glucose en acetaat toonden aan dat de microbiologie niet de limiterende factor hoefde te zijn om tot een goede performantie te komen. De resultaten bij het afvalwater lagen een stuk lager, maar deze mindere performantie leek voornamelijk te wijten aan de aard van het substraat. Acetaat bleek een interessante component, al kon deze gunstige invloed teniet gedaan worden door een hoge concentratie aan andere vluchtige vetzuren. Als de trend van verbeteringen aan microbiële brandstofcellen, zoals die zich de laatste vijf jaar voordeed, aanhoudt, belooft de microbiële brandstofcel een interessante en bruikbare technologie te worden.

## Abstract

---

A novel microbial fuel cell (MFC) was designed in order to obtain better performance in comparison with other existing designs. The design integrated both electrochemical and microbial requirements. At this stage, the cathode consisted of hexacyanoferrate ( $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ). The decision to choose a tubular upflow reactor, filled with granular graphite, turned out to be successful. The internal resistance was about 7 ohm, which implied a significant decrease in potential losses during operation. Hence, a higher anode potential could be obtained, which favours coulombic efficiency rather than formation of fermentation products.

Upon start-up the microbial community was able to generate electricity relatively quick. A maximal current output could be obtained in about 100 to 150 h, indicating a need for both biomass adaptation as build up. Even after stress conditions the microbial community recovered rapidly. This is an interesting feature, as a long start-up period and a considerable sensitivity of microbial communities constitute traditional drawbacks of biological systems for energy generation.

The tests emphasized the importance of the control of an optimal external resistance, and hence the anode potential. The external resistance that provided the maximal current output was different from the external resistance providing an optimal energy production. A suboptimal choice of nett anodic liquid volume (NAC) and external resistance hamper the performance of a microbial fuel cell. Sufficient care is required to obtain the goal, i.e. breakdown of organic matter respectively energy production.

For the tested external resistances, the highest production of current, and therefore the maximal conversion of organic matter, expressed as chemical oxygen demand (COD) into electricity, was obtained at 10 - 15 ohm. Glucose and acetate were converted to electricity, respectively, up to  $1,04 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (30 mA, 0,21 L NAC) and  $1,25 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (25 mA, 0,30 L NAC) as current. When using medical wastewater, which was fed at higher loading rates, the production of current was at best  $0,92 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (27 mA, 0,21 L NAC). Industrial wastewater with supplemented acetate was able to generate  $0,98 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (29 mA, 0,21 L NAC) as current. The porosity of the anodic matrix turned out to be 54 %. An increase in the porosity without an increase in fluid resistance might bring a conversion of  $1 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ TAC d}^{-1}$  to reality. This is a standard loading rate for a conventional aerobic wastewater treatment.

The coulombic efficiency needs to be taken into account as a determinative factor. While a coulombic efficiency of  $86 \pm 5 \%$  was attained for specific substrates, this efficiency decreased to approximately 30 % during experiments with wastewater, and this only in the case of an elevated fraction of biodegradable matter.

The energy production in optimal conditions of external resistance amounted to  $49 \pm 8 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  for glucose and  $52 \pm 10 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  for acetate, with  $91 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  as the maximal power output. This corresponded with an energetic efficiency of respectively  $22 \pm 3 \%$  and  $32 \pm 6 \%$ , and 55 % was the maximal energetic efficiency. These efficiencies were similar to electricity generation through anaerobic digestion followed by combustion of the biogas. When using medical wastewater, the energy production resulted in  $14 \pm 2 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  with an external resistance of 50 ohm, which

corresponds with an energetic efficiency of  $4 \pm 1$  %. The maximal power output was  $35 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  when the loading was very high for a limited period of time (10 ohm). The spiking of acetate to industrial wastewater resulted in a power output of  $44 \pm 8 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  (maximal  $57 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$ ) with an external resistance of 15 ohm, corresponding with 5 % energetic efficiency.

The specific substrates permitted a COD-removal of  $90 \pm 4$  %. When using an optimal external resistance (e.g. 10 ohm for glucose), the substrate was removed to a residual COD-concentration in the effluent of  $30 \text{ mg COD L}^{-1}$ .

The COD-removal of wastewater ranged between 50 - 60 % as long as the loading rate remained moderate. The application of heavily loaded wastewater amounted in a COD-removal of 27 %. One has to take into account that a significant amount of the removed COD accumulated in the reactor. Future designs should deal with this. This recalcitrant organic matter was scarcely metabolised in microbial fuel cells.

Tests revealed the importance of sulphate reduction as a potential loss. The sulphate removal correlated with the energetic yield of sulphate reduction for the bacteria. For example, the theoretical energetic gain for glucose, acetate and wastewater was respectively 21 kJ, 6 kJ and 11 kJ per mole electrons. Up to  $0,21 \text{ kg COD m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  of the influent loading rate could putatively be allocated to sulphate reduction when using glucose as the electron donor, while this electron diversion phenomenon was negligible in case of acetate as the electron donor.

Fermentative formation of volatile fatty acids did not appear to be a problem, since conditions could be created in which, of the 90 % that was removed,  $86 \pm 5$  % of the influent could be converted into electrical current. This also indicates that oxygen driven metabolism (via oxygen permeation through the cation exchange membrane) was limited. Putatively, the formation of a biofilm at the membrane could prevent the intrusion of oxygen

The technology remains in an experimental phase and needs to be further elucidated. Aside from the microbial aspects, less expensive cathodes need to be devised. The experiments performed during this study revealed the opportunities microbial fuel cells represent for energy efficient wastewater treatment. Specific substrates, such as glucose and acetate, could efficiently be converted into electricity, which leads to the conclusion that the microbiology of MFCs does not impose severe restrictions. The results for wastewater were as yet limited, but this diminished performance was mainly due to the more recalcitrant nature of the substrate. Acetate appeared to be an eligible component for anodophylic removal out of wastewaters, though this beneficial effect could not be obtained in the presence of other highly concentrated volatile fatty acids. If the current trend of improving MFCs, as observed the last five years, continues, then the future of microbial fuel cells might be bright.



# Inhoudsopgave

---

Lijst met afkortingen

## DEEL I LITERATUURSTUDIE

Inleiding .....	1
<b>Hoofdstuk 1 De microbiële brandstofcel.....</b>	<b>3</b>
1 Elektrochemie van de brandstofcel.....	4
1.1 <i>Basisprincipes</i> .....	4
1.2 <i>De klassieke galvanische cel</i> .....	4
2 Chemische brandstofcellen .....	7
3 Biologische brandstofcellen .....	8
3.1 <i>Enzym-gebaseerde biologische brandstofcellen</i> .....	8
3.2 <i>Brandstofcellen met micro-organismen als katalysator</i> .....	8
4 Microbiële brandstofcellen: <i>state-of-the-art</i> .....	11
4.1 <i>Metabolisme in het anodecompartiment</i> .....	11
4.2 <i>Elektronenoverdracht op de elektrode</i> .....	14
4.3 <i>Samenstelling van de microbiële gemeenschap</i> .....	16
4.4 <i>Operationele parameters</i> .....	16
<b>Hoofdstuk 2 Bestaande technieken voor afvalwaterzuivering.....</b>	<b>20</b>
1 Fysisch-chemische waterzuivering .....	20
1.1 <i>Coagulatie &amp; flocculatie</i> .....	20
1.2 <i>Membraantechnologie</i> .....	21
1.3 <i>Voor- en nadelen van de fysisch-chemische waterzuivering</i> .....	21
2 Waterzuivering met actief slib .....	21
2.1 <i>Het principe</i> .....	21
2.2 <i>Voor- en nadelen van waterzuivering met actief slib</i> .....	22
3 Anaërobe vergisting .....	23
3.1 <i>Het principe</i> .....	23
3.2 <i>Voor- en nadelen van anaërobe vergisting</i> .....	23
4 Competitieve situering van de microbiële brandstofcel .....	24
4.1 <i>Voordelen inzake waterzuivering</i> .....	24
4.2 <i>Andere nuttige toepassingen van de microbiële brandstofcel</i> .....	26
<b>Hoofdstuk 3 Doelstellingen.....</b>	<b>28</b>

## DEEL II MATERIAAL EN METHODEN

<b>Hoofdstuk 1 Uitgevoerde testen .....</b>	<b>29</b>
1 De gebruikte substraten.....	29
1.1 <i>Glucose met een M9-oplossing</i> .....	29
1.2 <i>Acetaat met een M9-oplossing</i> .....	30
1.3 <i>Afvalwater</i> .....	32
2 Staalname .....	33
<b>Hoofdstuk 2 Metingen .....</b>	<b>35</b>
1 Potentiaalmetingen.....	35
2 Bepaling van chloride, nitraat, nitriet, fosfaat en sulfaat .....	36
3 De chemische zuurstofvraag .....	36
4 Vluchtige vetzuren.....	36
5 Ammoniumconcentratie.....	37
6 Totale zwevende droge stof en vluchtige zwevende stof .....	37
7 Zuurtegraad.....	37
8 Biologische zuurstofvraag .....	37
9 Gasmetingen.....	37
<b>Hoofdstuk 3 Verwerking van de data.....</b>	<b>38</b>
1 Coulometrische efficiëntie .....	38
2 Energetische efficiëntie .....	39
3 Statistische analyse.....	40

## DEEL III RESULTATEN

<b>Hoofdstuk 1 Bouw en operationalisering van de reactor.....</b>	<b>41</b>
1 De bouw van de reactor.....	41
2 Operationalisering van de reactor.....	42
<b>Hoofdstuk 2 Microbiële brandstofcellen gevoed met glucose.....</b>	<b>44</b>
1 De opstart van een reactor .....	44
2 Het effect van de belasting en de externe weerstand op het ladingstransport .....	44
3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen.....	49
4 Energetische opbrengsten met glucose als substraat.....	51
5 Invloed van de belasting op de pH.....	53
6 Ammoniumverwijdering.....	53

<b>Hoofdstuk 3 Microbiële brandstofcellen gevoed met acetaat .....</b>	<b>54</b>
1 De opstart van de reactoren .....	54
2 Het effect van de belasting en de externe weerstand op het ladingstransport .....	55
3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen .....	59
4 Energetische opbrengsten met acetaat als substraat .....	61
5 Invloed van de belasting op de pH.....	63
6 Onderzoek naar limiterende factoren.....	64
7 Inschatting van de inwendige weerstand.....	66
<b>Hoofdstuk 4 Microbiële brandstofcellen gevoed met huishoudelijk afvalwater .....</b>	<b>67</b>
1 De opstart van een reactor .....	67
2 Het effect van de externe weerstand op het ladingstransport.....	67
3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen.....	69
4 Energetische opbrengsten met huishoudelijk afvalwater als substraat .....	72
5 De zuurtegraad in de reactor en in het katholiet.....	72
6 Ammoniumverwijdering en fosfaattoename.....	72
7 Het substraat als limiterende factor .....	73
<b>Hoofdstuk 5 Microbiële brandstofcellen gevoed met ziekenhuis afvalwater.....</b>	<b>75</b>
1 Het effect van de externe weerstand op het ladingstransport.....	75
2 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen.....	78
3 Energetische opbrengsten met ziekenhuis afvalwater als substraat .....	80
4 Zure hydrolyse bij een verhoogde temperatuur.....	81
5 Extreme omstandigheden.....	83
<b>Hoofdstuk 6 Microbiële brandstofcellen gevoed met industrieel afvalwater .....</b>	<b>84</b>
1 De performantie met industrieel afvalwater .....	84
2 De performantie met industrieel afvalwater met acetaat versterkt.....	85
3 De performantie met industrieel afvalwater na twee dagen op 44 °C .....	85
<b>DEEL IV DISCUSSIE</b>	
<b>Hoofdstuk 1 Bespreking van de uitgevoerde testen.....</b>	<b>87</b>
1 De ontwikkeling van performante microbiële brandstofcellen.....	87
2 De opstart van een microbiële brandstofcel .....	87
3 De invloed van de externe weerstand.....	88
3.1 De ladingsoverdracht .....	88
3.2 De energieproductie .....	91
3.3 De CZV-verwijdering .....	92

4	De impact van het soort substraat en de belasting.....	93
4.1	<i>Het gebruik van specifieke substraten</i> .....	93
4.2	<i>Het gebruik van huishoudelijk afvalwater</i> .....	93
5	Onderzoek naar de verliezen.....	96
5.1	<i>Sulfaatreductie</i> .....	96
5.2	<i>Fermentatie</i> .....	98
5.3	<i>Accumulatie van organisch materiaal en aangroei van biomassa</i> .....	98
5.4	<i>Methaanvorming en waterstofgasproductie</i> .....	99
5.5	<i>Oxidatief metabolisme omwille van zuurstofpermeatie</i> .....	100
6	Ammoniumverwijdering .....	100
7	De rol van fosfaat.....	101
8	De rol van de zuurtegraad .....	101
9	De performantie van de kathode .....	102
<b>Hoofdstuk 2 Een economische invalshoek.....</b>		<b>104</b>
<b>Conclusie .....</b>		<b>107</b>

## DEEL V REFERENTIES

## Lijst met afkortingen

---

AFC	<i>alkalic fuel cell</i> , alkalische brandstofcel
AOP	<i>advanced oxidation processes</i> , geavanceerde oxidatie processen
ATP	adenosine trifosfaat
bCZV	biodegradeerbare zuurstofvraag (= 1,5 x BZV <sub>5</sub> <sup>20</sup> )
BZV <sub>5</sub> <sup>20</sup>	biologische zuurstofvraag (Eng. : BOD <sub>5</sub> <sup>20</sup> )
CAPEX	<i>capital expenditures</i> , investeringskosten
CZV	chemische zuurstofvraag (Eng. : COD)
ΔV	spanningsverschil [V]
E'o	formele potentiaal onder standaardcondities bij pH = 7[V]
FID	<i>flame ionisation detector</i> , vlam ionisatie detector
GC	gas chromatograaf
HRT	<i>hydraulic retention time</i> , hydraulische verblijftijd
I	stroom [A]
IE	inwonersequivalent
ITSOFC	<i>intermediate temperature solid oxygen fuel cell</i> , intermediaire temperatuur vast/zuurstof brandstofcel
MBC	microbiële brandstofcel
MCFC	<i>molten carbon fuel cell</i> , geweven grafiet brandstofcel
N	aantal metingen
NAC	<i>nett anodic compartment</i> , vloeistofvolume in de anode [L]
NAD(P)H	nicotinamide adenine dinucleotide (fosfaat)
OKP	open kring potentiaal [V]
P	vermogen [W]
PAFC	<i>fosforic acid fuel cell</i> , fosfor zuur brandstofcel
PEMFC	<i>proton exchange membrane fuel cell</i> , protonen uitwisselingsmembraan brandstofcel
R	weerstand [Ohm]
RWZI	rioolwaterzuiveringsinstallatie
SHE	standaard waterstof elektrode als referentie
TAC	total anodic compartment, totaal volume van de anode [L]
TSOFC	<i>tubular solid oxygen fuel cell</i> , buisvormige vast/zuurstof brandstof cel
TSS	totale zwevende droge stof
UASB	<i>upflow anaerobic sludge blanket</i>
VFA	<i>volatile fatty acids</i> , vluchtige vetzuren
VSS	vluchtige zwevende droge stof
WKK	warmtekrachtkoppeling

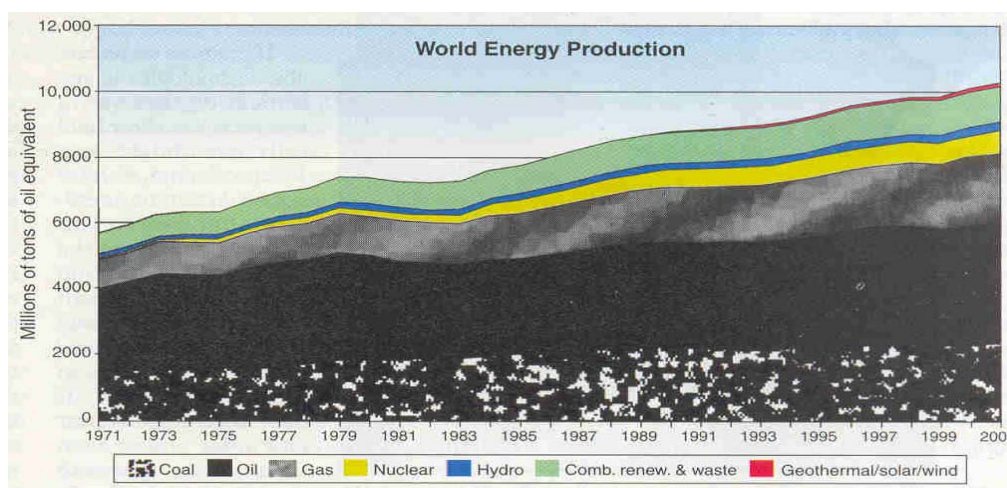
DEEL I

LITERATUURSTUDIE

## Inleiding

Men kan alle leven aanzien als een omzetting van energie in voldoende nuttige informatie die zichzelf kan vermenigvuldigen, gebruik makend van materie. Als er geen thermodynamisch gunstige omstandigheden zijn, of als de informatie deze omstandigheden niet zelf kan creëren, dan gaat de informatie verloren. Dit fenomeen staat bekend als *natuurlijke selectie*. Leven houdt dus op te bestaan als de informatie voor aanpassing aan een nieuwe situatie niet voorhanden is, alle informatiedragers vernietigd worden, noodzakelijke materie niet beschikbaar is of als er een energie-uitputting plaatsgrijpt. Als denkend en handelend wezen kan de mens ingrijpen in processen die het voortbestaan van levensvormen bedreigen; de energieproblematiek staat hier centraal.

Momenteel verloopt de energieconsumptie van de mens voornamelijk via koolstofgerelateerde energiedragers zoals olie, aardgas en steenkool (Fig. I.1). Door het exponentiële verbruik van deze energiedragers sinds de industriële revolutie wordt de mens geconfronteerd met een aantal bedreigingen. De koolstofgerelateerde energiebronnen zijn eindig en bovendien veroorzaakt de verhoogde uitstoot van koolstofdioxide (CO<sub>2</sub>) mogelijks klimaatwijzigingen. In het kader van het Kyoto-protocol wordt gezocht naar CO<sub>2</sub>-vermijdende maatregelen [Service *et al.*, 2004].



**Fig. I.1 Het wereldwijde consumptiepatroon van energiebronnen [Service, 2004]**

Ook kernsplijting kan niet aanzien worden als een duurzame techniek aangezien de hoeveelheid nuttig radioactief materiaal op aarde ook niet oneindig is en de berging van het radioactief materiaal vooralsnog een graad van onzekerheid inhoudt. Het radioactief verval spreidt zich over meerdere generaties, wat in strijd is met het gedachtegoed van duurzaamheid om de toekomstige generaties niet *a priori* op te zadelen met problemen die in het heden veroorzaakt worden. Ook stelt er zich een veiligheidsprobleem: zowel het ongecontroleerd gebruik, als het militaire gebruik stoten op protest [Pacala en Socolow, 2004]. Kernfusie zou het probleem met het kernafval kunnen verminderen (80 % wordt verwijderd in 100 jaar en ecotoxicologisch is het minder gevaarlijk dan een installatie die steenkool verbrandt) [ITER, 2001], maar tot op heden zijn er grote technische problemen. Aanvaarde duurzame technieken zijn windenergie, hydraulische energie, fotovoltaïsche energie, geothermie en het genereren van energie uit biomassa [Pacala en Socolow, 2004]. Dit laatste houdt zowel energiewinning uit geteelde energiegewassen (*energy-crops*) in als energiewinning uit organisch afval. De voordelen van biomassa-energie zijn dat ze algemeen aanwezig zijn en er geen extra CO<sub>2</sub>-emissies zijn. Ook bij deze aanvaarde technieken kunnen kritische voetnoten geplaatst worden. De

mogelijkheden van implementatie en energiegeneratie zijn meestal beperkt [Gross *et al.*, 2003]. Ook het gebruik van energiegewassen doet vragen rijzen inzake biodiversiteit en ethisch landgebruik [Pacala en Socolow, 2004]. Tot op heden neemt hernieuwbare energieproductie slechts een klein marktaandeel in (Fig. 1.1). Ook de kostprijs weerhoudt de industrie van massale implementatie van duurzame technieken.

Tenslotte wordt er grote hoop gevestigd op waterstofgas ( $H_2$ ) dat een hoogwaardige carrier is van energie. Bij oxidatie van waterstofgas komt er een aanzienlijke hoeveelheid energie vrij. Er treedt hierbij geen pollutie op, voor zover gegenereerde warmte niet als verontreiniging aanzien wordt. Waterstofgas is geen brandstof die in de natuur voorkomt en moet daarom gevormd worden uit andere energiebronnen [Van Ginkel *et al.*, 2005]. De gangbare technieken zijn elektrolyse van water, gedeeltelijke oxidatie van fossiele brandstoffen en stoomreformatie van methaan. Deze laatste twee zijn momenteel de belangrijkste [Levin *et al.*, 2004]. Elke omzetting van energie in een andere vorm betekent weliswaar een verlies aan bruikbare energie, zo stelt de tweede wet van de thermodynamica. Zo houdt de omzetting met stoomreformatie een energieverlies van 15 % in [Service, 2004]. Deze omzettingen vereisen dus ofwel elektriciteit ofwel fossiele brandstoffen. Dit kan alleen duurzaam zijn als er met groene energie gewerkt wordt zoals bijvoorbeeld windenergie. Als er toch met fossiele brandstoffen gewerkt wordt, dan kan puntvervuiling van afvalgassen beter gecontroleerd worden dan bij mobiele verbrandingsprocessen (vb. auto's). Ook kan waterstofgas biologisch gegenereerd worden (zie verder), al wordt er tot op heden maximaal 15 % van energie vervaardigd in de organische verbindingen omgezet in waterstofgas [Logan, 2004]. De huidige onveiligheid, de omschakelkosten, het grote volume, dat eigen is aan de gasvormige toestand, alsook de kostprijs maken dat de implementatie op zich laat wachten. De wetenschap staat voor een immense uitdaging en men gaat er soms wat voorbarig van uit dat de wetenschap zeker een oplossing zal genereren [Service, 2004].

Bovendien levert het huidige consumptiepatroon ook nog een andere bedreiging op. Menselijke activiteit levert afval op en afval is per definitie een stof waar men zich wil van ontdoen. Het cumulatief opstapelen ervan kan toxiciteit veroorzaken en bedreigt ecologische randvoorwaarden in het algemeen [Bockris *et al.*, 2002]. Omzetting van afval in onschadelijke eindproducten vereist energie. Voorkomen van afval staat dan ook bovenaan de zogenaamde Ladder van Lansink die de hiërarchie weergeeft in afvalreductieprocessen. Maar als voorkomen of hergebruiken niet mogelijk is, dan is een *end-of-pipe*-behandeling nodig. Biologische processen zijn hierin erg interessant omdat ze de energie vervaardigen in het afval gebruiken om het afval zelf teniet te doen, zoals bij waterzuivering met behulp van actief slib. Als men uiteindelijk kan komen tot een situatie waarin micro-organismen niet alleen het afval verwijderen, maar er ook nog energie kunnen uit genereren die bruikbaar is voor de mens, dan is er al veel meer sprake van duurzaamheid. De microbiële brandstofcel is een poging in die richting.



# Hoofdstuk 1

## De microbiële brandstofcel

De microbiële brandstofcel is een functionele eenheid die met behulp van micro-organismen chemische energie, aanwezig in organisch materiaal, omzet in elektrische energie. Het kan dus positief bijdragen in milieudomeinen zoals energiewinning en afvalwaterzuivering.

Om de werking van een microbiële brandstofcel te begrijpen, is een zekere kennis van zowel de natuurkunde (elektriciteit), scheikunde (redox-reacties) als de biologie (micro-organismen) vereist. In dit hoofdstuk wordt het onderscheid met andere technieken geduid en wordt tevens een *state-of-the-art* van microbiële brandstofcellen gegeven.

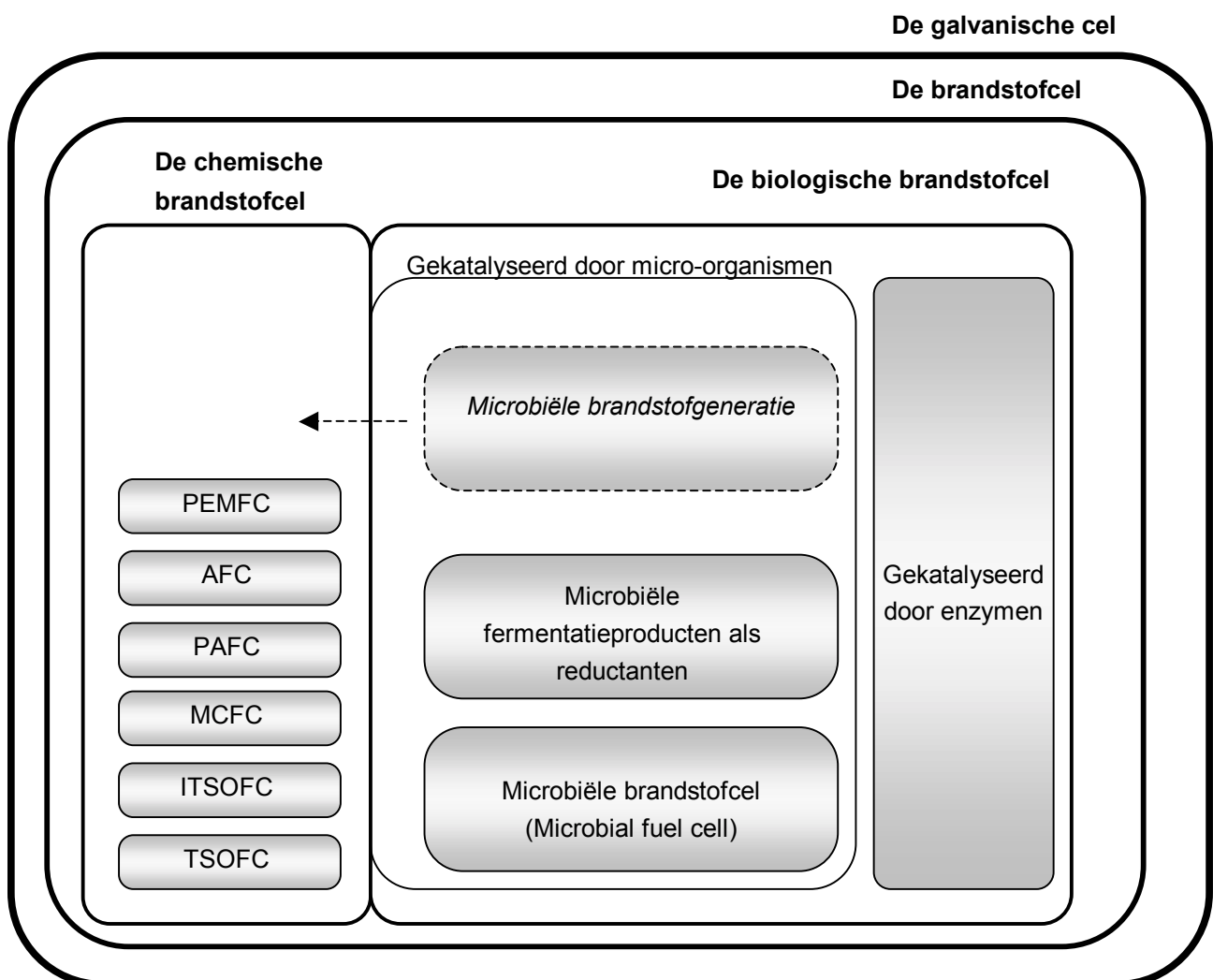


Fig. I.2 Contextuele situering van de microbiële brandstofcel

## 1 Elektrochemie van de brandstofcel

### 1.1 Basisprincipes [Bouciqué en Van Den Berge, 2000]

Elk transport van ladingen, zowel positieve als negatieve ladingen, wordt omschreven als elektrische stroom. In metalen wordt de stroom gevoerd door elektronen die migreren van een lage potentiaal naar een hoge potentiaal [Volt, V]. De eenheid van stroom [I] is de ampère [A] en correspondeert met een hoeveelheid ladingstransport [dq] in coulomb [C] gedurende één tijdseenheid [dt], de seconde [s].

$$I = \frac{dq}{dt}$$

De stroomdichtheid is numeriek gelijk aan het aantal ladingen die per seconde stromen door een eenheidsoppervlak. Dit drukt men uit als  $[C\ m^{-2}\ s^{-1}]$  of  $[A\ m^{-2}]$ . Ohmse geleiding treedt op wanneer de geleidbaarheid onafhankelijk is van de veldsterkte en van de stroomdichtheid. Het verband tussen de elektrische stroom [I], het spanningsverschil of potentiaalverschil  $[\Delta V]$  en de weerstand [R] in ohm  $[\Omega]$  wordt dan gegeven in de wet van Ohm.

$$I = \frac{\Delta V}{R}$$

Er kan aangetoond worden dat het product van het potentiaalverschil met het aantal ladingen dq gelijk is aan de arbeid die tegen het veld in moet verricht worden om die ladingen dq van plaats 'a' naar plaats 'b' te brengen. Hierbij wordt potentiële energie omgezet in kinetische energie. Uitgedrukt per tijdseenheid [dt] levert dit het vermogen [P], uitgedrukt in Watt [W] of Joule per seconde  $[J\ s^{-1}]$ .

$$P = \Delta V \times \frac{dq}{dt} = \Delta V \times I = \frac{\Delta V^2}{R} = I^2 \times R$$

### 1.2 De klassieke galvanische cel [Zumdahl, 1998]

De klassieke galvanische cel bestaat uit een anodecompartiment, waar elektronen opgenomen worden door de elektrode, en een kathodecompartiment, waar elektronen afgegeven worden aan de elektronacceptor die in contact staat met de elektrode. De elektronen stromen van de anode naar de kathode. Een zoutbrug of een ionuitwisselingsmembraan zorgt voor het elektrisch contact, zodat positieve ladingen kunnen migreren van anode naar kathode (Fig. 1.3).

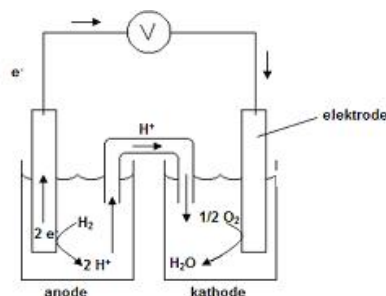


Fig. 1.3 Het werkingsprincipe van een galvanische cel geïllustreerd met het  $H_2/O_2$  redoxkoppel

In elk compartiment grijpt een redox-reactie plaats, en deze overgang tussen geoxideerde naar gereduceerde toestand van een component, of omgekeerd, gebeurt onder standaardomstandigheden bij een vaste potentiaal. De twee halfreacties geven aanleiding tot een potentiaal- of spanningsverschil  $[\Delta V]$  over de cel. Deze kan gemeten worden met een voltmeter. Als de potentiaal over de cel positief is, dan wordt er arbeid  $[w]$  geleverd. Arbitrair wordt er een minteken aan toegekend, aangezien de energie het systeem verlaat.

$$-\Delta w = -\Delta q \times \Delta V$$

De maximaal bruikbare arbeid die verricht kan worden, komt overeen met het verschil in vrije energie, uitgedrukt als  $\Delta G$ . De hoeveelheid aan ladingen kan ook in mol elektronen  $[n]$  uitgedrukt worden met behulp van de constante van Faraday  $[F]$ : nl.  $96485 \text{ C mol}^{-1}$ .

$$\Delta G = -\Delta w = -\Delta q \times \Delta V = -n \times F \times \Delta V$$

$$\Delta G^\circ = -n \times F \times \Delta V^\circ$$

Dit is het geval onder biochemische standaardcondities ( $25^\circ \text{C}$  en  $1\text{M}$ ). In de chemische literatuur wordt doorgaans gewerkt met  $\text{pH} = 0$  om standaardcondities te beschrijven (in de biochemie, daarentegen, wordt doorgaans gewerkt met  $\text{pH} = 7$ , en dan wordt de vrije energie uitgedrukt als  $\Delta G^\circ$ ). Zo kan bijvoorbeeld de oxidatie van waterstofgas, waarbij er per mol waterstofgas 2 mol elektronen doorgegeven worden ( $\text{H}_2(\text{l}) + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ ;  $\Delta G^\circ = 237,2 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) onder standaardomstandigheden maximaal  $1,229 \text{ V}$  opleveren. Wanneer niet gewerkt wordt onder standaardomstandigheden, dan geeft de temperatuur en de concentratie van de reagentia aanleiding tot een andere potentiaal.  $Q$  is in dit geval de actuele verdelingscoëfficiënt met activiteitscoëfficiënten van de reagentia.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R \times T \times \ln(Q)$$

$$-n \times F \times \Delta V = -n \times F \times \Delta V^\circ + R \times T \times \ln(Q)$$

$$\Delta V = \Delta V^\circ - \frac{R \times T}{n \times F} \times \ln(Q)$$

$$\Delta V = \Delta V^\circ - \frac{0,05916}{n} \times \log(Q) \quad [ \text{ Voor } T = 298,15 \text{ K en } R = 8,31 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} ]$$

Deze vergelijking staat bekend als de Nernst-vergelijking. Men stelt vast dat de gemeten potentiaal steeds lager is dan de theoretisch berekende potentiaal in een brandstofcel. Men spreekt van overpotentialen  $[\eta]$  die stijgen met een stijgende stroomdichtheid. Wanneer er geen stroom onttrokken wordt (oneindige weerstand) aan de cel kan de open kring potentiaal (OKP) gemeten worden (Fig. 1.4). Hierbij ontstaat een evenwicht van de redoxkoppels in beide compartimenten. Bij toenemende stroomdichtheden zullen verschillende soorten overpotentialen cumulatief de gemeten spanning verminderen.

#### a Activatie overpotentiaal (zone 1 in Fig. 1.4)

Bij lage stroomdichtheden ( $0\text{-}1 \text{ mA cm}^{-2}$ ) is de activatiepolarisatie dominant. Vooraleer een redoxreactie kan doorgaan moet een energieberg overwonnen worden. Dit verlies aan spanning kan beschreven worden door de vergelijking van Tafel [Larminie en Dicks, 2002].

Daar de stroomdichtheden in microbiële brandstofcellen tot dusver maximaal  $1,5 \text{ mA cm}^{-2}$  [Schröder *et al.*, 2003] bedragen, zijn deze verliezen van belang in microbiële brandstofcellen. Mogelijkheden om activatie overpotentialen te verminderen zijn: het toevoegen van een katalysator zoals platina en paladium maar ook organische componenten zoals neutraal rood kunnen gebruikt worden. Bovendien kan neutraal rood gebruikt worden als mediator (elektronshuttle) [Park en Zeikus, 2000]. Het vergroten van het specifiek oppervlak kan deze activatie overpotentialen doen afnemen. Gemodificeerde elektroden zoals mangaanoxide in een grafiet-kaolin zijn ook een mogelijkheid [Park en Zeikus, 2003].

b Ohmse overpotentiaal (zone 2 in Fig. I.4)

Deze verliezen worden veroorzaakt door weerstanden die moeten overbrugd worden. Ze worden veroorzaakt door het elektrolyt, het uitwisselingsmembraan en slechte contacten met de elektrode. Laminaire condities veroorzaken ohmse overpotentialen aangezien stagnante lagen een weerstand vormen voor uitwisseling.

c Concentratiepolarisatie (zone 3 in Fig. I.4)

Bij hoge stroomdichtheden ter hoogte van de elektrode kan het gebeuren dat het substraat niet snel genoeg aangevoerd wordt of de geoxideerde componenten niet snel genoeg afgevoerd worden, wat zal resulteren in een spanningsverlies. Dit volgt uit de Nernst-vergelijking (cfr. supra) waarbij de concentratie van de reagentia de redoxpotentiaal bepaalt. Doorgaans stelt dit geen problemen in een microbiële brandstofcel, aangezien de densiteit aan elektrontransfers niet erg groot is. Toch kan de vorming van een biofilm de diffusie van elektronen (met hun dragers) naar de elektrode toe limiteren waardoor dit het beperkend reagens wordt en er spanningsverlies optreedt. Diffusie is dus ook hier van belang. Bovendien stimuleren turbulente omstandigheden die transfer van protonen naar het uitwisselingsmembraan toe. Diffusie alleen is ontoereikend voor een accuraat werkende microbiële brandstofcel.

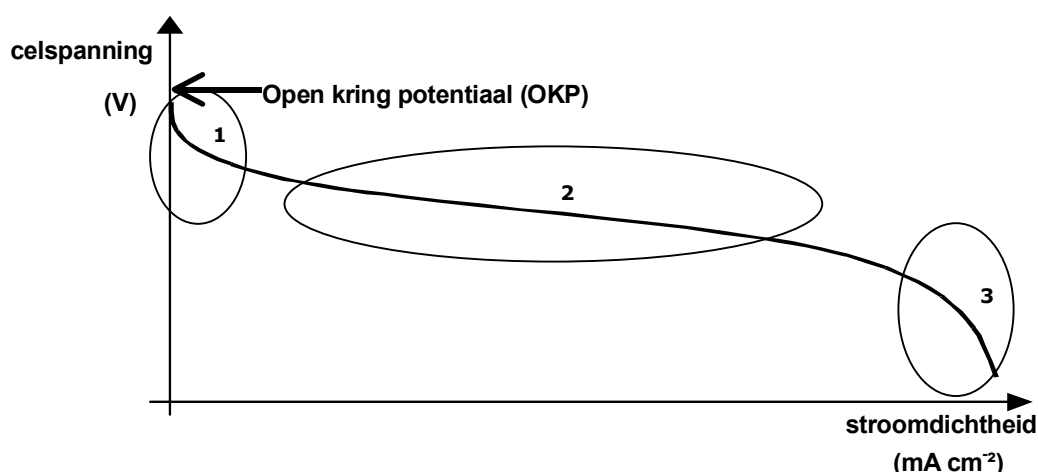
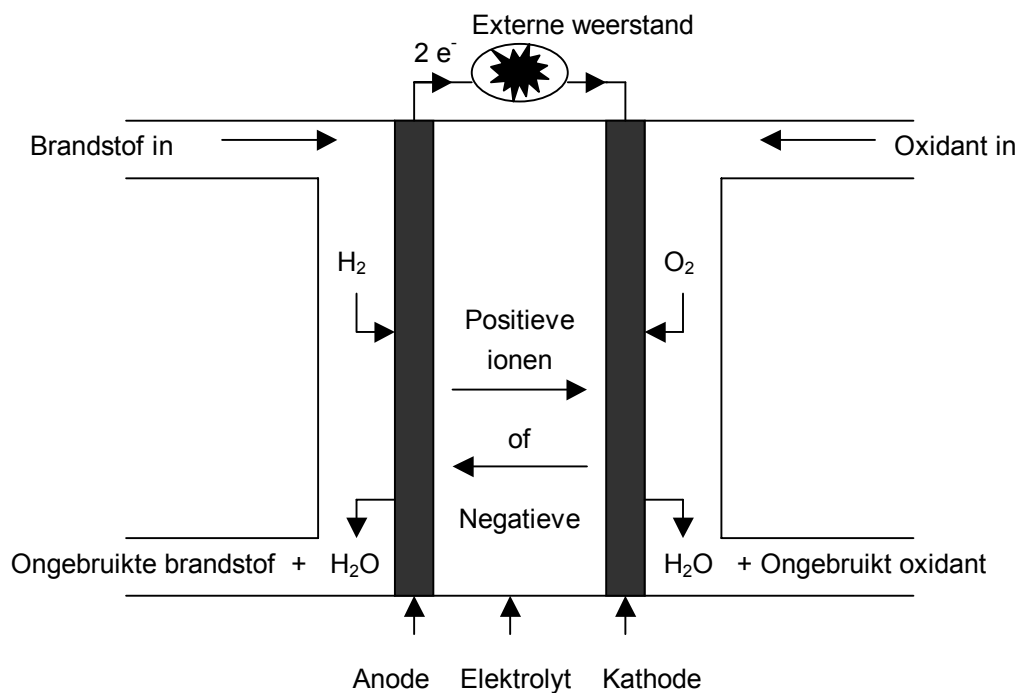


Fig. I.4 Verloop van de celspanning bij open en gesloten kring bij toenemende stroomdichtheid [Larminie en Dicks, 2002]

## 2 Chemische brandstofcellen [Larminie en Dicks, 2002]

Een brandstofcel is een galvanische cel waar reagentia continu toegeleverd worden. Fig 1.5 geeft een algemeen schema weer. Brandstofcellen werden reeds succesvol toegepast in de ruimtevaart (NASA) aangezien ze erg efficiënt zijn, geluidloos zijn en geen emissies veroorzaken, zoals bij verbrandingsreacties wel het geval is. Het grote nadeel is de kostprijs omwille van het gebruik van dure katalysatoren en het gewicht. Ook wordt doorgaans gewerkt bij hoge temperaturen wat de globale energetische efficiëntie doet afnemen.



**Fig. 1.5 Illustratie van de werking van een brandstofcel gebaseerd op het H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> redoxkoppel**

Bij verbranding wordt de chemische energie eerst omgezet in warmte, daarna in beweging en tenslotte in elektriciteit. Thermodynamisch limiteert een Carnot-cyclus de energetische efficiënties tot  $(T_H - T_C)/T_H \cdot 100\%$  (met  $T_H$  = starttemperatuur en  $T_C$  = eindtemperatuur; in graden Kelvin) voor de omzetting van warmte in beweging. Bij een brandstofcel gebeurt de omzetting direct van chemische naar elektrische energie. Het is bijgevolg een potentieel interessanter proces dan verbranding.

Er bestaan verschillende soorten chemische brandstoffen met verschillen in elektrolyt, werkingstemperatuur, brandstof en katalysator. Sommigen zijn nog in een primordiaal stadium terwijl anderen al commercieel beschikbaar zijn.

Tabel I.1 Overzicht van de voornaamste chemische brandstofcellen [Ossieur, 2004][Larminie en Dicks, 2002].

	Polymeer elektrolyt brandstofcel	Alkalische brandstofcel	Fosforzuur brandstofcel	Geweven carbonaat brandstofcel	Intermediaire temperatuur vast/zuurstof brandstofcel	Buisvormige vast/zuurstof brandstofcel
Afkorting	PEMFC	AFC	PAFC	MCFC	ITSOFC	TSOFC
Elektrolyt	ionenuitwisselings – membraan	KOH (al dan niet geïm - mobiliseerd)	geïmmobili - seerd fosforzuur	geïmmobili - seerde geweven carbonaat	keramisch materiaal	keramisch materiaal
Werkings - temperatuur	50 - 100 °C	50 - 200 °C	~ 200 °C	~ 650 °C	600-800 °C	800 - 1000 °C
Brandstof	H <sub>2</sub> – gas	H <sub>2</sub> - gas	H <sub>2</sub> - gas	H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , CO	H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , CO	H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , CO
Katalysator	platina	platina	platina	nikkel	perovskites	perovskites

### 3 Biologische brandstofcellen

#### 3.1 Enzym-gebaseerde biologische brandstofcellen

Enzymen kunnen de rol van katalysator deels vervullen in een brandstofcel door hun resonantie tussen geoxideerde en gereduceerde toestand. Een substraat wordt geoxideerd en de vrijgekomen elektronen kunnen door een aantal enzymen uiteindelijk aan de elektrode afgegeven worden in het anodecompartiment en eventueel kan in het kathodecompartiment het omgekeerde gebeuren met afgifte van de elektronen aan de finale elektronacceptor, bijvoorbeeld zuurstofgas (O<sub>2</sub>). Veelal betreft het enzymen zoals glucose-oxidase en dehydrogenasen. Resultaten werden bekomen bij substraten zoals glucose [Katz *et al.*, 1999] [Kim *et al.*, 2003] en methanol [Palmore *et al.*, 1998] met gebruik van een variëteit aan enzymen. Een voordeel is dat de reactie bij een vaste potentiaal verloopt. Nadeel is wel dat de enzymatische werking specifiek is voor een bepaald substraat en dat de productie van enzymen erg duur is. Ook het gebruik van platina (Pt) of goud (Au) drijft de kosten verder op. Grootschalige toepassingen zijn hier vooralsnog niet realistisch.

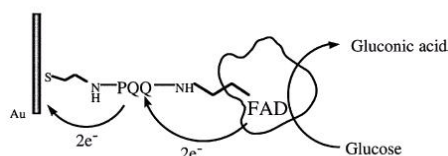
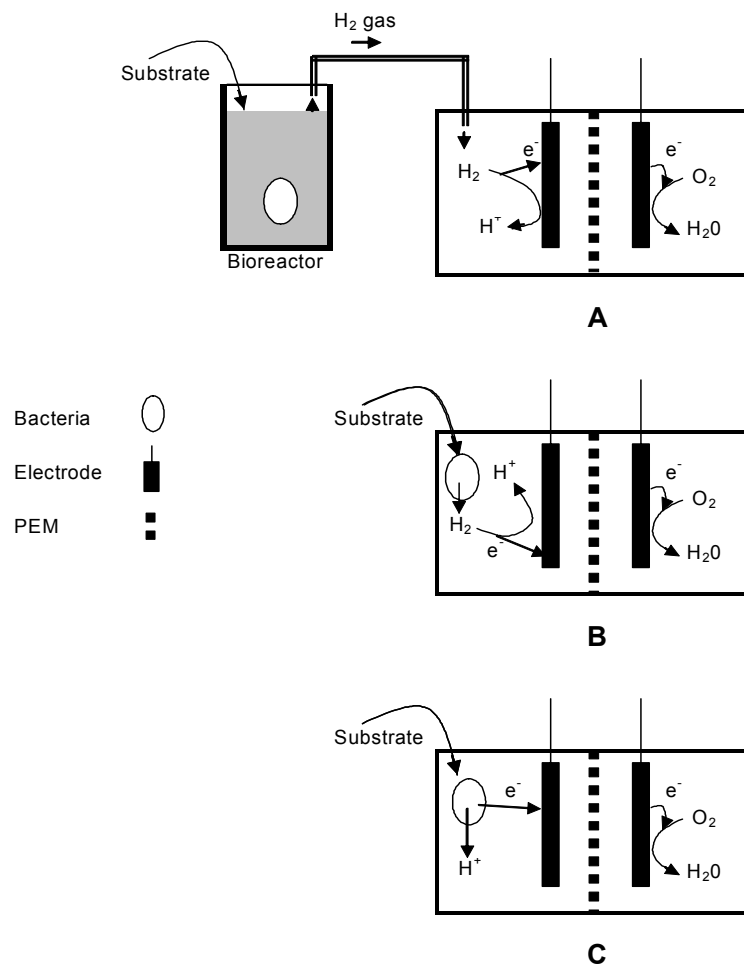


Fig. I.6 Een voorbeeld van enzymatische tussenkomst in een brandstofcel [Katz, 1999]

#### 3.2 Brandstofcellen met micro-organismen als katalysator

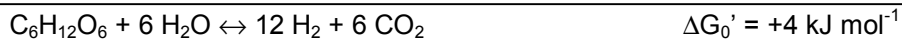
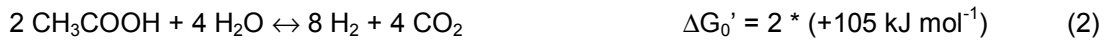
Op drie manieren kunnen micro-organismen een bijdrage leveren tot stroomproductie in brandstofcellen. Fig. I.7 illustreert de mogelijkheden.



**Fig. I.7 Micro-organismen kunnen op drie verschillende manieren bijdragen tot stroomproductie (A: microbiële brandstofgeneratie (i.c. H<sub>2</sub>), B: microbiële fermentatieproducten als reductanten (i.c. H<sub>2</sub>) en C: de elektrochemisch actieve micro-organismen in een microbiële brandstofcel) [Katz, 2003] [Rabaey *et al.*, 2005c]**

### 3.2.1 Microbiële brandstofgasgeneratie

Bij microbiële brandstofgeneratie wordt in wezen een gewone chemische brandstofcel op hoge temperatuur gebruikt die een substraat zoals H<sub>2</sub>-gas, methaan of ethanol verbruikt, maar dit substraat is van biologische afkomst en wordt gegenereerd in een aparte eenheid. Waterstofgas (H<sub>2</sub>) wordt biologisch op twee verschillende manieren gegenereerd. Allereerst is er de licht gedreven H<sub>2</sub>-vorming met behulp van reversibele hydrogenasen (groene algen [Greenbaum, 1988]) of met behulp van het nitrogenasesysteem, zoals bij fotosynthetiserende bacteriën het geval is [Tamagnini *et al.*, 2002]. Het hydrogenasesysteem is erg zuurstofgevoelig en werkt bijgevolg enkel onder erg lage O<sub>2</sub>-partieeldrukken. Anderzijds kan H<sub>2</sub> ook gegenereerd worden via de zogenaamde donkere fermentatie. Deze heterotrofe fermentatie verbruikt organisch materiaal en haalt er de chemische energie uit met vorming van waterstofgas. Een grote variëteit aan micro-organismen, gaande van strikt anaëroben, facultatief anaëroben tot aëroben onder anoxische condities, bedienen zich van een breed spectrum substraten. Theoretisch gezien kunnen er 12 mol H<sub>2</sub> gevormd worden uit 1 mol hexose als er na deze donkere fermentatie (1) ook een ftoheterotrofe stap volgt (2). Dit is weliswaar thermodynamisch gezien ongunstig ( $\Delta G_0' > 0 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).



Tot op heden is het best bekomen biologische resultaat voor donkere fermentatie 2,5 mol H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> hexose bij een concentratie van 7,5 g CZV L<sup>-1</sup> en een pH van 5,5 [Van Ginkel *et al.*, 2001]. Woodward *et al.* [2000] bewaamen op enzymatische wijze een productie van 11,6 mol H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> glucose-6-fosfaat door koppeling van de enzymen van de oxidatieve pentose fosfaat cyclus aan de hydrogenase, gezuiverd van *Pyrococcus furiosus*. Dit is één van de weinige hydrogenasen die NADP gebruiken als elektroncarrier. Op dit moment is de levensduur van enzymatische biobrandstofcellen beperkt tot enkele dagen.

### 3.2.2 Microbiële fermentatieproducten als reductanten

Bacteriën kunnen ook fermentatieproducten uitscheiden die vanzelf oxideren aan de elektrode. Zowel H<sub>2</sub>, acetaat, formiaat, lactaat als H<sub>2</sub>S [Cooney *et al.*, 1996] werden gerapporteerd te oxideren aan de elektrode. Wel zijn katalysatoren zoals platina (Pt) vereist om deze oxidatie spontaan te laten verlopen. Door H<sub>2</sub>-productie te combineren met oxidatie aan de elektrode, bewaamen Schröder *et al.* [2003] een stroomdensiteit van 1,5 mA cm<sup>-2</sup>.

### 3.2.3 Microbiële brandstofcellen (MBC)

Een microbiële brandstofcel is een structuur bestaande uit twee compartimenten verdeeld door een kation-specifiek uitwisselingsmembraan. De beschikbare elektrondonoren worden door het katalyserende metabolisme van de bacteriën, al dan niet direct, ontladen aan de anode waarna de elektronen stromen naar de kathode waar ze het oxidant reduceren (Fig. I.8).

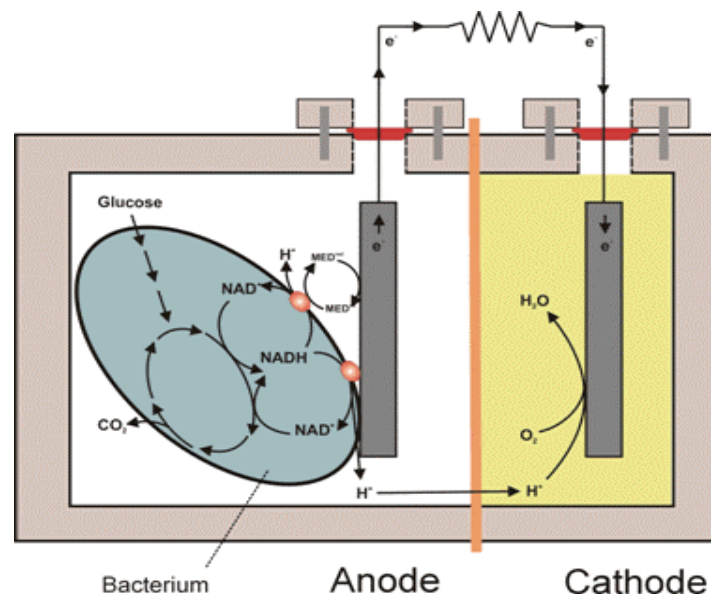


Fig. I.8 Schematische voorstelling van de werking van een microbiële brandstofcel [Rabaey *et al.*, 2005e]



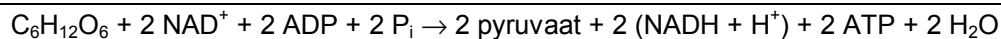
## 4 Microbiële brandstofcellen: *state-of-the-art*

### 4.1 *Metabolisme in het anodecompartiment* [Vandamme, 2002 en 2003][Schlegel, 1981]

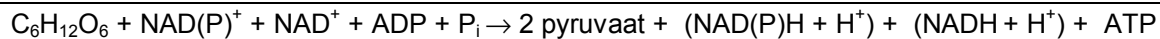
In de anode zijn enkel de anodisch elektrode en elektronacceptoren met een lage redoxpotentiaal aanwezig. Als de elektrode een hogere potentiaal heeft dan andere elektronacceptoren, dan zullen bacteriën deze gebruiken aangezien dit hen meer energie oplevert. Energetische substraten worden gemetaboliseerd en de energie wordt vervoerd in adenosine trifosfaat (ATP). ATP kan op twee manieren verkregen worden in anaërobe omstandigheden: via substraatfosforylatie en via de elektronentransportketen. In aërobe omstandigheden kan biochemisch maximaal 38 mol ATP gegenereerd worden uit 1 mol glucose, waar dit er bij strikt anaërobe omstandigheden minstens één en maximaal vier kunnen zijn. Onder intermediaire omstandigheden wordt er een intermediaire hoeveelheid ATP gevormd.

#### a Substraatfosforylatie

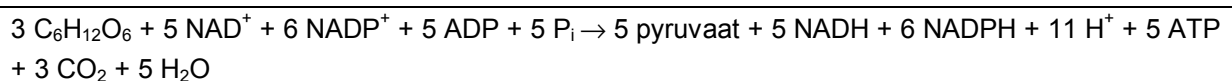
Een belangrijke stap is de vorming van pyruvaat uit suiker. Er kunnen drie afbraakwegen vooropgesteld worden. Allereerst is er de glycolyse of de Embden-Meyerhof-Parnas pathway (EMP):



Een tweede mogelijkheid, die nooit samen voorkomt met de eerste, is de Entner-Doudoroff pathway (ED):



Tenslotte is er een derde mogelijkheid, de pentose fosfaatcyclus (PPC). Ze kan samen met één van de voorgaande pathways voorkomen, maar ze is voor sommige species de enige pathway om ATP te genereren (bv. *Thiobacillus*).

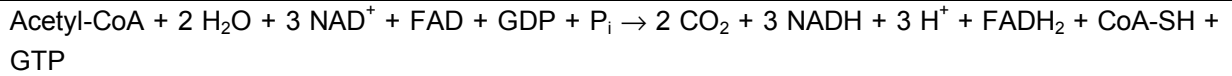


Pyruvaat zal dan gereduceerd worden door  $\text{NADH}_2$  met vorming van en  $\text{NAD}^+$ , ofwel kan pyruvaat dan verder oxideren met vorming van acetyl-co-enzyme A via drie mogelijke reacties:

1.  $\text{pyruvaat} + \text{CoA-SH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{acetyl-CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$   
(bij alle aërobe organismen; gekatalyseerd door pyruvaat-dehydrogenase)
2.  $\text{pyruvaat} + \text{CoA-SH} + 2 \text{Fd} \rightarrow \text{acetyl-CoA} + 2 \text{FdH} + \text{CO}_2$   
(bij vele strikt anaërobe organismen; gekatalyseerd door pyruvaat:ferredoxine-oxidoreductase)
3.  $\text{pyruvaat} + \text{CoA-SH} \rightarrow \text{acetyl-CoA} + \text{formiaat}$   
(bij anaërobe organismen die formiaat vormen; gekatalyseerd door pyruvaat:formiaat-lyase)

Acetyl-CoA kan nu in de Krebscyclus verbruikt worden met generatie van energetische carriers die kunnen omgezet worden in ATP als er een elektronacceptor aanwezig is die een stuk van de

elektronentransportketen mogelijk maakt. Zo is een elektrode een voorbeeld in het geval van een microbiële brandstofcel. Globaal geeft de Krebscyclus:



Als de omstandigheden zo gereduceerd zijn dat NADH niet geoxideerd kan worden in de elektronentransportketen, dan wordt pyruvaat niet verder geoxideerd maar gereduceerd wat resulteert in een lage ATP-opbrengst: nl. 1-2 ATP per mol glucose. Er is immers een uitzondering voor organismen die H<sub>2</sub> kunnen produceren. Zij kunnen pyruvaat dan wel oxideren met vorming van acetyl-CoA en NADH, FdH of formiaat. Via de enzymen fosfotransacetylase en acetaat-kinase kan dan 1 mol acetaat en 1 extra mol ATP per mol acetyl-CoA geproduceerd worden, wat globaal neerkomt op maximaal vier mol ATP per mol glucose in strikt gereduceerde omstandigheden. Voorwaarde is wel dat NADH, FdH of formiaat moet wegreageren om de voorgaande reacties thermodynamisch gunstig te laten verlopen. Om reactie a. thermodynamisch mogelijk te maken in combinatie met reactie b., moet de H<sub>2</sub>-partieeldruk voldoende laag zijn.

- a.  $\text{NADH}_2 + 2 \text{Fd} \rightarrow \text{NAD}^+ + 2 \text{FdH}$   
(bij  $E'_0 = -0,320 \text{ V}$  door NADH<sub>2</sub>:ferredoxine-oxido-reductase)
- b.  $\text{FdH} \rightarrow 2 \text{Fd} + \text{H}_2$   
(bij  $E'_0 = -0,420 \text{ V}$  door de ferredoxine-H<sub>2</sub>-oxidoreductase)
- c.  $\text{Formiaat} \rightarrow \text{H}_2 + \text{CO}_2$   
(door formiaat-H<sub>2</sub>-lysase)

Het volledige voedselweb van de anaërobe vergisting wordt weergegeven in Fig. I.9.

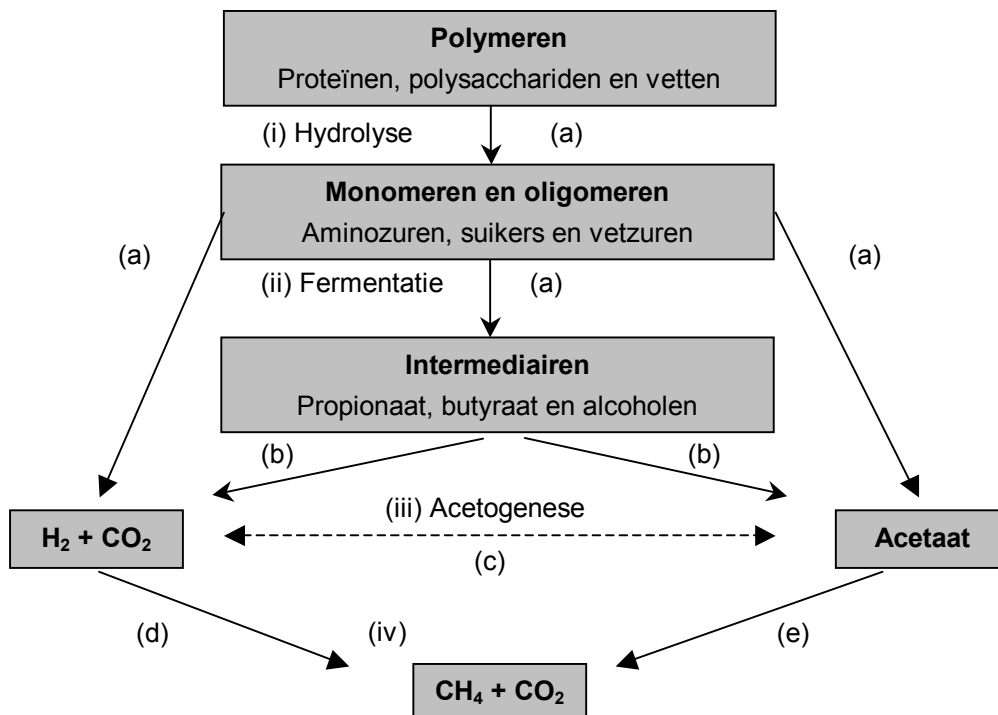
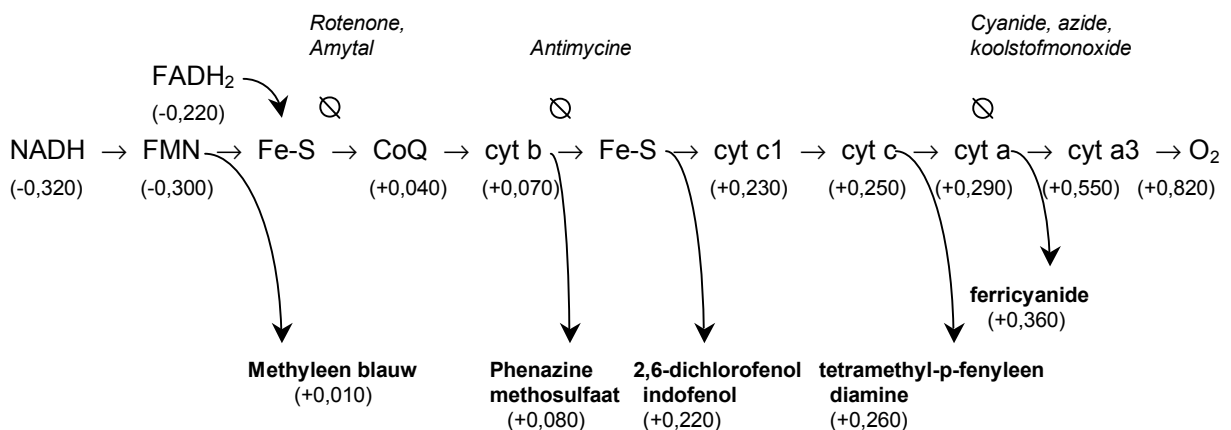


Fig. I.9 Overzicht van het voedselweb van de anaërobe associatie [Angenent *et al.*, 2004]

Complexe organische polymeren worden gehydrolyseerd tot monomeren door een breed spectrum aan bacteriën (a), waarna ze deze monomeren fermenteren tot laag moleculaire organische zuren en alcoholen. Deze worden dan verder geoxideerd tot azijnzuur, CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub> door obligaat waterstofproducerende acetogene bacteriën (b). Dit proces wordt acetogenese genoemd. Acetogenese slaat ook op het proces waarbij acetaat gevormd wordt uit waterstof en koolstofdioxide door acetogenen en homoacetogenen (c). Waterstofproducerende acetogene bacteriën (b) leven in een nauw syntrofische associatie met hydrogenotrofe methanogenen (d), die de waterstofpartieeldruk laag genoeg houden om acetogenese thermodynamisch mogelijk te maken. Tot slot zijn er de acetoclastische methanogenen (e) die methaan en koolstofdioxide produceren uit acetaat. Ongeveer 70 % van alle natuurlijke en artificiële systemen volgen de acetoclastische methanogenese. De methanogenese verloopt enkel strikt anaëroob (- 0,250 V tot - 0,340 V SHE). Bij systemen onder stress of in thermofiele systemen wordt een andere pathway gevolgd: syntrofe oxidatie van acetaat tot koolstofdioxide en waterstof door acetogenen of homoacetogenen wordt gekoppeld aan waterstofconsumptie door hydrogenotrofe methanogenen, waarbij een lage H<sub>2</sub>-partieeldruk noodzakelijk is om thermodynamisch gunstige condities te creëren [Angenent *et al.*, 2004].

## b De elektronentransportketen

Via een keten van transportcomplexen (carriers) worden elektronen doorgegeven aan carriers met een hogere redoxpotentiaal. Hierbij worden protonen uitgescheiden die door het concentratieverschil potentiële energie vormen. Het protonengradiënt, *de proton-motive force*, is onder andere verantwoordelijk voor permeasewerking, flagellabeweging en ATP-vorming. ATP-vorming ontstaat door het membraangebonden enzym ATP-synthase. NADH en FADH<sub>2</sub> worden verkregen uit substraatfosforylatie, vetzuuroxidatie of aminozuuroxidatie.



**Fig. I.10 Een illustratie van een totale elektronentransportketen van een eukaryoot met zuurstof als finale elektronacceptor, met inhibitoren (cursief) en enkele artificiële elektronacceptoren; de potentialen worden uitgedrukt ten opzichte van SHE [Vandamme, 2002]**

Onder gereduceerde omstandigheden zal de lengte van de bruikbare elektronentransportketen afhangen van de redoxpotentiaal van de finale elektronacceptor. Hoe korter deze keten, hoe minder ATP er kan gegenereerd worden en hoe lager de groeisnelheid van de bacteriën. Indien de omstandigheden te gereduceerd zijn, dan kan geen gebruik gemaakt worden van de

elektronentransportketen, en moet alle NADH via de fermentatieve pathways geregenereerd worden (cfr. supra).

Onderzoek met inhibitoren kan aan het licht brengen welke enzymen in de elektronentransportketen gebruikt worden door bacteriën in een microbiële brandstofcel. Azide en cyanide interfereren niet met de elektronenflow naar de elektrode, maar inhiberen wel de denitrificatie en de aërobe respiratie, wat belangrijk is voor respectievelijk nitraatrijke influenten en zuurstof die naar binnen diffunderen. [Chang *et al.*, 2005].

Kim B.H. *et al.* [2004] vonden dat de stroom in een microbiële brandstofcel geïnhibeerd werd door verschillende metabolische inhibitoren en door elektron-acceptoren met een hoge redoxpotentiaal. Zo inhibeerden HQNO en rotenone de NADH-reductase en p-CMPS inhibeerde het ijzer/zwavel eiwit. Antimycin A (0,12 mM) en azide (1,2 mM) hadden geen effect. Dit toont aan dat NAD, ijzer/zwavel eiwitten en quinonen betrokken zijn in de elektronentransportketen en dat de terminale oxidase dat niet is.

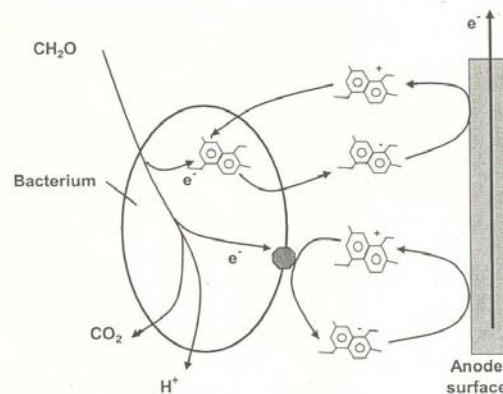
#### 4.2 Elektronenoverdracht op de elektrode

Bacteriën zetten de aangebrachte substraten om in energetische intermediären zoals NADH ( $E'_0 = -0,320$  V SHE), gereduceerd ferredoxine ( $FdH_2$ ) ( $E'_0 = -0,420$  V SHE) of gereduceerd flavine adenine dinucleotide ( $FADH_2$ ) ( $E'_0 = -0,220$  V SHE). Alleen kunnen deze niet door het impermeabel celmembraan migreren aangezien deze een potentiaal moet onderhouden noodzakelijk voor ATP-generatie [Thauer *et al.*, 1977]. Toch rapporteerden Park *et al.* [2003] dat extracytoplasmatisch NAD mogelijk is.

Tot op heden zijn verschillende manieren gekend waarop bacteriën hun elektronen afstaan aan een elektrode. Enerzijds kunnen ze hun elektronen afgeven aan een mediator, als die voorhanden is in de biofilm, die resoneert tussen gereduceerde en geoxideerde toestand. De ontleding gebeurt rechtstreeks aan de elektrode en reductie kan zowel inwendig plaatsgrijpen als ter hoogte van proteïnen op de celwand [Hernandez en Newman, 2001]. Deze mediators kunnen extern toegediend worden of door de microbiële gemeenschap zelf geproduceerd worden, zoals de molecule pyocyanine, een product van *Pseudomonas aeruginosa* [Rabaey *et al.*, 2004], waarbij ook eventuele andere species hiervan kunnen gebruik maken die de mediator niet zelf produceren [Rabaey *et al.*, 2005a]. Ook werd geopperd dat uitgescheiden quinonen, zoals aangetroffen bij *Shewanella putrefaciens* [Newman en Kolter, 2000] een belangrijke rol spelen in de extracellulaire elektrontransfers. Hierbij kan de bacterie vastgehecht zijn aan de elektrode, alhoewel dit niet noodzakelijk is. Tijdelijke vasthechting werd al gerapporteerd door Childers *et al.* [2003]. Het extern toedienen van mediators in het anode-compartiment bij microbiële brandstofcellen veroorzaakt doorgaans toxiciteitsproblemen omwille van eventuele fenolische componenten en het verhoogt de werkingskosten, zeker aangezien mediators degenereren [Gil *et al.*, 2003]. Gebruikte voorbeelden zijn: kaliumhexacyanoferraat ( $K_3Fe(CN)_6$ ), anthraquinon 2,6-disulfonzuur (AQDS is een humuszuur), cobalt sepulchraat, thionine, 2-hydroxy-1,4-naphtaquinon, neutraal rood en azure A [Bond *et al.*, 2003] [Choi *et al.*, 2001] [Park *et al.*, 2000] [Allen en Bennetto, 1993] Lovley *et al.* [1996] wezen op het belang van humuszuren als elektronshuttelende moleculen in sedimenten. Het is niet ondenkbaar dat deze bij afvalwater een belangrijke mediërende rol spelen in microbiële brandstofcellen, zeker

aangezien ze over een range van - 0,300 V SHE tot + 0,400 V SHE actief kunnen zijn [Kappler *et al.*, 2004]. Reimers *et al.* [2001] wezen ook op het potentieel belang van componenten zoals zwavel/sulfide en Fe(II)/Fe(III).

Anderzijds kunnen ze hun elektronen ook rechtstreeks afgeven als ze beschikken over aangepaste componenten van de elektronentransportketen in de celwand, zoals *Shewanella putrefaciens* [Kim *et al.*, 1999]. Ook kan de elektrode gewijzigd worden met incorporatie van een mediator, zoals  $Mn^{4+}$  of neutraal rood, waarbij Park *et al.* [2002] [2003] tot drie maal meer stroom konden genereren met *Shewanella putrefaciens* dan zonder het gebruik van een met  $Mn^{4+}$  gewijzigde elektrode in de anode. Alhoewel een groot aantal redoxeiwitten elektrochemisch actief zijn, verhindert een peptideketen de transfer van elektronen van de redoxeiwitten naar de elektrode toe. Modificaties van het eiwit of het elektrode-oppervlak kunnen de snelheid van elektrochemische reacties verhogen [Uosaki en Hill, 1981]. Ook van *Geobacter sulfurreducens* wordt gesteld dat het vastgehecht op de elektrode leeft, die als elektronacceptor dienstdoet. Dit species kan ijzer als finale acceptor gebruiken met behulp van een c-type cytochroom, een onderdeel van het membraangebonden Fe(III)-reductase complex. Analyse van dit enzyme leverde een redoxpotentiaal van ongeveer - 0,190 V SHE op. Dit is mogelijks het actieve enzyme dat elektronen aan de elektrode afgeeft, aangezien de geschatte potentiaal van de bacteriën ter hoogte van de elektrode - 0,107 V SHE bleek [Bond en Lovley, 2003].



**Fig. I.11 Mediatoren worden opgenomen in de cel of geoxideerd ter hoogte van membraangebonden complexen [Rabaey *et al.*, 2005c]**

Platina-gecoat grafiet leverde tot 50 % meer stroom dan een gewone grafitelektrode bij een membraanloze opstelling [Jang *et al.*, 2004]. Platina fungeert immers als katalysator waardoor de overpotentialen verminderd worden. Niessen *et al.* [2004a] rapporteerden oxidatie van complexe carbohydrates aan anodes gecoat met 2,3,5,6-tetrafluoroaniline. Het gebruik van 2-fluoroaniline en 2,3,5,6-tetrafluoroaniline beschermt het platina beter tegen vergiftiging door metabolische bijproducten en biodegradatie [Niessen *et al.*, 2004b]. Sommige fermentatieproducten, zoals  $H_2S$  [Cooney *et al.*, 1996] en  $H_2$ , kunnen oxideren aan de elektrode (zie 3.2.2) als katalysatoren voorzien zijn. Deze fermentatieproducten kunnen dan ook aanzien worden als mediatoren, die weliswaar niet hergebruikt worden.

### 4.3 Samenstelling van de microbiële gemeenschap

DNA-metingen van Kim B.H. *et al.* [2004] suggereren een biomassa concentratie van  $6,34 \pm 0,6 \times 10^{11}$  bacteriën  $g^{-1}$  elektrode terwijl uitplatingen resulteerden in  $3,5 \pm 0,5 \times 10^7$  CFU  $g^{-1}$  elektrode ( $332 \text{ mm}^2 g^{-1}$  elektrode). De biomassa op de elektroden, die een jaar lang aangerijkt werd, bleek actief, maar scheen niet te groeien. Het bleken allemaal gewone staaf- of kokkenvormige bacteriën te zijn. Bond *et al.* [2003] bekwamen  $0,047 \pm 0,027$  mg biomassa  $cm^{-2}$  na 4 weken. Rabaey *et al.* [2003] bekwamen in batchtesten een biomassa-aangroei van  $0,07 - 0,22$  g biomassa  $g^{-1}$  substraat.

16S rDNA analyse van Kim *et al.* [2004] wees uit dat de gemeenschap bestond uit  $\alpha$ -Proteobacteriën,  $\beta$ -Proteobacteriën, Firmicutes en Planctomyces. Dit verschilt met de studie van Bond *et al.* [2002] die tot de conclusie kwam dat vooral  $\delta$ -Proteobacteriën (voornamelijk van het genus *Desulfuromonas*) verantwoordelijk waren voor de elektrische stroom. Bond werkte weliswaar met een marien sediment waardoor het verschil van elektron donor en de zoutconcentratie het verschil kan verklaren. Phung *et al.* [2004] bekwamen dat het in meer dan 80 % van de gevallen Proteobacteriën betrof.  $\beta$ -Proteobacteriën waren dominant bij reactoren gevoed met rivierwater en in reactoren gevoed met artificieel afvalwater waren  $\alpha$ -Proteobacteriën dominant.  $\gamma$ -Proteobacteriën en Bacteroides kwamen ook in beiden soorten reactoren voor.  $\delta$ -Proteobacteriën, Acidobacteriën, Verrucomicrobia en Chloroflexi kwamen enkel voor in het eerste geval. Actinobacteriën werden enkel in het tweede geval aangetroffen.

### 4.4 Operationele parameters

#### 4.4.1 Het substraat

Taguchi *et al.* [1992] rapporteerden elektriciteitsproductie bij species van het genus *Clostridia* uit lactaat, monosachariden zoals glucose, disachariden zoals sucrose, en zetmeel. In batchtesten is de coulometrische omzetting van glucose niet het probleem volgens Rabaey *et al.* [2003]. Een maximale verwijderingsnelheid in deze opstelling werd bekomen bij een volumetrische belasting van  $2,5 \text{ g l}^{-1} \text{ NAC d}^{-1}$ . Daarboven verschoof het metabolisme wellicht naar fermentatie, aangezien boterzuur dan sterk accumuleerde. Ook ahornsiroop en synthetisch afvalwater konden succesvol omgezet worden, met coulometrische efficiënties van 56 % en energetische efficiënties tot 26 % [Rabaey *et al.*, 2005d].

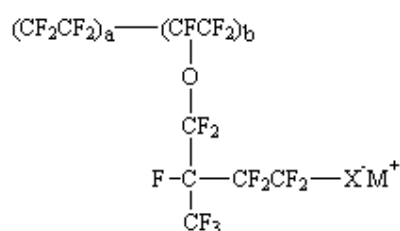
Bond *et al.* [2002] toonden aan dat 82 % van het toegediende acetaat coulometrisch kon omgezet worden in stroom door *Desulfuromonas acetoxidans*. Als aangenomen wordt dat er ook een deel acetaat dient voor de celbiosynthese, toont dit aan dat een bacterie kan overleven door acetaatoxidatie in nauwe associatie met een elektrode als enige elektronacceptor. In latere testen werd 97 % efficiëntie bekomen met *Geobacter sulfurreducens*, waarvan geweten is dat ze direct elektronen kunnen overdragen op onoplosbare elektronacceptoren.

Bond *et al.* [2003] stelden vast dat een reactor die eerst werkte op acetaat, later kon werken op de oxidatie van fumarate tot succinaat. Ook pyruvaat, formaat [Kim *et al.*, 1999], benzoaat [Bond *et al.*,

2002], waterstof [Bond *et al.*, 2003] ruw afvalwater [Liu *et al.*, 2004b] en boterzuur [Liu *et al.*, 2005a] werden reeds succesvol als elektrondonor toegediend.

#### 4.4.2 Het uitwisselingsmembraan

Net zoals in chemische brandstofcellen, wordt doorgaans gebruik gemaakt van een ionuitwisselingsmembraan. Zo zullen positieve ladingen migreren van de anode naar de kathode. De “*industry standard*” is Nafion (Dupont), het betreft meestal een gesulfoneerde fluoropolymeer, waarbij de watermoleculen clusteren rond de hydrofiële zone, die positieve ladingen zwak weerhoudt, waardoor ladingtransport mogelijk is. Het is hoog selectief voor protonen en heeft daardoor een lage weerstand, maar de sulfongroepen kunnen het ammonium binden uit de bacteriële oplossing en ze zijn dan ook weinig stabiel en gaan dus niet lang mee.



**Fig. I.12 Schematisch overzicht van een Nafion® geperfluorineerd ionomeer (X<sup>-</sup>: bijvoorbeeld SO<sub>3</sub><sup>-</sup> en M<sup>+</sup>: bijvoorbeeld H<sup>+</sup>)**

Ook bestaan er meer algemene kationuitwisselingsmembranen, zoals Ultrex® die minder selectief zijn en een hogere inwendige weerstand impliceren, maar ze zijn wel stabiel en gaan dus langer mee [Rabaey *et al.*, 2005c]. Park *et al.* [2003] implementeerden in plaats van een uitwisselingsmembraan een 2 mm dikke porceleinen septum gemaakt uit 100 % kaolin. Liu *et al.* [2004a] vervingen het membraan door een rigide carbonelektrode die zowel de functie van separator als van open-lucht-kathode had. Een nadeel van uitwisselingsmembranen is dat er zuurstof door migreert. Een belangrijke parameter zou de waterinhoud van het membraan zijn: Basura *et al.* [1998] bepaalden de waterinhoud van Nafion 117 en BAM3G 407 en bekwamen een respectievelijke waterinhoud van 19 en 87 %. De diffusiviteit van zuurstof door Nafion 117 was tot vier maal hoger dan bij BAM3G 407.

Jang *et al.* (2004) werkten een microbiële brandstofcel uit zonder uitwisselingsmembraan voor het behandelen van kunstmatig afvalwater om geen limitatie van protontransfer te krijgen en omwille van de kostprijs van dergelijke membranen voor het gebruik op grote schaal. De elektroden staan best zo dicht mogelijk bij elkaar om de interne weerstand te minimaliseren. De optimale externe weerstand in een membraanloze microbiële brandstofcel lag in dit geval in de range 100 tot 200 Ω. Een hogere stroom werd verkregen door toevoeging van NaCl aan het kathode-compartiment aangezien het de massatransfer van geladen deeltjes bevorderde. Ook het toevoegen van HCl aan het kathodecompartiment deed de stroom stijgen aangezien het protonenlimitatie verhinderde [Jang *et al.*, 2004]. Liu en Logan [2004a] lieten dit membraan ook achterwege en gebruikten carbonpapier als separator. Deze vorm van afscheiding veroorzaakte ongewilde groei in de kathode en inhibitie van de katalysatoren in de kathode. Ook zijn er geen data beschikbaar over de stabiliteit van dergelijk carbonpapier in microbiële brandstofcellen.

#### 4.4.3 Het design van de continue reactor

Voor een goede overdracht van substraat, protonenuitwisseling en reductie van de finale elektronreceptor kan diffusie niet volstaan. Turbulentie is daarom vereist, wat de werkingskosten doet oplopen. De anode kan bijvoorbeeld gevuld worden met grafietkorrels zodat snelheidsgradiënten optreden en ook recirculatie of het schudden van reactoren kan dit bewerkstelligen. Deze grafietkorrels doen het gekoloniseerd oppervlak stijgen en vermijden al te hoge ladingsdichtheden die concentratiepolarisatie tot gevolg zouden kunnen hebben [Rabaey, 2005c]. Het design moet een goede doorstroming toelaten, doch veel onderzoek is nog vereist, aangezien men zich tot nu toe vooral focuste op het begrijpen van de microbiologische processen. Park en Zeikus [2003] haalden quasi gelijke resultaten met een ééncellige brandstofcel, weliswaar met gemodificeerde elektroden. Ook Liu en Logan [2004a] [2005a] en Jang *et al.* [2004] voerden testen uit in ééncellige brandstofcellen (cfr. supra). Ook de hydraulische verblijftijd is van belang. Liu *et al.* [2004b] toonden aan dat in hun specifieke opstelling het vermogen proportioneel steeg met de hydraulische verblijftijd in de range 3 tot 33 uur.

#### 4.4.4 De werking van het kathodecompartiment

Er zijn momenteel slechts twee methoden bruikbaar voor een effectief werkende kathode. Allereerst is er het gebruik van een grafietelektrode in combinatie met 50 mM kaliumhexacyanoferraat ( $K_3Fe(CN)_6$ ; + 0,360 V SHE) [Park en Zeikus, 2000] Het kaliumhexacyanoferraat wordt gereduceerd en vooralsnog is hergebruik niet mogelijk, wat geen grootschalige toepassingen impliceert, gezien de kostprijs ervan (25 EUR  $kg^{-1}$ ). Het is momenteel de manier waarop de hoogste stroomproducties gerealiseerd kunnen worden al is de theoretische energieopbrengst hoger met elektroden die zuurstof reduceren. Een andere manier is dus het gebruik van een gemodificeerde elektrode. De overpotentialen aan een grafietelektrode zijn dermate groot dat directe reductie van  $O_2$  tot  $H_2O$  (+ 0,820 V SHE) zich niet voltrekt. Er zijn verschillende modificaties mogelijk. Allereerst kan de elektrode gecoat worden met een katalysator zoals platina tot 45 % w/w [Schröder *et al.*, 2003]. De geproduceerde stroom is proportioneel met het oppervlak van de kathode en de hoeveelheid opgeloste zuurstof [Oh *et al.*, 2004]. Toch stellen Liu *et al.* [2004b] dat geforceerde beluchting de stroomoutput veeleer deed dalen ten opzichte van passieve beluchting. Volgens Gil *et al.* [2003] bleek geforceerde aëratie dan weer noodzakelijk om alle protonen die door het membraan migreerden te reduceren, aangezien de hoeveelheid opgeloste zuurstof te laag was als er niet geëereerd werd. Katalysatoren zijn vooralsnog te duur voor operationeel gebruik [21 EUR  $g^{-1}$  beursprijs 9 maart 2005]. Park en Zeikus [2003] creëerden een kathodische elektrode die ijzer bevatte dat gereduceerd werd door de microbiële brandstofcel en daarna oxideerde door zuurstof uit de omgeving. In combinatie met een anodische elektrode met  $Mn^{4+}$  leverde dit circa 14 mA stroom ( $\Delta V = 0,450$  V). Ook enzymen kunnen geïmmobiliseerd worden op de kathodische elektrode (zie 3.1).

#### 4.4.5 Het effect van de pH

De optimale pH zou 7 bedragen volgens Gil *et al.* [2003], en deze werd in het betreffende geval zo constant mogelijk gehouden met behulp van een buffer, zowel in het anode- als het kathodecompartiment. Een fosfaatbuffer van 100 mM bleek de stroomproductie langer constant te houden dan een buffer van 50 mM. Onder pH 6 en boven pH 9 was de microbiële activiteit lager.



Een waarde boven pH 9 zou een slechte protonentransfer teweegbrengen, aangezien zo de gradiënt naar de kathode toe teniet gedaan wordt.

#### 4.4.6 Het effect van de temperatuur

Er is tot op heden weinig of geen onderzoek gebeurd naar het effect van de temperatuur. Labotesten gebeurden doorgaans op 25 °C. Een hogere temperatuur impliceert een sneller metabolisme dus een hogere stroomproductie. Bovendien werkt de microbiële brandstofcel als geheel beter bij een hogere temperatuur, door een verbeterde elektrodenkinetiek, een hogere diffusie in het elektrolyet en een verlaagde weerstand van het membraan.

## Hoofdstuk 2

# Bestaande technieken voor afvalwaterzuivering

Wil de microbiële brandstofcel concurreren op de markt van de afvalwaterzuivering, dan zal de technologie moeten beschikken over competitieve voordelen en betrouwbaar zijn tegen een verantwoorde prijs.

In de periode 1992-2001 verbruikten de circa 6 miljoen Vlamingen gemiddeld 800 miljoen m<sup>3</sup> water per jaar (huishoudelijk, industrieel, landbouw en veeteelt), wat neerkomt op ongeveer 360 L water IE<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Daarvan is 120 L water d<sup>-1</sup> huishoudelijk, waarvan slechts 7 L water d<sup>-1</sup> drinkbaar hoeft te zijn [Nationaal Instituut voor de Statistiek, 2005] [Van der Meeren, 2003]. Het overgrote deel van de waterconsumptie komt als afvalwater terug in de natuur.

Algemeen kunnen in iedere waterzuiveringsinstallatie één of meerdere subprocessen onderscheiden worden. In de primaire zuivering wordt met behulp van roosters, zandvang, vetvang en/of voorbezinking een mechanische voorbehandeling uitgevoerd om de installatie te beschermen. Via voorbezinking kan 50 tot 70 % van de zwevende stoffen, 25 tot 75 % van de bacteriën, 25 tot 40 % van BZV<sub>5</sub><sup>20</sup> en 10 tot 30 % van de CZV verwijderd worden. In de secundaire zuivering gaat men op biologische of fysisch-chemische wijze zwevende en opgeloste componenten verwijderen. Sommige afvalwaters vereisen nog een tertiaire zuiveringsstap vooraleer ze geloosd mogen worden. Het betreft hier dan technieken zoals zandfiltratie, actieve kool filtratie of *advanced oxidation processes* (AOP) met behulp van UV, ozon (O<sub>3</sub>) of waterstofperoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ook chloorgas (Cl<sub>2</sub>), javel (HOCl) en KMnO<sub>4</sub> zijn krachtige oxidantia. Microbiële brandstofcellen als afvalwaterzuiverende eenheden zouden zich kunnen focussen op secundaire zuivering aangezien de bacteriën vooral opgeloste componenten metaboliseren. De directe concurrenten voor microbiële brandstofcellen als waterzuiveringseenheden zijn fysisch-chemische waterzuivering, waterzuivering met behulp van actief slib en anaërobe vergisting.

## 1 Fysisch-chemische waterzuivering

Er kunnen twee technieken onderscheiden worden: coagulatie & flocculatie en membraantechnologie.

### 1.1 Coagulatie & flocculatie

Coagulatie initieert destabilisatie van de krachten die deeltjes van elkaar weghouden en flocculatie doet die gedestabiliseerde deeltjes uitgroeien tot grote aggregaten, vlokken genoemd. Coagulantia zijn vooral gebaseerd op meerwaardige kationen zoals aluminiumsulfaat of ijzer(III)chloride. Ook kunnen ze gebaseerd zijn op kationische hydrofiele polymeren, ook wel polyelektrolieten genaamd. Deze polyelektrolieten kunnen ook als flocculantia gebruikt worden en als slibconditioneringsmiddel. Door snelheidsgradiënten en pH-regeling wordt het neerslaan van de deeltjes geoptimaliseerd, waarna ze afgescheiden worden door middel van sedimentatie of filtratie. Op deze manier kan 50 tot 80 % van de BZV<sub>5</sub><sup>20</sup>, 80 tot 90 % van de zwevende stoffen en tot 90 % van de fosfaat verwijderd worden [Van der Meeren, 2003].

## 1.2 Membraantechnologie

Een membraan bepaalt de selectieve permeatie tussen twee vloeistoffen op basis van de deeltjesgrootte of door de chemische affiniteit voor het membraanmateriaal. Tabel 1.2 geeft een globaal overzicht van drukgedreven membraanprocessen.

**Tabel 1.2 Overzicht van drukgedreven membraanprocessen [Van der Meeren, 2003]**

	Poriëngrootte	Druk (bar)	Flux (L h <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> bar <sup>-1</sup> )	Mechanisme	Scheiding van
Microfiltratie	0,05 - 10 µm	0,1 - 2	> 50	Zeven	Deeltjes
Ultrafiltratie	1 - 50 nm	1 - 5	10 - 50	Zeven	Macromoleculen (10 - 100 kDa)
Nanofiltratie	± 1 nm	5 - 20	1 - 15	Zeven / exclusie	Organische verbindingen (200 - 1000 Da); zouten
Omgekeerde osmose	Niet poreus	10 - 100	0,05 - 1,5	Oploddiffusie	Organische verbindingen; zouten

## 1.3 Voor- en nadelen van de fysisch-chemische waterzuivering [Verstraete, 2003a] [Van der Meeren, 2003] [Baeyens et al., 1995]

Voordelen zijn:

- snel, eenvoudig en makkelijk te controleren
- ongevoelig voor toxiciteit
- de goedkoopste optie voor laag belaste afvalwaters

Nadelen zijn:

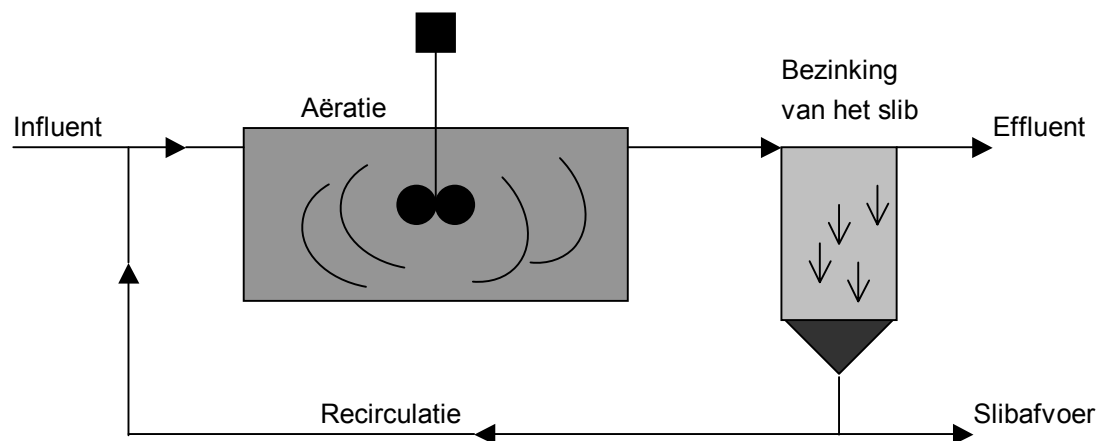
- het afval wordt niet afgebroken, louter geconcentreerd
- de hoeveelheid afval is groter dan de oorspronkelijke hoeveelheid wegens het toevoegen van chemicaliën
- de verwerking van het geproduceerde slib is duur: tot 650 EUR ton<sup>-1</sup> zwevende stoffen, en de slibbehandeling kan 20 tot 50 % van de totale kostprijs van de waterzuivering uitmaken
- er is geen energierecuperatie uit het afval
- membranen degenereren en verstopten (*fouling*) en zijn (vooral nog) duur in aankoop
- vaak is een hoge druk nodig bij membraanprocessen, wat een belangrijke energetische kost kan betekenen

## 2 Waterzuivering met actief slib [Verstraete, 2003a][Van der Meeren, 2003]

### 2.1 Het principe

Bij waterzuivering met behulp van actief slib wordt maximaal 90 % van de CZV en 97 % van de BZV<sub>5</sub><sup>20</sup> verwijderd in een sterk beluchte reactor door het oxidatief metabolisme van de micro-organismen. Daarna laat men het slib bezinken, waarvan men een stuk recirculeert naar de aërobie reactor (Fig. 1.13). Een typische volumetrische belasting is 1 g CZV L<sub>reactor</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. De hydraulische

verblijftijd varieert van 8 uur tot verschillende dagen. Er wordt ongeveer 0,4 g slib geproduceerd per gram CZV. Als het afval benaderend voorgesteld wordt als  $C_{10}H_{19}O_3N$  [McCarty, 1971] en de bacteriën zuurstof als finale elektronacceptor gebruiken, dan kunnen ze  $13,8 \text{ kJ g}^{-1}$  CZV of  $3,833 \text{ kWh kg}^{-1}$  CZV winnen uit hun metabolisme. Doorgaans moet tweemaal zoveel zuurstof ingebracht worden dan stochiometrisch noodzakelijk bij aëratie om voldoende afbraak te bekomen. Er wordt zo 1 kWh verbruikt per kg verwijderde CZV. De energiekostprijs voor de werking bedraagt ongeveer 5 EUR  $\text{IE}^{-1}$  jaar $^{-1}$  en de slibbehandelingskosten ongeveer 15 EUR  $\text{IE}^{-1}$  jaar $^{-1}$ . De totale kostprijs bedraagt ongeveer 100 EUR  $\text{IE}^{-1}$  jaar $^{-1}$ , investeringskosten voor de installatie, riolering en de werkingskosten inbegrepen. Een kostprijs van 0,50 - 0,70 EUR  $\text{m}^{-3}$  afvalwater kan vooropgesteld worden [Verstraete, 2003a].



**Fig. I.13 Schematisch overzicht van een actief slib installatie**

## 2.2 Voor- en nadelen van waterzuivering met actief slib [Verstraete, 2003a] [Van der Meeren, 2003] [Baeyens et al., 1995]

Voordelen zijn:

- er is een effectieve afbraak, in tegenstelling tot fysisch-chemische technieken
- de hoeveelheid slib is proportioneel kleiner dan bij fysisch-chemische technieken
- dit is aangewezen bij afvalwater met een hoge, biologisch afbreekbare fractie in gematigde klimaten

Nadelen zijn:

- de hoge energiekost voor aëratie en recirculatie
- de hoge oppervlakte nodig voor de sequentiële behandelingstappen
- de hoge investeringskost
- de hoge slibbehandelingskosten (cfr. supra)
- de onbetrouwbaarheid voor nitrificatie, fosforverwijdering en bezinking
- wekenlange herstelperiode na calamiteit

### 3 Anaërobe vergisting

#### 3.1 Het principe

Anaërobe vergisting grijpt plaats in een gereduceerde omgeving waar elektronenoverdracht op elektronacceptoren plaatsgrijpt met een lage redoxpotentiaal. Dit in tegenstelling tot elektronacceptoren zoals  $O_2$ ,  $NO_3^-$  en  $Fe_3^+$  die de bacteriën voorzien van een hogere energetische marge dan in anërobie omstandigheden. Deze lage winst voor bacteriën levert het hoog energetisch eindproduct methaan ( $CH_4$ ) als elektronensink samen met het laag energetische koolstofdioxide ( $CO_2$ ). Een volumetrische belasting van 5 tot 25 g CZV  $I_{reactor}^{-1} d^{-1}$  kan als normaal beschouwd worden [Vandevivere en Verstraete, 2001]. De hydraulische verblijftijd varieert sterk volgens het design, de belasting, de temperatuur en de werking van de vergistingreactor. Dit gaat van enkele uren tot enkele dagen. De verwijderingsefficiëntie is ook afhankelijk van bovenstaande parameters en kan doorgaans aangepast worden om vooropgestelde effluentconcentraties te bekomen [McInerney, 1999].

In deze omstandigheden met lage energiewinst zullen bacteriën in associaties werken om thermodynamisch niet gelimiteerd te worden. Bovendien zal de biomassa-groei minimaal zijn ( $Y = 0,04$  g biomassa  $g^{-1}$  substraat) [Verstraete, 2003a]. Er wordt bij vergisting van rioolafvalwater doorgaans gewerkt onder mesofiele omstandigheden omdat de afbraaksnelheid hoger is dan bij omgevingstemperatuur, de ontwateringeigenschappen van het slib beter zijn en er een betere destructie van pathogenen plaatsgrijpt ( $35 \pm 2$  °C) [Aiyuk, 2004]. Thermofiele vergisting zou een te hoge opwarmingskost impliceren in verhouding met het geleverde biogas (bij goede werking 70 %  $CH_4$  en 30 %  $CO_2$ ).

Methaan heeft een calorische waarde van  $35,8$  MJ  $Nm^{-3}$ . Gemiddeld wordt er voor biogas zo'n  $25$  MJ  $Nm^{-3}$  gerekend. Er wordt ongeveer 350 liter methaangas geproduceerd per kg verwijderde CZV. Dus  $0,35$   $Nm^3$   $CH_4$   $kg^{-1}$  CZV  $\times$   $35,8$  MJ  $Nm^{-3}$  =  $12,53$  MJ  $kg^{-1}$  CZV of  $3,48$  kWh  $kg^{-1}$  CZV.

Biogas wordt meestal gebruikt voor elektriciteits- of warmteproductie. Bij warmtekrachtkoppeling (WKK) wordt het biogas in een motor verbrand. Een generator die aan de motor gekoppeld is zorgt voor de elektriciteitsproductie. Een WKK kan van de oorspronkelijke energie van het biogas ongeveer 22 - 35 % in elektriciteit omzetten. Als er bovendien een energetische inhoud van het afval van  $3,833$  kWh  $kg^{-1}$  CZV aangenomen wordt, dan bedraagt de energetische efficiëntie van afvalomzetting in elektriciteit ongeveer 20 - 32 %. Als de reactor moet opgewarmd worden om de mesofiele species tot ontwikkeling te laten komen, dan ligt de efficiëntie een stuk lager.

#### 3.2 Voor- en nadelen van anaërobe vergisting [Baeyens et al., 1995] [Rabaey et al., 2005c] [McInerney, 1999]

Voordelen zijn:

- lage uitbatingkosten vergeleken met conventionele aërobe processen waarbij beluchting een grote energiekost is
- productie van biogas, vaak volstaat dit om het influent op te warmen
- lage productie van slib dat bovendien hygiënischer is dan aëroob slib
- lage N- en P-vereisten

- hoge belastingen zijn mogelijk waardoor de opstelling vaak compacter kan dan bij aërobe verwerking
- 'campagne'-werking is mogelijk, ook indien de reactor niet gevoed wordt gedurende lange tijd, blijft de slibactiviteit behouden

Nadelen zijn:

- optimale werkingstemperatuur is 37 °C (mesofiel), zodat opwarming vereist is in gematigde klimaatstreken
- langzame slibgroei met soms lange opstarttijd
- gevoelig voor hoge concentraties N, S en zout, alsook voor sommige chemicaliën zoals solventen, antibiotica en bepaalde detergenten
- verwijderingsefficiëntie is lager dan voor aërobe processen
- een geringe verwijdering van N en P
- risico op geurhinder (door H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, ...)
- lange retentietijd van de biomassa wat een groot reactorvolume impliceert

**Tabel I.3 Kosten anaërobe/aërobe versus aërobe behandeling (1 IE = 135 g COD), [Verstraete, 2003b]**

	Anaër/aër (EUR IE <sup>-1</sup> jaar <sup>-1</sup> )	Aëroob (EUR IE <sup>-1</sup> jr <sup>-1</sup> )
Kapitaal	10,2	12,2
Exploitatie		
◆ Aëratie	1	5
◆ Slibontwatering	0,4	2,6
◆ Slibafvoer	1,2	9,8
◆ Andere	5,6	5,6
Totaal	18,4	35,2
Biogas valorisatie	-3,6	

## 4 Competitieve situering van de microbiële brandstofcel

### 4.1 Voordelen inzake waterzuivering

#### 4.1.1 Energiewinning

Chemische energie vervat in organische molecules kan omgezet worden in elektrische stroom met behulp van een microbiële brandstofcel. In Tabel I.4 wordt een overzicht gegeven van de beste resultaten uit de literatuur die geen gebruik maakten van aangebrachte mediators.

**Tabel I.4 Een overzicht van de performantie van microbiële brandstofcellen met reinculturen en mengculturen zonder aangebrachte mediators [Rabaey en Verstraete, 2005e]**

	Substraat	Elektrode type	I (mA)	P (mW m <sup>-2</sup> )	P (W m <sup>-3</sup> )	Referentie	
<b>Reinculturen</b>							
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	Lactaat	Geweven grafiet	0,04	0,00032	0,08	Kim <i>et al.</i> [2002]
	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetaat	Glad grafiet	0,4	13	0,35	Bond en Lovley [2003]
	<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Glucose	Glad grafiet	0,2	8	0,25	Chaudhuri en Lovley [2003]
			Geweven grafiet	0,57	17	1,7	Chaudhuri en Lovley [2003]
			Schuimgrafiet	0,45	33	0,96	Chaudhuri en Lovley [2003]
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glucose	Glad grafiet	0,1	88	8,8	Rabaey <i>et al.</i> [2005a]
<b>Mengculturen</b>							
Batch	Glucose	Glad grafiet	30	3600	216	Rabaey <i>et al.</i> [2003]	
	Afvalwater	Geweven grafiet	0,2	8	1,6	Kim <i>et al.</i> [2004]	
	Afvalwater	Geweven grafiet	4,85	26	1,6	Liu en Logan [2004a]	
Continu	Glucose	Geweven grafiet	0,9	494	13	Liu en Logan [2004a]	
	Sucrose	Granulair grafiet	6,2	23	47	Rabaey <i>et al.</i> [2005d]	
	Glucose	Granulair grafiet	5,4	18	37	Rabaey <i>et al.</i> [2005d]	
	Acetaat	Carbon papier	1,27	506	13	Liu <i>et al.</i> [2005a]	
	Boterzuur	Carbon papier	0,46	305	7,6	Liu <i>et al.</i> [2005a]	
	Glucose	Granulair grafiet	30	32	66	Rabaey <i>et al.</i> [2005b]	
	Acetaat	Granulair grafiet	52	44	91	Rabaey <i>et al.</i> [2005b]	
	Afvalwater	Granulair grafiet	27	17	35	Rabaey <i>et al.</i> [2005b]	
	Afvalwater + acetaat	Granulair grafiet	29	28	57	Rabaey <i>et al.</i> [2005b]	

#### 4.1.2 Verwijdering van organisch materiaal

Vele publicaties bewezen de afbraak van organisch materiaal door micro-organismen die hun elektronen afgeven aan een elektrode. Inhibitie van deze micro-organismen verhinderde ook stroom. Enkele resultaten worden weergegeven in Tabel I.5.

**Tabel I.5 Een overzicht van de verwijderingsperformantie bij microbiële brandstofcellen (n.b. = data niet beschikbaar)**

Substraat	CZV- verwijdering (%)	Coulometrische efficiëntie (% op basis van de verwijderde CZV)	Coulometrische efficiëntie (% op basis van de toegevoegde CZV)	Hydraulische verblijftijd (h)	Referentie
Afvalwater	40	3	1,2	3	Liu <i>et al.</i> [2004b]
Afvalwater	80	12	9,6	33	Liu <i>et al.</i> [2004b]
Acetaat	n.b.	92	n.b.	n.b.	Bond <i>et al.</i> [2002]
Acetaat	100	97	97	± 120 h	Bond <i>et al.</i> [2003]

De hydraulische verblijftijd alsook de aard van het substraat bleek erg bepalend te zijn voor de performantie.

#### 4.1.3 Aëratie

Wanneer gewerkt wordt met platina-gecoate elektroden in het kathodecompartiment, dan volstaat het de elektrode vochtig te houden om de oxidatie te doen voltrekken. Hierbij is dus geen luchtpomp nodig zoals bij actief slib, een besparing van ongeveer 5 EUR IE<sup>-1</sup> jaar<sup>-1</sup> (cfr. supra).

#### 4.1.4 Slibproductie

Kim *et al.* [2004] suggereren ook dat behandeling van afvalwater met microbiële brandstofcellen, naast elektriciteitsproductie, ook de slibproductie significant kan doen slinken. De slibproductie zal omwille van de gereduceerde omstandigheden inderdaad veel lager zijn dan bij aërobe afbraak, aangezien de energiewinst voor de bacteriën veel lager is. Als er 60 % minder slib geproduceerd wordt, komt dit neer op een besparing van ongeveer 7 EUR IE<sup>-1</sup> jaar<sup>-1</sup> (cfr. supra).

#### 4.1.5 Afvalgassen

Verbrandingsprocessen die energiewinning of afvalreductie bewerkstelligen, emitteren hoge concentraties afvalgassen met potentieel nadelige effecten voor het milieu. Microbiële brandstofcellen produceren geen afvalgassen en dit resulteert in een dubbel ecologisch voordeel: geen extra emissies en geen energiekost om emissies te capteren en te verwerken.

## 4.2 Andere nuttige toepassingen van de microbiële brandstofcel

### 4.2.1 Online BZV-metingen

Microbiële brandstofcellen kunnen volgens Chang *et al.* [2004] als online BZV-meettoestellen gebruikt worden. De meting was lineair gecorreleerd met de stroomproductie in een gebied tot 100 mg BZV L<sup>-1</sup> en het duurde ongeveer een uur eer er een *steady-state* optrad. Ook kon een specifieke microbiële brandstofcel geïnoculeerd met *Shewanella putrefaciens* gebruikt worden als lactaatsensor.



#### 4.2.2 Online biosensors

Wanneer bacteriën blootgesteld worden aan toxische componenten dan zal de elektronenoverdracht lager zijn. Nuttige online-toepassingen die rivieren of rioolwaterzuiveringsinstallaties beschermen tegen toxische lozingsen zijn niet ondenkbaar [Chang *et al.*, 2005].

#### 4.2.3 Toepassingen in de elektronica

Het inplanten van enzymatische brandstofcellen voor pacemakers zou mogelijk zijn. De cel zou dan glucose uit het menselijk lichaam kunnen gebruiken voor de stroomopwekking [Mano *et al.*, 2002]. Ook zouden robots een constante stroomtoevoer kunnen krijgen, iets wat met fotovoltaïsche cellen niet mogelijk is [Kelly, 2003].

#### 4.2.4 Elektriciteit door fotosynthese

Rabaey *et al.* [2005d] toonden aan dat elektriciteit uit plantensap kon gehaald worden. Toepassingen waarbij een microbiële brandstofcel de fotosyntheseproducten van een plant omzet in elektriciteit en de plant daarna zijn mineralen teruggeeft, behoren tot de mogelijkheden.

#### 4.2.5 Elektriciteit uit sedimenten

Het potentiaalverschil tussen een gereduceerd sediment en de waterige fase erboven kan gebruikt worden om elektriciteit te produceren. Aan de anode zouden twee oxidaties van belang zijn: deze van organisch materiaal en van sulfide [Tender *et al.*, 2002].

## Hoofdstuk 3

### Doelstellingen

Het zuiveren van afvalwater is een belangrijk onderdeel om tot een duurzaam gebruik van de natuurlijke hulpbronnen te komen. Anaërobe vergisting is op dit moment de enige waterbehandelingstechniek die ook een energierecuperatie impliceert. In tegenstelling tot de vele sequentiële energieomzettingen die hierbij gepaard gaan, biedt een microbiële brandstof potentieel een interessanter alternatief aangezien enkel een omzetting van chemische naar elektrische energie noodzakelijk is. In dit eindwerk zullen de mogelijkheden voor energieproductie onderzocht worden bij ideale substraten zoals glucose en acetaat, maar ook met verschillende soorten afvalwater.

Microbiële brandstofcellen verkeren nog in een experimenteel stadium. De nieuwe reactor, die in dit eindwerk zal voorgesteld worden, is één van de eerste pogingen om naar realistische toepassingen te komen. Er zal onderzocht worden hoe goed de overdracht van elektronen van een substraat naar de elektrode verloopt en welke de omstandigheden zijn die noodzakelijk blijken om de bacteriën dit katalyserende metabolisme ten volle tot uiting te laten brengen. Er zal een sterke nadruk gelegd worden op de externe weerstand en de belasting.

Hierbij zal onderzocht worden welke de verliezen zijn die optreden en hoe het komt dat deze zich voordoen. Eventueel zullen oplossingen aangebracht worden om deze verliezen te minimaliseren.

Tenslotte zal een economische stand van zaken gegeven worden om te bepalen in welke mate microbiële brandstofcellen evolueren naar een leefbare technologie.

DEEL II

MATERIAAL EN METHODEN

# Hoofdstuk 1

## Uitgevoerde testen

### 1 De gebruikte substraten

#### 1.1 Glucose met een M9-oplossing

Een eerste test bestond erin zowel de weerstand als de belasting te laten variëren voor de reactoren met 0,21 L NAC. Oorspronkelijk werd de glucose in de M9-oplossing opgelost. Later werd de voeding met een spuit toegediend. In Tabel II.1 worden de combinaties weergegeven die getest werden. Het katholiet (50 mM  $K_3Fe(CN)_6$ , Merck) was gedurende deze testen steeds gebufferd rond pH = 7 met een fosfaatbuffer (100 mM) en 1 N NaOH.

**Tabel II.1** Overzicht van de geteste combinaties externe weerstand-belasting voor glucose met een M9-oplossing (x = slechts op 1 reactor getest; onderlijning = zonder spuit toegediend)

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
<b>100 Ω</b>		<u>x</u>		
<b>75 Ω</b>		<u>x</u>		
<b>50 Ω</b>	x	<u>x</u>	x	
<b>35 Ω</b>			x	
<b>25 Ω</b>	x	<u>x</u>	x	x
<b>20 Ω</b>				x
<b>10 Ω</b>		x		

De samenstelling van de M9-oplossing wordt weergegeven in Tabel II.2.

**Tabel II.2** Samenstelling van de M9-oplossing bij glucose

Component	Hoeveelheid L <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	6 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,245 g
NaCl	0,5 g
NH <sub>4</sub> Cl	1 g
CaCl <sub>2</sub>	14,6 mg
Sporenoplossing	0,5 mL

Later werd de hoeveelheid NH<sub>4</sub>Cl verminderd tot 0,191 g L<sup>-1</sup>. De samenstelling van de sporenoplossing wordt weergegeven in Tabel II.3.

Tabel II.3 De samenstelling van de gebruikte sporenplossing

Component	Hoeveelheid L <sup>-1</sup>
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1g
ZnCl <sub>2</sub>	70 mg
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	100 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6 mg
CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	130 mg
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2 mg
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	24 mg
Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	36 mg
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	238 mg

De geteste parameters en hun frequentie worden weergegeven in Tabel II.4.

Tabel II.4 Overzicht van de gemeten parameters en hun meetfrequentie

Parameter	Eenheid	Frequentie
Spanningsverschil	(ΔV)	1 min <sup>-1</sup>
Chemische zuurstofvraag influent	(mg CZV L <sup>-1</sup> )	± 1 week <sup>-1</sup>
Chemische zuurstofvraag effluent	(mg CZV L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Ammoniumconcentratie, influent & effluent	(mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Nitrietconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>
Nitratconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>
Fosfaatconcentratie, influent & effluent	(mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>
Sulfaatconcentratie, influent & effluent	(mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>
Vluchtige vetzuren, influent & effluent	(mg L <sup>-1</sup> )	± 1 week <sup>-1</sup>
Zuurtegraad, influent & effluent	(pH)	± 1 dag <sup>-1</sup>
Zuurtegraad katholiet	(pH)	± 3 week <sup>-1</sup>

## 1.2 Acetaat met een M9-oplossing

Een eerste test bestond erin zowel de weerstand als de belasting te laten variëren voor de reactoren met 0,21 L NAC en voor één reactor met 0,30 L NAC. Acetaat werd steeds toegediend met behulp van een spuit. De combinaties worden weergegeven in Tabel II.5. Toegepast voor de grote reactor (0,30 L NAC) was een meer geconcentreerde acetaatoplossing nodig om een gelijke belasting te bekomen als in het geval van de reactoren met 0,21 NAC. Gedurende de eerste vijf dagen werd nog een fosfaatbuffer (100 mM) toegediend aan het katholiet (50 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>), later werd dit weggelaten.

**Tabel II.5** Overzicht van de geteste combinaties externe weerstand-belasting voor acetaat met een M9-oplossing; 0,21 L NAC (x = slechts op 1 reactor getest)

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
<b>50 Ω</b>	x	x	
<b>25 Ω</b>	x	x	
<b>20 Ω</b>	x	x	x
<b>15 Ω</b>	x	x	x
<b>10 Ω</b>	x	x	x

**Tabel II.6** Overzicht van de geteste combinaties externe weerstand-belasting voor acetaat met een M9-oplossing; 0,30 L NAC (x = slechts op 1 reactor getest)

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
<b>100 Ω</b>		x		
<b>50 Ω</b>		x		
<b>20 Ω</b>	x	x	x	x
<b>15 Ω</b>		x	x	
<b>10 Ω</b>	x			x

De samenstelling van de M9-oplossing gebruikt bij deze testen was dezelfde als in Tabel II.2 met dit verschil dat de ammoniumconcentratie 0,191 g L<sup>-1</sup> bedroeg. De noodzaak van elk van deze componenten werd, al dan niet afzonderlijk, getest. In een eerste test werd ammoniumchloride eerst weggelaten, enkele dagen later werd ammoniumchloride dan toegediend aan 19,1 mg L<sup>-1</sup> waarna de gewone concentratie van 0,191 g L<sup>-1</sup> weer toegediend werd. In een laatste test werd er louter gedestilleerd water gebruikt als oplosmiddel voor het geconcentreerde acetaat. Later werd dan de 14,6 mg CaCl<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, 0,245 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup> en 0,191 g NH<sub>4</sub>Cl L<sup>-1</sup> toegediend. Een aantal uren later werd de sporenplossing (0,5 mL/L) en 0,5 g NaCl L<sup>-1</sup> toegediend. Tenslotte werd 6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup> en 3 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> toegediend. De geteste parameters bij deze opstelling en hun frequentie worden weergegeven in Tabel II.7.

**Tabel II.7** Overzicht van de gemeten parameters en hun meetfrequentie

Parameter	Eenheid	Frequentie
Spanningsverschil	(ΔV)	1 min <sup>-1</sup>
Chemische zuurstofvraag influent & effluent	(mg CZV L <sup>-1</sup> )	In bepaalde gevallen
Ammoniumconcentratie, influent & effluent	(mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Chloridenconcentratie, influent & effluent	(mg Cl <sup>-</sup> L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Nitrietconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Nitraatconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Fosfaatconcentratie, influent & effluent	(mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Sulfaatconcentratie, influent & effluent	(mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>
Vluchtige vetzuren, influent & effluent	(mg L <sup>-1</sup> )	± 1 dag <sup>-1</sup>
Zuurtegraad, influent & effluent	(pH)	± 1 dag <sup>-1</sup>
Zuurtegraad katholiet	(pH)	± 3 week <sup>-1</sup>

### 1.3 Afvalwater

Afvalwater van de RWZI Ossemeersen (Gent) werd als eerste afvalwater gebruikt. Het water werd afgenomen na de primaire roosters en zandvang waar het geïncubeerd werd met een Nocchi VIPVORT 130/5 (Lugano, Pisa, Italië). Het water werd maximaal 10 dagen bewaard op 4 °C. Het influentvat waaruit de voedingspomp substraat opzoog, had doorgaans een inhoud van 5 L. Deze Schott-fles werd gewikkeld in aluminiumpapier om fototrofe groei te vermijden. Een magneet werd ingebracht en de fles werd op een magnetische roerder geplaatst om het particulier materiaal in suspensie te houden zonder significante hoeveelheden zuurstof in te brengen. Vooral het ruwe afvalwater in het influentvat te brengen, werd het eerste aan een snelle filtratie onderworpen met een *nonwoven filter cloth* [(Libeltex, Belgium), Liplisse 3 (130 g m<sup>-2</sup>), Polyethylene Teraphthalate (PET) (70 % 6 denier PET + 30 % 4 denier PET)]. Na afspoelen kon deze filter keer op keer hergebruikt worden.

Drie externe weerstanden werden op dit afvalwater getest: 100, 75 en 50 ohm. Gedurende de eerste maand werd nog een fosfaatbuffer (100 mM) toegediend aan het katholiet (50 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>), later werd deze weggelaten.

Natrium molybdaat (10 mM NaMoO<sub>4</sub>) werd toegevoegd om de sulfaatreductie te inhiberen. Om de invloed van de biodegradeerbaarheid van het substraat op de performantie van de reactor na te gaan, werden enkele substraten (extra aan het afvalwater toegediend. Het betrof hier acetaat bij 50 ohm en 75 ohm en pepton bij 75 ohm.

In een volgend experiment werd afvalwater eerst een zekere tijd op een hogere temperatuur geïncubeerd alvorens toegediend te worden aan de reactor. Uit eenzelfde vat afvalwater werd driemaal 5 L afvalwater genomen. Twee van deze Schott-flessen werden tot de rand gevuld om de gasfase te minimaliseren. Hierna werden ze hard dichtgeschroefd, de doppen omwikkeld met parafilm en in de incubator op 37 °C geplaatst. Het derde vat werd eerst een dag als voeding gebruikt en diende als controle. Na één dag werd een fles uit de incubator gehaald om als voeding te fungeren en de andere fles werd dan later (na drie dagen incubatie) als voeding gebruikt.

Later werd er medisch afvalwater (Maria Middelaes, Gent) gebruikt om de reactoren te voeden. Vier externe weerstanden werden op dit afvalwater getest: 10, 15, 20 en 50 ohm. Zowel de reactoren met 0,21 L NAC als de ene reactor met 0,30 L NAC werden met dit afvalwater gevoed.

Met dit afvalwater werd een zure hydrolysetest uitgevoerd. Er werd vers afvalwater in twee Schott-flessen (5 L) gebracht. In één van de flessen werd de pH tot 2,0 gebracht met 1N HCl. De flessen werden tot de rand gevuld zodat de gasfase minimaal was. Na het dichtschroeven werden deze doppen met parafilm omwikkeld om gaspermeatie te minimaliseren. Hierop werd het water 24 h op 44 °C geïncubeerd. Daarna werden ze uit de incubator gehaald. Het aangezuurde afvalwater werd nu weer op normale pH gebracht (pH = 7,30) met 6N NaOH. Eén van de korte reactoren werd gevoed met dit behandeld afvalwater, terwijl een andere korte reactor met het afvalwater gevoed werd dat geen pH-behandeling (maar wel temperatuursbehandeling) ondergaan had en dus als controle diende.

Tenslotte werd een industrieel afvalwater gebruikt. Het aardappelverwerkende bedrijf Lutosa brengt haar rijke, zetmeelhoudende afvalwater in een anaërobie vergister. Doorgaans genereert dit hoge concentraties aan vluchtige vetzuren in het effluent.

Dit afvalwater werd met twee externe weerstanden getest: 15 en 50 ohm. Later werd er 1 g natriumacetaat L<sup>-1</sup> extra toegevoegd aan vers afvalwater om het effect op de stroomproductie te kennen. Zowel bij 15 als bij 50 ohm werd dit getest.

In een laatste test werd 3 L vers afvalwater gedurende 2 dagen op 44 °C bewaard in een incubator. Nadien werd het als influent aangebracht.

**Tabel II.8** Overzicht van de gemeten parameters en hun meetfrequentie

Parameter	Eenheid	Frequentie (Ossemeersen)	Frequentie (M. Middelaars)	Frequentie (Lutosa)
Spanningsverschil	(ΔV)	1 min <sup>-1</sup>	1 min <sup>-1</sup>	1 min <sup>-1</sup>
Chemische zuurstofvraag voor filtratie	(mg CZV L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>	± 2 maand <sup>-1</sup>	± 2 maand <sup>-1</sup>
Chemische zuurstofvraag influent & effluent	(mg CZV L <sup>-1</sup> )	± 1 dag <sup>-1</sup>	± 1 dag <sup>-1</sup>	± 1 dag <sup>-1</sup>
Biologische zuurstofvraag inluent & effluent	(mg BZV <sub>5</sub> <sup>20</sup> L <sup>-1</sup> )	± 2 maand <sup>-1</sup>	± 2 maand <sup>-1</sup>	
Ammiumconcentratie, influent & effluent	(mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>		
Nitrietconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>
Nitraatconcentratie, influent & effluent	(mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>
Fosfaatconcentratie, influent & effluent	(mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>
Sulfaatconcentratie, influent & effluent	(mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>	± 3 week <sup>-1</sup>
Vluchtige vetzuren, influent & effluent	(mg L <sup>-1</sup> )	± 1 week <sup>-1</sup>	± 1 week <sup>-1</sup>	± 1 week <sup>-1</sup>
Zuurtegraad, influent & effluent	(pH)	± 1 dag <sup>-1</sup>	± 1 dag <sup>-1</sup>	± 1 dag <sup>-1</sup>
Zuurtegraad katholiet	(pH)	± 3 week <sup>-1</sup>		
Koolstofdioxidevorming	ppm	Drie maal		
Methaangasvorming	ppm	Drie maal		
Waterstofgasvorming	ppm	Drie maal		

## 2 De staalname

Voor de influentstaalnames van glucose en acetaat werd één reactor afgesloten door middel van klemmen. Het influent werd daarop in een Falconbuis opgevangen. Om verstoring aan de deze reactor te minimaliseren werd nooit meer dan 15 mL staal genomen.



Voor het afvalwater werd het influentstaal uit het influentvat opgezogen met behulp van een spuit (50 mL). Het afvalwater werd voorafgaand met deze spuit gehomogeniseerd door enkele malen afvalwater op te zuigen en dan weer krachtig terug te spuiten.

Om na te gaan of er methaangas en waterstofgas gevormd werd in de headspace van de reactor, werd er met een spuit (1 mL) door het septum geprikt en gas opgezogen.

Om de accumulatie van organisch materiaal (dus onder andere ook aangroei van biomassa) te kwantificeren, werden stalen genomen van de reactorkorrels. Allereerst werden alle toevoer- en afvoerkanalen afgeklemd en de werd de recirculatiepomp ontkoppeld. Via de schroefdoppen kon de vloeistof verwijderd worden. Hierna werden de korrels uit de reactor gehaald langs de onderkant van de reactor door met een pincet schroefbewegingen te maken. De korrels van respectievelijk de top, het midden of de onderkant van de reactor werden opgevangen in een Falconbuis. Het netto gewicht van deze natte korrels werd bepaald, evenals het netto gewicht van de totale hoeveelheid natte korrels. Deze natte korrels werden vier maal één minuut op een vortex geplaatst met 10 mL gedestilleerd water. De korrels schuren zo aan hoge snelheid tegen elkaar en lossen zo organisch materiaal. Indien het volume in de falconbuis niet precies 40 mL bedroeg, werd deze aangevuld tot 40 mL. Hierna werden CZV, TSS en VSS bepaald van de bekomen suspensies. Zo kon men berekenen hoeveel er ongeveer accumuleert per gram natte korrels. Deze berekening is eerder kwalitatief dan exact kwantitatief, daar men er rekening mee moet houden dat niet alle organische partikels via deze methode van de korrels gescheiden kan worden (dit is bovendien ook niet mogelijk).

## Hoofdstuk 2

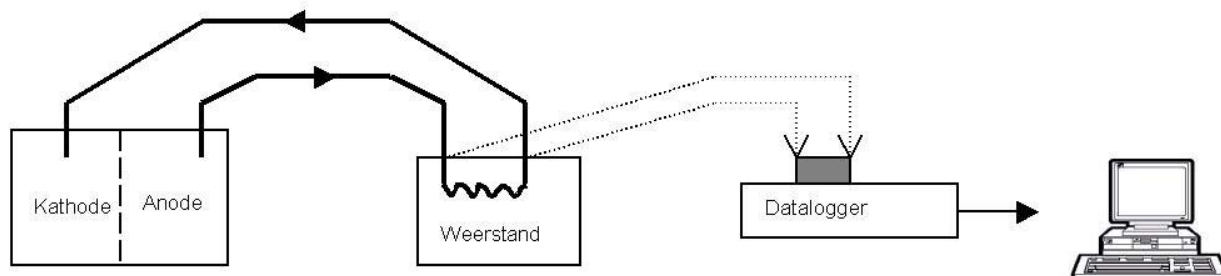
### Metingen

#### 1 De potentiaalmetingen

De gegenereerde elektronen stromen van de anode naar de kathode. Ter hoogte van de weerstand wordt een bepaald deel van de potentiële energie omgezet in een andere vorm (bijvoorbeeld warmte). Het verlies aan potentiële energie is direct duidelijk aan de hand van het potentiaal- of spanningsverlies tussen de twee contacten van deze weerstand.

De spanning over de microbiële brandstofcel werd geregistreerd met behulp van een data-acquisitie eenheid (Agilent 34970A) met bijhorende software (Agilent Benchlink) op de aangesloten computer. De spanning werd geregistreerd over een variabele externe weerstand. Elke minuut werd een datapunt gegenereerd. De weerstand kon oplopen tot 100 ohm. Onder 10 ohm bleek de procesvoering niet meer nauwkeurig geregeld te kunnen worden.

De opstelling voor de spanningsmetingen wordt weergegeven in Fig.II.1. Als de kring (elektrisch circuit) onderbroken werd, dan kon de open kring potentiaal gemeten worden. Voor ogenblikkelijke metingen werd een digitale multimeter (Fluke 45 Dual Display Multimeter) gebruikt die ook aan de weerstandscontacten geschakeld kon worden.



**Fig. II.1 Schematisch overzicht van de continue spanningsmeting over de microbiële brandstofcel**

Een directe schatting van de anode- en kathodepotentiaal kon verkregen worden met een zogenaamd *open circuit voltage* gebruik makend van een potentiostaat (PAR Bi-Stat Potentiostat, Princeton Applied Research) met bijhorende software (EC-Lab V8.51). De werkelektrode werd in het anodecompartiment aangebracht en kortgesloten met diens referentie (Fig.II.2). De tegenelektrode werd in het kathodecompartiment aangebracht en eveneens kortgesloten met diens referentie. Door de aanwezigheid van de zwevende referentie-elektrode (Ag/AgCl/KCl sat'd, BAS) in het anodecompartiment kon de potentiaal absoluut uitgedrukt worden (+ 0,197 V ten opzichte van *Standard Hydrogen Electrode* (SHE)).

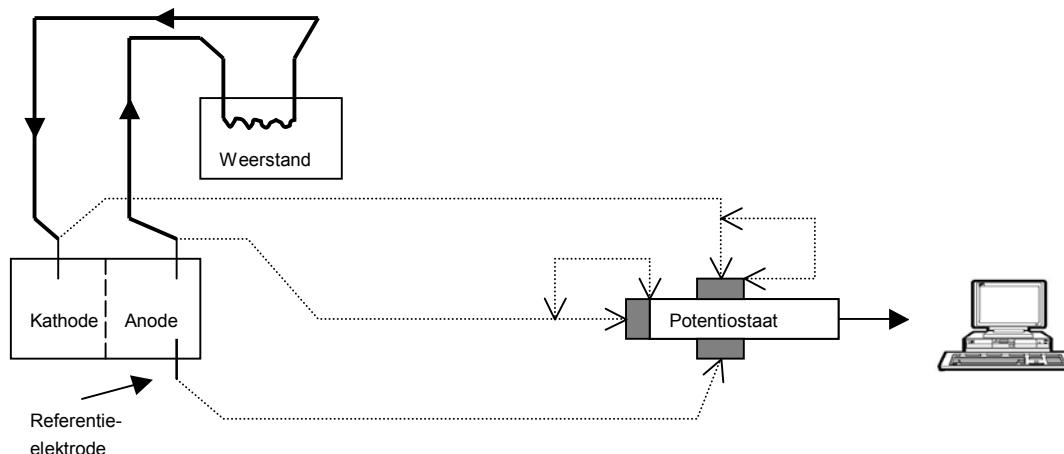


Fig. II.2 Overzicht van de potentiostaatschakeling

## 2 De bepaling van chloride ( $\text{Cl}^-$ ), nitraat ( $\text{NO}_3^-$ ), nitriet ( $\text{NO}_2^-$ ), fosfaat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) en sulfaat ( $\text{SO}_4^{2-}$ )

De bepaling van het nitraat- en nitrietgehalte gebeurde aan de hand van een Dionex ionenchromatograaf (IC 761 Compact, Methrom) met een AS9HC kolom en een Metrosep A 4/5 guardkolom. Het eluent was 3,2 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en 1 mM  $\text{NaHCO}_3$  bij een debiet van  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ . Een staahthoeveelheid van 10 mL werd gebruikt na filtratie door een  $0,22 \mu\text{m}$  filter (Millex). De detector werkte volgens de elektrochemische conductiviteit. Er werden dagelijks drie standaardreeksen aangemaakt voor respectievelijk erg lage ( $0 - 1 \text{ mg L}^{-1}$ ), lage ( $1 - 10 \text{ mg L}^{-1}$ ) en hoge concentraties ( $10 - 100 \text{ mg L}^{-1}$ ).

## 3 De chemische zuurstofvraag (CZV)

Het chemische zuurstofvraag (CZV) is een maat voor het gehalte aan organisch materiaal dat langs chemische weg kan geoxideerd worden. De bepaling van de CZV steunde op de reactie van organische koolstofverbindingen met een overmaat kaliumdichromaat ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), een sterk oxiderende stof, in zuur milieu [Greenberg *et al.*, 1992]. De overmaat kaliumdichromaat ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) werd met ijzerammoniumsulfaatoplossing ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , 0,25 N) teruggetitreerd tot een kleuromslag bekomen werd na toevoegen van een ferroïne-indicator van blauwgroen tot roodbruin. De bepalingsgrenzen hierbij bedroegen  $100 - 900 \text{ mg CZV L}^{-1}$ .

## 4 De vluchtige vetzuren (VVZ)

Om vluchtige vetzuren te extraheren werd de diëthyletherextractie gehanteerd, zoals beschreven door Greenberg *et al.* [1992]. De analyse van de vluchtige vetzuren gebeurde door middel van capillaire gaschromatografie (GC 8000 Carlo Erba Instruments, Wigan) met een vlamionisatie

detector (FID). De gebruikte kolom was een Alltech (Deerfield) EC-1000 (30 m, I.D.: 0,32 mm, d<sub>f</sub>: 0,25 µm). De temperatuur werd vastgelegd op 135 °C voor de isotherme oven en 200 °C voor de detector en de injector. Stikstofgas werd gebruikt als carriergas aan 3 mL min<sup>-1</sup>. Volgende vetzuren konden bepaald worden: azijnzuur, propionzuur, (iso)boterzuur, (iso)valeriaanzuur en (iso)capronzuur.

## 5 De ammoniumconcentratie

Voor de bepaling van de ammoniumconcentratie werd gekozen om gebruik te maken van een directe colorimetrische bepaling volgens Nessler [Greenberg *et al.*, 1992]. De Nessler-methode heeft een meetbereik van 0,2 tot 2,0 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup>, daarom werd het staal voldoende verdund in een 50 mL maatkolpje. Hieraan werd 1 mL kaliumnatriumtartraatoplossing toegevoegd gevolgd door het toevoegen van 1 mL Nessler reagens. Dit geheel werd gemengd en liet men gedurende 10 minuten rusten. Binnen het uur werd de gevormde kleur bij een golflengte van 425 nm, spectrofotometrisch gemeten worden met behulp van een UVIKON 932 spectrophotometer (Kontron Instruments, Zwitserland). In iedere reeks stalen werd een blanco staal op dezelfde wijze behandeld zodat absorptie ten opzichte hiervan kon bepaald worden.

## 6 De totale zwevende droge stof (TSS) en vluchtige zwevende stof (VSS)

Voor de bepaling van TSS en VSS wordt verwezen naar Greenberg *et al.* [1992].

## 7 De zuurtegraad

De zuurtegraad werd bepaald met een CONSORT C532 multimeter analyser.

## 8 De biologische zuurstofvraag (BZV<sub>5</sub><sup>20</sup>)

De biologische zuurstofvraag werd bepaald aan de hand van de oxytop-methode (Greenberg *et al.*, 1992). Eerst werd een schatting van de hoeveelheid BZV<sub>5</sub><sup>20</sup> gemaakt aan de hand van de benaderingsregel:  $BZV_5^{20} = 0,65 * COD$ . Op basis hiervan werd bepaald welke hoeveelheid staal optimaal was om in de bruine oxytopfles te brengen. Een buffer, nutriënten, mineralen, nitrificatie-inhibitor, inoculum en een magnetisch roerstaafje werden eraan toegevoegd. In een rubberen dop werden wat korrels natronkalk gedaan om de vrijgestelde CO<sub>2</sub> te capteren. De fles werd gedurende 5 dagen op 20 °C op een roerblok gebracht en afgesloten met een oxytop-schroefdop die het drukverschil dagelijks mat. Hieruit kon de hoeveelheid BZV<sub>5</sub><sup>20</sup> bepaald worden.

## 9 De gasmetingen

Waterstofgas werd met een OPUS H<sub>2</sub>-sensor (Zellweger Analytics Ltd., Dorset) gemeten. Voor de bepaling van methaangas en koolstofdioxide werd gebruik gemaakt van gaschromatografie (Intersmat IGC 120 MB).

## Hoofdstuk 3

### Verwerking van de data

De datalogger was ingesteld om elke minuut een meting van het spanningsverschil uit te voeren en op te slaan. Via de software kon het verloop van de spanning op de PC gevolgd worden. Dagelijks werden de data geëxporteerd en opgeslagen onder een txt-format. Deze konden in excel geïmporteerd worden. Hiermee werd telkens een uurgemiddelde berekend. Ook werd hier een daggemiddelde met standaardafwijking en maximum berekend. Met behulp van een macro konden deze waarden naar een andere file geëxporteerd worden. Doorgaans werden berekeningen enkel uitgevoerd op uurgemiddelden daar dit alle trends van belang kon vatten en tegelijkertijd wat ruis kon elimineren. Ook reduceerde dit de datasets tot een werkbaar formaat. Als het voor de correctheid toch nodig bleek, dan werd gewerkt met de ruwe datapunten die elke minuut gegenereerd werden.

Het delen van de spanning ( $\Delta V$ ; Volt) door de externe weerstand ( $R$ ; Ohm) leverde volgens de wet van Ohm de stroomsterkte ( $I$ ; Ampère) wat equivalent is aan het aantal coulomb per seconde ( $dq dt^{-1}$ ).

$$I = \frac{dq}{dt} = \frac{\Delta V}{R}$$

Als de stroom vermenigvuldigd werd met het aantal seconden per dag ( $86400 s d^{-1}$ ) en gedeeld door het getal van Faraday ( $96485 C mol^{-1}$ ) werd het aantal mol elektronen op dagbasis bekomen. Om de vergelijking met CZV-verwijdering zinvol te maken, werd dit steeds uitgedrukt als kg CZV-stroom  $m^{-3} NAC d^{-1}$ . De reductie van zuurstof ( $O_2$ ) naar water ( $H_2O$ ), die model staat voor de CZV-stoichiometrie, vereist 4 elektronen per mol zuurstof. Aangezien het molair gewicht van  $O_2$   $32 g mol^{-1}$  bedraagt (ofwel:  $32 g CZV mol^{-1} O_2$ ) komt dit neer op  $8 g CZV mol^{-1}$  elektronen.

Verder was het zinvol om de energieproductie te bepalen. De energieproductie ( $E$ ; Joule) wordt bekomen door het vermogen ( $P$ ; Watt) te vermenigvuldigen met de tijdspanne ( $\Delta t$ ; seconden).

$$P = \Delta V \times I = I^2 \times R = \frac{\Delta V^2}{R}$$
$$E = P \times \Delta t$$

#### 1 De coulometrische efficiëntie

In de context van microbiële brandstofcellen worden resultaten vaak gerapporteerd onder de vorm van coulometrische en energetische efficiënties. De coulometrische efficiëntie geeft de verhouding weer van het aantal gegenereerde ladingen (Coulomb) via het elektrisch circuit ten opzichte van het aantal potentiële ladingen (Coulomb) die in het anodecompartiment ingebracht worden, onder de vorm van het substraat, vermenigvuldigd met 100 %. De gegenereerde ladingen kunnen bepaald worden uit het potentiaalverschil en de opgelegde externe weerstand. Het aantal potentieel ingebrachte ladingen kan stoichiometrisch bepaald worden als het substraat en de concentratie bekend zijn. Indien niet, dan kan een CZV-meting uitgevoerd worden. Deze CZV-meting wordt uitgedrukt in  $mg O_2 L^{-1}$ . Vier elektronen zijn vereist voor de reductie tot  $H_2O$ , zo kan het aantal

ladingen van het substraat bepaald worden. Coulometrische efficiëntie wordt soms ook uitgedrukt volgens de hoeveelheid verwijderd substraat (i.p.v. op toegevoegd substraat) omdat zo kan nagegaan worden of de substraatverwijdering niet door andere processen plaatsgreep. De coulometrische efficiëntie stijgt lineair met toenemende spanning.

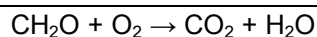
Coulometrische efficiëntie (%) =

$$\frac{\text{aantalCOULOMB}_{\text{stroom}}}{\text{aantalCOULOMB}_{\text{in}}} \times 100 = \frac{I \times \Delta t}{\text{aantalCOULOMB}_{\text{in}}} \times 100 = \frac{\frac{V}{R} \times \Delta t}{\text{aantalCOULOMB}_{\text{in}}} \times 100$$

## 2 De energetische efficiëntie

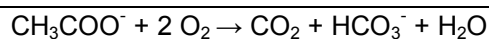
De energetische efficiëntie is de verhouding van de ingebrachte energiehoeveelheid ten opzichte van de gegenereerde energiehoeveelheid via het circuit vermenigvuldigd met 100 %. De gegenereerde hoeveelheid energie kan berekend worden uit het potentiaalverschil en de externe weerstand. De ingebrachte hoeveelheid energie wordt bepaald door de concentratie en de energie-inhoud van het dat substraat. De ingebrachte energie wordt uitgedrukt als de energie die zou vrijkomen door aërobe oxidatie. Deze werden berekend op basis van de reactievergelijkingen volgens McCarty [1971].

Voor suikers geldt er:



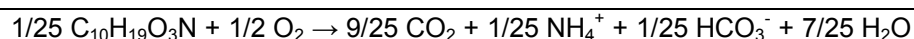
Dit levert een maximaal spanningsverschil van 1,244 V op. Omgerekend komt dit voor glucose neer op 2881 kJ mol<sup>-1</sup> glucose. Uitgedrukt als CZV, komt dit overeen met 15,0 kJ g<sup>-1</sup> CZV of 4,168 kWh kg<sup>-1</sup> CZV.

Voor acetaat geldt er:



Dit levert een maximaal spanningsverschil van 1,097 V op. Omgerekend komt dit voor acetaat neer op 847 kJ mol<sup>-1</sup> acetaat. Uitgedrukt als CZV, komt dit overeen met 13,2 kJ g<sup>-1</sup> CZV of 3,675 kWh kg<sup>-1</sup> CZV.

Het substraat in afvalwater wordt volgens McCarty stochiometrisch best benaderd door C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N.



Dit levert een maximaal spanningsverschil van 1,144 V op. Omgerekend komt dit voor acetaat neer op 5519 kJ mol<sup>-1</sup> afval. Uitgedrukt als CZV, komt dit overeen met 13,8 kJ g<sup>-1</sup> CZV of 3,833 kWh kg<sup>-1</sup> CZV.

Soms drukt men de energetische efficiëntie ook uit ten opzichte van de verwijderde energie. De energetische efficiëntie stijgt kwadratisch met toenemende spanning.

$$\text{Energetische efficiëntie (\%)} = \frac{E_{\text{stroom}}}{E_{\text{in}}} \times 100 = \frac{P \times \Delta t}{E_{\text{in}}} \times 100 = \frac{V^2 \times \Delta t}{R \times E_{\text{in}}} \times 100$$

Een voorbeeld ter verduidelijking

Glucose wordt aan 0,21 g CZV d<sup>-1</sup> toegediend, de weerstand is 20 ohm. De energetische waarde van glucose is 15,0 kJ g<sup>-1</sup> CZV. De gemiddelde spanning gedurende een dag is bijvoorbeeld 400 mV.

We bekomen als

- coulometrische efficiëntie:

$$\frac{\frac{0,4 \text{ V}}{20 \Omega} \times 86400 \text{ s/d}}{(0,21 \text{ g O}_2 / \text{d}) \times (4 \text{ mol e}^- / \text{mol O}_2) \times (96485 \text{ Coulomb} / \text{mol e}^-) / (32 \text{ g O}_2 / \text{mol O}_2)} \times 100 \% = 68 \%$$

- energetische efficiëntie:

$$\frac{(0,4 \text{ V})^2 \times 86400 \text{ s/d}}{20 \Omega \times 0,21 \text{ g COD} / \text{d} \times 15000 \text{ J/g COD}} \times 100 \% = 22 \%$$

### 3 De statistische analyse

Om significante verschillen vast te stellen tussen distributies werd op bepaalde momenten gebruik gemaakt van het software-pakket S-PLUS® 6.1 (PROFESSIONAL EDITION, Release 1).

Normaliteit werd getest met een *Kolmogorov-Smirnov-test*, significantieniveau 5 %. Gelijkheid van variantie (homoscedasticiteit) werd nagegaan met een *modified-Levene-test*, significantieniveau 5 %. Om twee distributies met elkaar te vergelijken werd een *two-sample-t-test* uitgevoerd (significantienniveau 5 %) als aan normaliteit en homoscedasticiteit voldaan was. In het geval er influentconcentraties met effluentconcentraties vergeleken dienden te worden, was een *paired t-test* aangewezen.

Wanneer één van de voorwaarden voor een *two-sample-t-test* niet voldaan was, kon een *Wilcoxon two-sample-test* (significantienniveau 5 %) uitgevoerd worden, aangezien de twee voornoemde voorwaarden hier niet vereist waren.

DEEL III

RESULTATEN



# Hoofdstuk 1

## Bouw en operationalisering van de reactor

### 1 De bouw van een reactor

De basisstructuur bestond uit twee glazen doppen die respectievelijk de onderkant en bovenkant van de reactor vormden. Tussen de glazen stoppen werd een kationuitwisselingsmembraan (15 x 20 cm) (Ultrax, Membranes International Inc.) vastgemaakt. Een gedeelte van het membraan werd overgeplooid zodat het membraan net over de glazen doppen spande en met een soldeerbout werd het membraan dan dichtgesmolten.



**Fig. III.1 Het kationuitwisselingsmembraan rond een glazen dop gespannen**

Met vloeibare rubber (Rubson) werden later alle naden waterdicht gemaakt. Na 24 h drogen werd de overgang membraan-glazen stop verstevigd met vulkaniserende tape (Plasto) die elastisch rond de buis gespannen kon worden.

De buizen werden met schroefklemmen opgehangen aan een statief. De schroefdoppen die pasten op deze glazen stoppen, werden doorboord zodat de staafvormige grafietelektroden (Morgan, 5 mm diameter) of de referentie-elektrode (Ag/AgCl/KCl sat'd, BAS) ingebracht konden worden. De doppen werden waterdicht gehouden met elastisch septum. Daarna werd het volume bepaald van de lege reactor: 390 mL. Daarna werd de reactor gevuld met grafietkorrels (type 00514, diameter tussen 1,5 en 5 mm, Le carbone). Er kon dan nog 211 mL vloeistof in (vanaf hier: afgerond op 0,21 L NAC) zodat een porositeit van 54 % bekomen werd.

Een aparte meting bracht een dichtheid van  $1,51 \pm 0,09 \text{ kg L}^{-1}$  voor droge korrels aan het licht. Er waren met andere woorden voor ongeveer  $270 \pm 16 \text{ g}$  droge korrels aanwezig in de reactor.

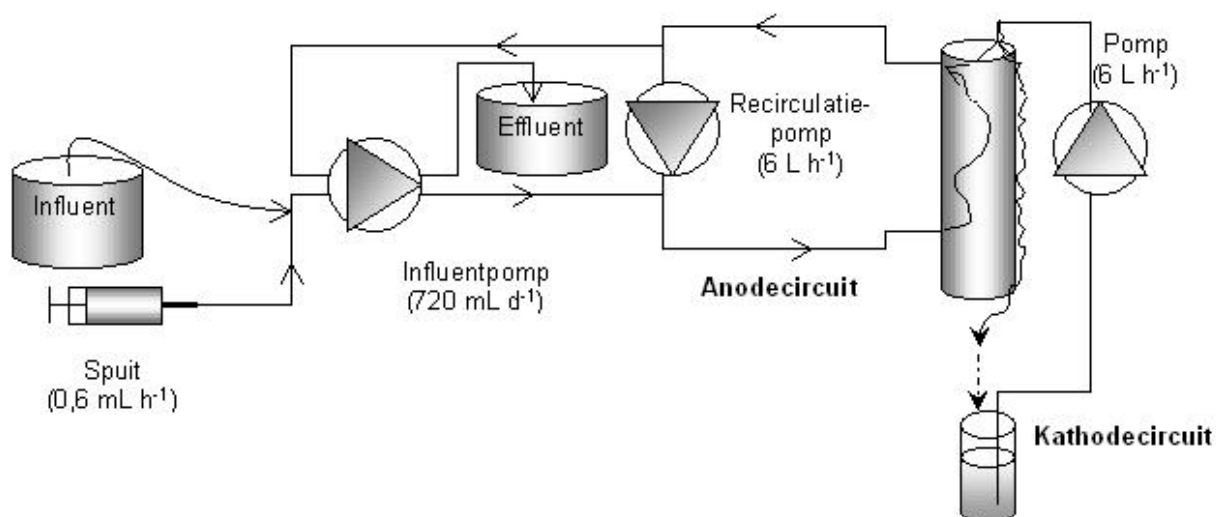
Om het effect van de hydraulische verblijftijd op de afbraak en energieproductie na te gaan, werd een grotere reactor gebouwd aangezien er slechts één voedingspomp voorhanden was die al aan een minimaal debiet pompte. De vloeistofinhoud zonder korrels bedroeg 560 mL terwijl deze met korrels 302 mL bedroeg (vanaf hier: afgerond op 0,30 L NAC).

Rond het membraan werd een grafietmat (Alfa Aesar, 6,35 mm) aangebracht. Deze dikke grafietmat werd in twee stukken opengetrokken. Daarna werd ze vastgemaakt door spanstrips (3M) om de drie centimeter aan te brengen. Eerst bestond de grafietelektrode, die contact maakte met de grafietmat en het katholiet, uit slechts 1 elektrode. Later werd deze vervangen door 4 doorboorde grafietelektroden (9 cm) die onder een hoek van  $90^\circ$  stonden en onderling verbonden waren met koperdraad. Alle ontmantelde stukken koper werden met parafilm (Pechiney) omwikkeld om corrosie te voorkomen.

## 2 Operationalisering van de reactor

Een toevoerpomp (Watson Marlow 505 S) regelde het influentdebiet op  $0,72 \text{ L d}^{-1}$  vanuit een influentvat. Specifieke substraten werden doorgaans omwille van biodegradeerbaarheid geconcentreerd en in een aparte spuit toegediend aan de M9-oplossing uit het influentvat aan  $0,6 \text{ mL h}^{-1}$  (Fig. III.2).

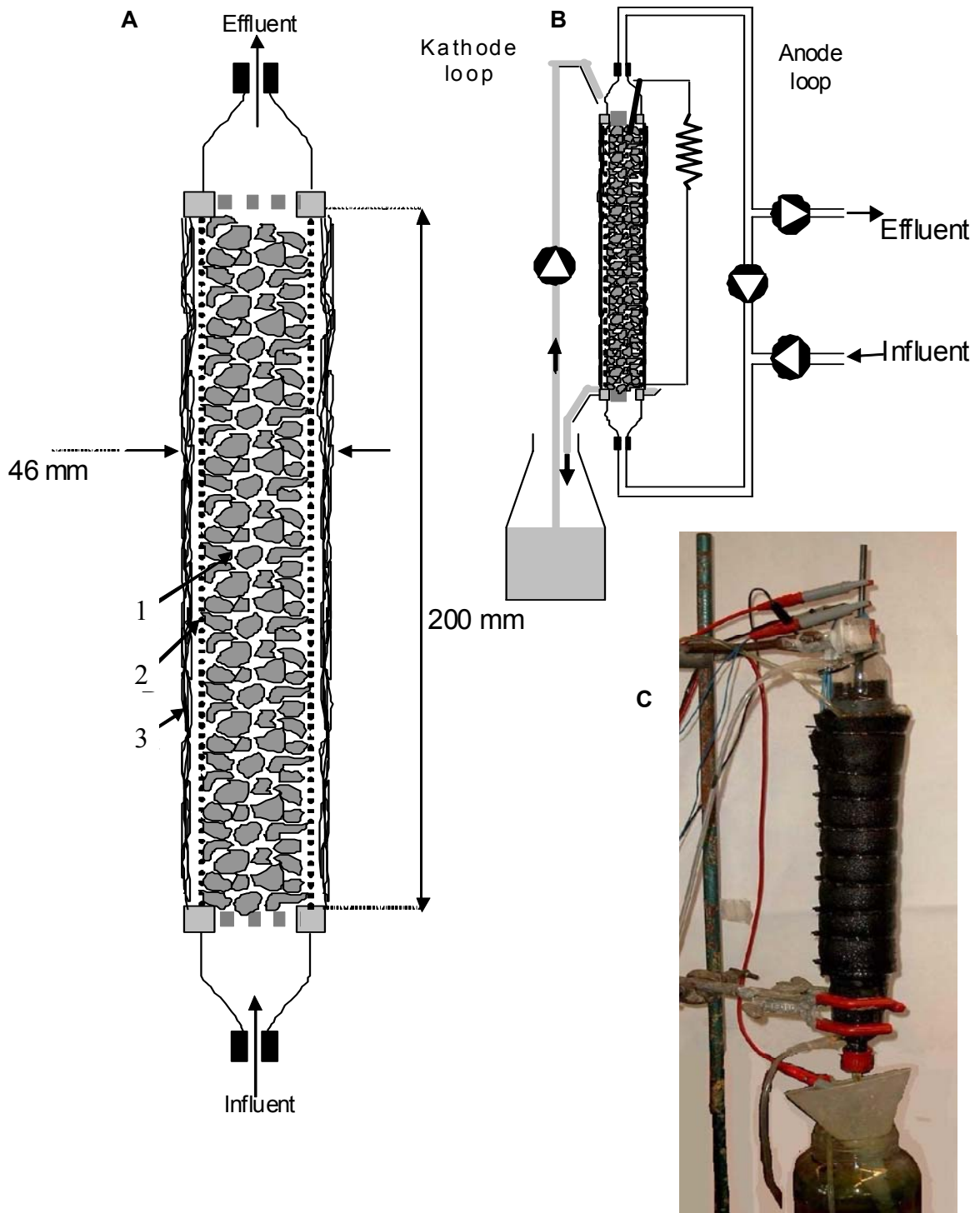
Een goede en constante doorstroming is belangrijk voor een goede beschikbaarheid van het substraat en het verminderen van de opbouw van een dubbellaag (Rabaey *et al.*, 2005c). Daartoe werd een recirculatiecircuit voorzien ( $6 \text{ L h}^{-1}$ ). De instromende vloeistof werd onderaan de reactor toegediend via plastic toevoerleidingen (4 mm externe diameter en 2 mm interne diameter) en stroomde er bovenaan weer uit via de aangebrachte leidingen (Fig. III.2). De nieuwe voeding kwam aan een debiet van  $0,72 \text{ L d}^{-1}$  binnen, net na de recirculatiepomp. Dit kwam neer op een hydraulische verblijftijd van 7 h voor de reactor met 0,21 NAC en 10 h voor de reactor met 0,30 L NAC. Net voor de recirculatiepomp was een effluentbuisje voorzien. Het was mogelijk dat de druk van het influent ervoor zorgde dat eenzelfde effluentdebiet bekomen werd. In lekgevoelige reactoren werd dit aspect van lichte overdruk op de membranen vermeden door ook het effluent aan  $0,72 \text{ L d}^{-1}$  weg te voeren.



**Fig. III.2 Een schematisch overzicht van de verschillende vloeistofstromen**

Een 50 mM oplossing kaliumhexacyanoferraat ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) met 100 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  aangepast tot  $\text{pH} = 7$  met 1N NaOH (verder: katholiet) (Park en Zeikus, 2000) werd in een glazen pot van ongeveer 1 L gebracht. Deze oplossing werd met een debiet van  $6 \text{ L h}^{-1}$  tussen de grafietmat en het kationuitwisselingsmembraan aangebracht. Later werden parameters van de samenstelling van dit katholiet gewijzigd (zie verder). Door het gebruik van de spanstrips werd de katholietoplossing langer

weehouden en kon een egaal horizontale verdeling bekomen worden. Onderaan werd het katholiet door middel van een trechter weer opgevangen in de glazen pot. Doorgaans werd het katholiet om de twee dagen vervangen. Een globaal overzicht wordt weergegeven in Fig. III.3.



**Fig. III.3** Een globaal overzicht van de gebruikte reactor; A: Schema (1: de granulaire anode; 2: het kationuitwisselingsmembraan; 3: de grafietmat als kathodische elektrode); B: Schematisch overzicht van de anode- en kathodeloop; C: Foto van de opstelling [Rabaey et al., 2005b]

## Hoofdstuk 2

### Microbiële brandstofcellen gevoed met glucose

#### 1 De opstart van een reactor

In de eerste tubulaire reactor werden grafietkorrels gebruikt van een bestaande microbiële brandstofcel die synthetisch afvalwater als elektrondonor gebruikte [Rabaey *et al.*, 2005d]. Kort daarna werd de kring elektrisch gesloten. Na ongeveer 24 h werd de toevoer pomp aangeschakeld die een M9-oplossing met een glucosebelasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  opzoog. De externe weerstand betrof 100 ohm. Ongeveer 70 h daarna werd zo een maximale celspanning van 0,594 V bekomen (Fig. III.4). In totaal werden twee verschillende reactoren gebouwd om glucose te testen, allebei hadden ze een inhoud van 0,21 L wat resulteerde in een hydraulische verblijftijd van 7 h.

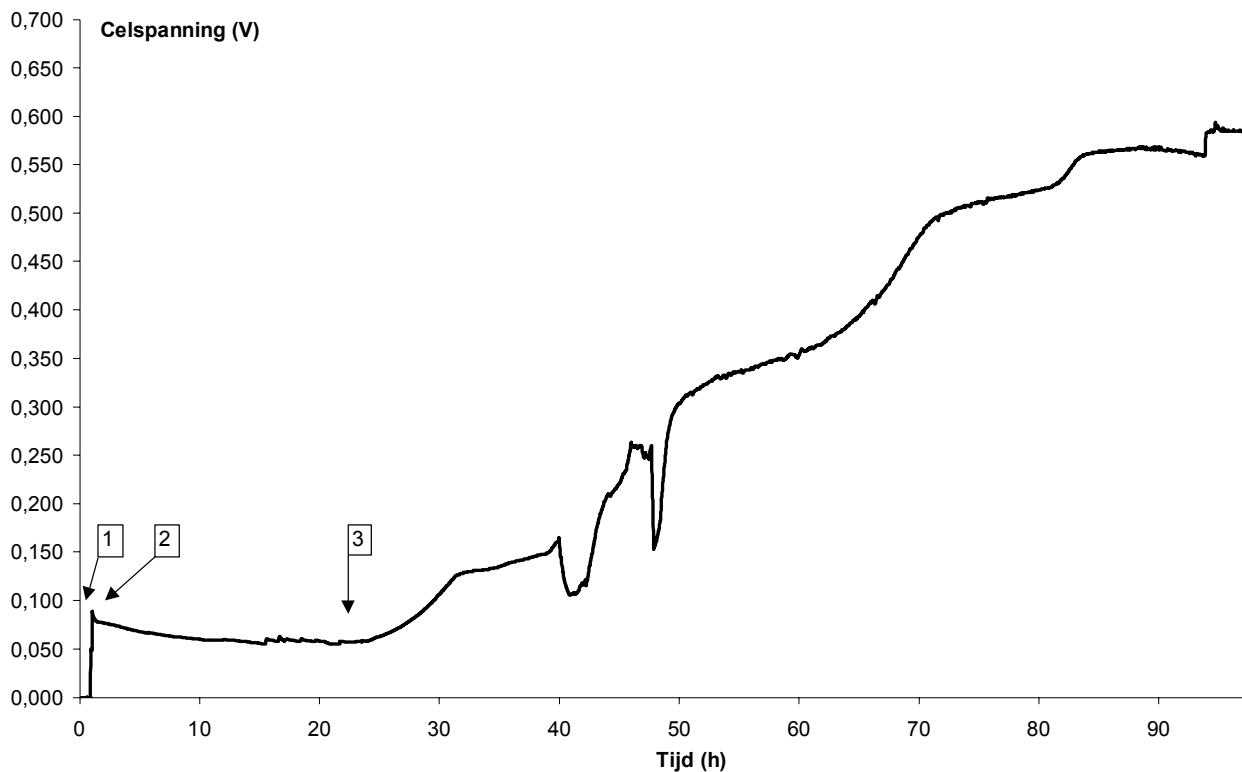


Fig. III.4 Het verloop van de gemeten spanning bij opstart (100 ohm en  $1,07 \text{ kg glucose-CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) (1: de inoculatie en start van de recirculatie; 2: het sluiten van de elektrische kring ; 3: de start van de toediening van de glucosebelasting ; 0,21 L NAC)

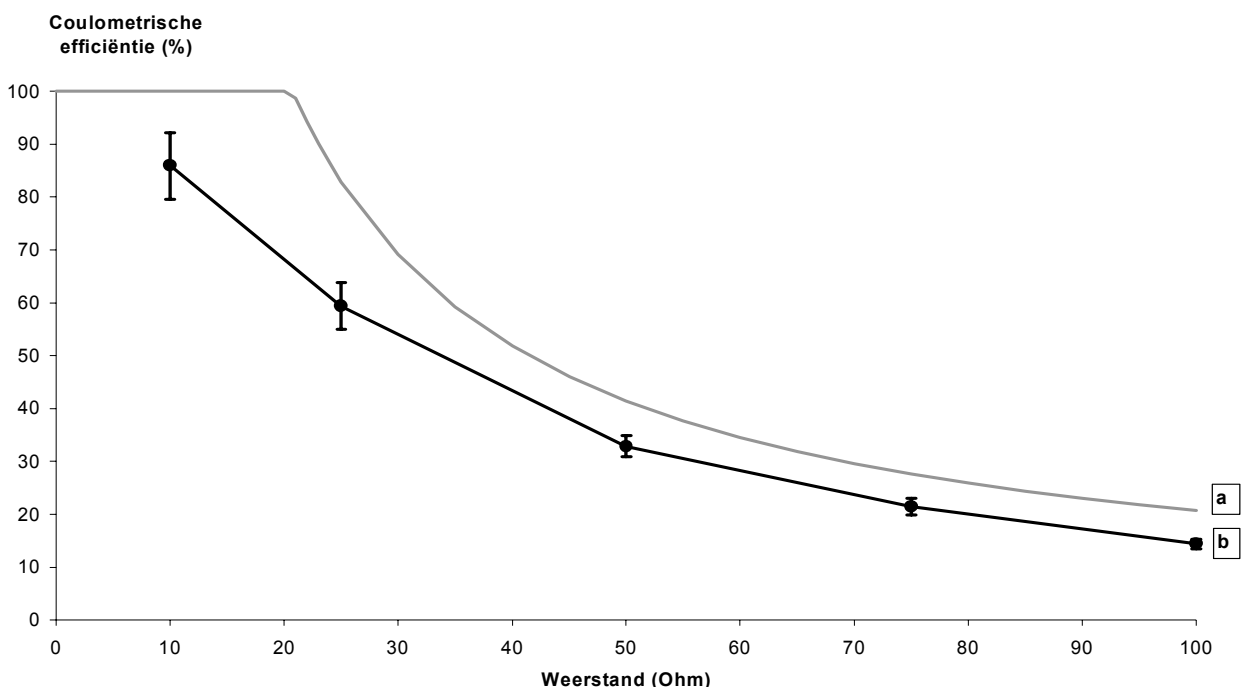
#### 2 Het effect van de belasting en de externe weerstand op het ladingstransport

Op basis van de gemeten celspanning en de ingestelde externe weerstand kon berekend worden hoeveel ladingen er door het circuit migreerden. In Deel II werd verduidelijkt hoe op basis hiervan de coulometrische efficiëntie berekend werd. In Tabel III.1 wordt samenvattend een overzicht gegeven van het effect van een wisselende externe weerstand en belasting. Deze waarden zijn de

gemiddelden, standaardafwijkingen en maxima van de uurgemiddelden onder deze omstandigheden, en zullen verder evenzo gerapporteerd worden. De cursieve waarden werden slechts op één reactor bekomen en de standaardafwijking is dan ook enkel gebaseerd op de variatie van één reactor, de andere waarden werden vanuit twee reactoren bekomen. De onderliggende data waren het resultaat van substraattoediening zonder toevoerspuit met een geconcentreerde glucose-oplossing. Deze notatie wordt aangehouden in alle verdere tabellen die het effect van een externe weerstand en belasting weergeven. Als een open kringpotentiaal van 0,650 V als theoretisch maximaal haalbare celspanning aanzien wordt, dan legde dit restricties op aan de maximaal haalbare coulometrische efficiëntie (Fig. III.5).

**Tabel III.1 De gemiddelde procentuele coulometrische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal bekomen procentuele coulometrische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h
<b>100 Ω</b>				<u>14 ± 1</u>	<u>20</u>	<u>76</u>						
<b>75 Ω</b>				<u>21 ± 2</u>	<u>25</u>	<u>88</u>						
<b>50 Ω</b>	58 ± 6	74	111	<u>33 ± 2</u>	<u>36</u>	<u>152</u>	21 ± 2	23	10			
<b>35 Ω</b>							32 ± 1	34	36			
<b>25 Ω</b>	112 ± 12	135	23	<u>59 ± 4</u>	<u>67</u>	<u>44</u>	43 ± 3	50	87	26 ± 1	28	73
<b>20 Ω</b>										28 ± 2	33	88
<b>10 Ω</b>				86 ± 5	97	31						



**Fig. III.5 De maximale procentuele coulometrische efficiëntie (a), volgens een theoretisch maximale celspanning van 0,650 V, en de gemiddelde procentuele coulometrische efficiëntie met standaardafwijking (b) die behaald werd bij een belasting van 1,07 kg glucose-CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (0,21 L NAC)**

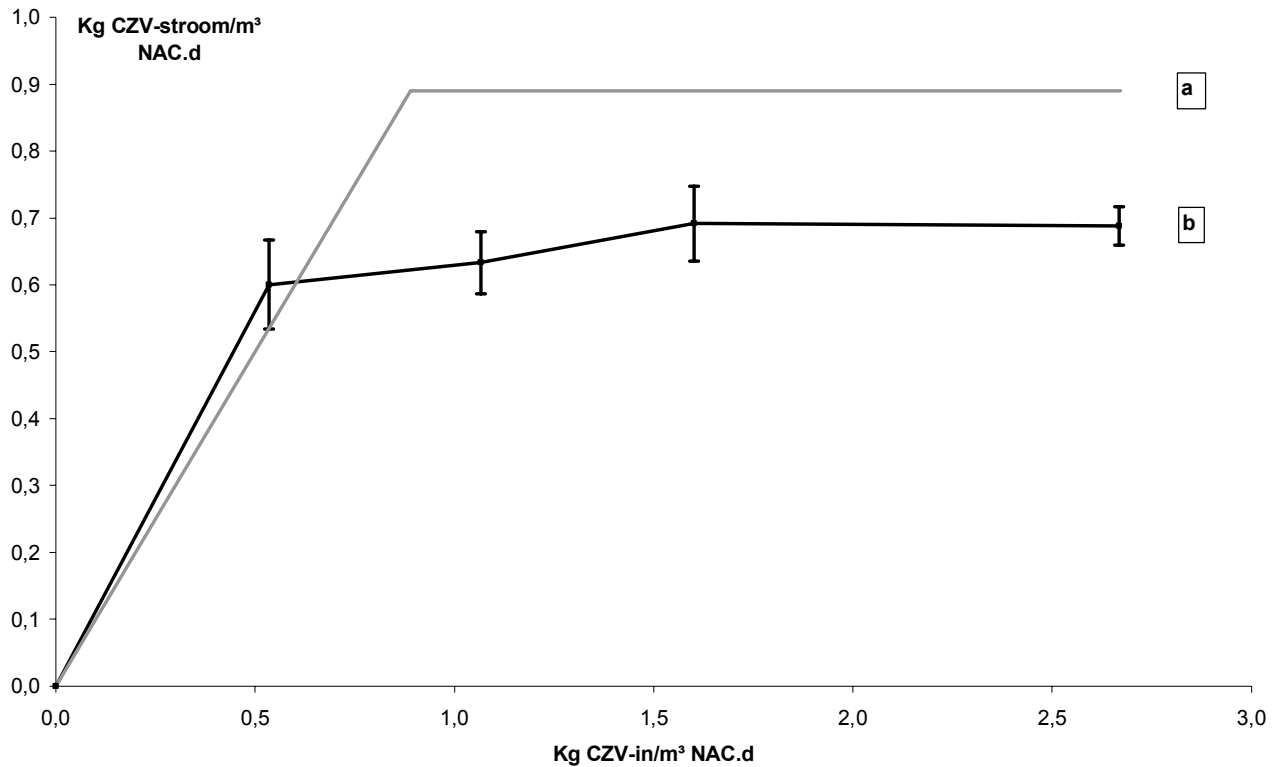
De gemiddelde coulometrische efficiëntie steeg in alle gevallen van gelijke belasting met een dalende externe weerstand. Doorgaans daalde de gemiddelde coulometrische efficiëntie met een stijgende belasting. De hoeveelheid aan ladingen kan ook uitgedrukt worden als de chemische zuurstofvraag die nodig is om deze ladingen aan te brengen (Tabel III.2). Als verondersteld wordt dat een open kringpotentiaal (0,650 V) de maximaal haalbare stroomproductie zou opleveren, dan kan deze maximale stroomproductie (M) vergeleken worden met de behaalde stroomproductie.

**Tabel III.2 De gemiddelde stroomproductie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>, de maximaal bekomen stroom in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met de theoretisch maximaal haalbare stroom (M) in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (bij een open kringpotentiaal van 0,650 V)**

	M	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
		x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
<b>100 Ω</b>	0,22				<u>0,15 ± 0,01</u>	<u>0,21</u>	<u>76</u>
<b>75 Ω</b>	0,30				<u>0,23 ± 0,02</u>	<u>0,27</u>	<u>88</u>
<b>50 Ω</b>	0,44	0,31 ± 0,03	0,40	111	<u>0,35 ± 0,02</u>	<u>0,39</u>	<u>152</u>
<b>35 Ω</b>	0,65						
<b>25 Ω</b>	0,89	<u>0,60 ± 0,07</u>	<u>0,72</u>	23	<u>0,63 ± 0,05</u>	<u>0,72</u>	<u>44</u>
<b>20 Ω</b>	1,11						
<b>10 Ω</b>	2,22				0,92 ± 0,05	1,04	31
	M	1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	M	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
<b>100 Ω</b>	0,22						
<b>75 Ω</b>	0,30						
<b>50 Ω</b>	0,44	0,33 ± 0,03	0,37	10			
<b>35 Ω</b>	0,65	0,52 ± 0,01	0,54	36			
<b>25 Ω</b>	0,89	0,69 ± 0,06	0,81	87	0,69 ± 0,03	0,75	73
<b>20 Ω</b>	1,11				0,75 ± 0,05	0,88	88
<b>10 Ω</b>	2,22						

De maximale stroomproductie bedroeg met andere woorden 1,04 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>, wat overeenkwam met 30 mA. Als een gelijke externe weerstand van 25 ohm beschouwd wordt, dan wordt duidelijk dat een verhoging van de belasting geen proportioneel effect had op de stroomproductie. Er werd een plateau bereikt dat niet tot de stroomproductie reikte die bij een celspanning, gelijk aan een open kringpotentiaal van 0,650 V, kon behaald worden (Fig. III.6). Bij 50 ohm daalde de gemiddelde stroomproductie zelfs lichtjes als de belasting van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> naar 1,60 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> verhoogd werd. Statistische analyse bracht aan het licht dat de verdeling van data niet normaal verdeeld was (*Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %) en dat er een positieve *skewness* was. De data vertoonden met andere woorden een staart naar hogere waarden. Bijgevolg kon er geen *two-sample-t-test* uitgevoerd worden. Een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau) werd hierna op toegepast, aangezien deze test geen normale distributie vereist. Deze test aanvaardde de nulhypothese dat beide

datareeksen uit dezelfde distributie kwamen. De daling van de stroomproductie bij een toename van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  naar  $1,60 \text{ kg CZV m}^{-3}$  was met andere woorden niet significant. Voor de geteste parameters werd dus nergens een significant lagere stroomproductie vastgesteld door het verhogen van de belasting.



**Fig. III.6 Het effect van het variëren van de influentbelasting op de stroomproductie bij een gelijke externe weerstand van 25 ohm (a: de theoretisch maximale stroomproductie gebaseerd op een open kring potentiaal van 0,650 V ; b: de gerealiseerde gemiddelde stroomproductie met standaardafwijking ; 0,21 L NAC)**

Ladingen die niet via het circuit stroomden en ook niet als CZV-effluent teruggevonden werden, konden als verliezen bestempeld worden. Het verschil tussen de influentconcentratie en de effluentconcentratie aan CZV werd omgerekend tot een belasting om vergelijking met de inkomende belasting en stroomproductie mogelijk te maken (Tabel III.3).

Er kon niet steeds een eenduidige link tussen de CZV-verwijdering en de externe weerstand gevonden worden uit deze beperkte dataset, al leek de CZV-verwijdering hoger bij een lage externe weerstand. De hoogste belasting resulteerde, ondanks een hogere absolute verwijdering niet in de hoogste procentuele CZV-verwijdering. Bij de laagste belasting ( $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC}$ ) was de CZV-verwijdering lager dan de stroomproductie. Deze lage belasting werd immers voorafgegaan door een hogere belasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  zodat er sprake kon zijn van nawerking en uitspoeling van organisch materiaal dat gevormd werd bij een hogere belasting.

**Tabel III.3 De gemiddelde hoeveelheid verwijderde CZV met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt als een belasting ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ), de procentuele verwijderingsefficiëntie en het aantal CZV-metingen (#) waarbij de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden ( $0,21 \text{ L NAC}$ )**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	x ± s	%	#	x ± s	%	#	x ± s	%	#	x ± s	%	#
<b>100 Ω</b>				<u>0,41 ± 0,14</u>	<u>39</u>	<u>3</u>						
<b>75 Ω</b>				<u>0,41 ± 0,11</u>	<u>39</u>	<u>2</u>						
<b>50 Ω</b>	0,23 ± 0,17	43	4	<u>0,72 ± 0,10</u>	<u>67</u>	<u>6</u>	1,37	86	1			
<b>35 Ω</b>							1,04 ± 0,36	65	2			
<b>25 Ω</b>	0,15	29	1	<u>0,69 ± 0,07</u>	<u>65</u>	<u>3</u>	1,00 ± 0,24	63	4	1,16 ± 0,28	44	3
<b>20 Ω</b>										1,25 ± 1,09	47	4
<b>10 Ω</b>				0,96 ± 0,04	90	3						

Van de hoeveelheid CZV in het effluent bestond er een zekere fractie uit vluchtige vetzuren (VFA). Dit bleek voor  $90 \pm 6 \%$  uit acetaat te bestaan met een maximale concentratie van  $138 \text{ mg acetaat L}^{-1}$ . De concentratie aan propionzuur, isoboterzuur en boterzuur in het effluent varieerde respectievelijk tussen 0 en  $3 \text{ mg L}^{-1}$ , tussen 0 en  $7 \text{ mg L}^{-1}$  en tussen 0 en  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , waardoor deze vetzuren buiten beschouwing gehouden werden. Om de vergelijking met andere parameters mogelijk te maken, wordt deze vetzurenvorming in Tabel III.4 uitgedrukt als een belasting. Een groot aantal stalen kon niet geanalyseerd worden omwille van technische problemen met het meettoestel.

**Tabel III.4 De gemiddelde toename aan vluchtige vetzuren met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt als een belasting aan vluchtige vetzuren ( $\text{kg CZV-VFA m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) voor een wisselende externe belasting en influentbelasting ( $0,21 \text{ L NAC}$ )**

	1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	
	x ± s	#	x ± s	#	x ± s	#
<b>100 Ω</b>	<u>0,36</u>	<u>1</u>				
<b>50 Ω</b>	<u>0,03</u>	<u>1</u>				
<b>25 Ω</b>	<u>0,11</u>	<u>1</u>	0,09 ± 0,11	4	0,07 ± 0,02	2
<b>20 Ω</b>					0,03 ± 0,04	6

Op basis van deze beperkte datareeks kon afgeleid worden dat lagere externe weerstanden lagere concentraties vluchtige vetzuren opleverden.

Bij de onderlijnde metingen gebeurde de substraattoediening van glucose nog niet met een spuit waardoor er een bepaalde concentratie aan vluchtige vetzuren in het influent voorkwam:  $44 \pm 24 \text{ mg CZV L}^{-1}$  ( $0,15 \pm 0,08 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ; N = 3). Toediening van glucose met een spuit verminderde de concentratie aan vluchtige vetzuren in het influent tot  $2 \pm 2 \text{ mg CZV L}^{-1}$  ( $0,01 \pm 0,01 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ; N = 3).



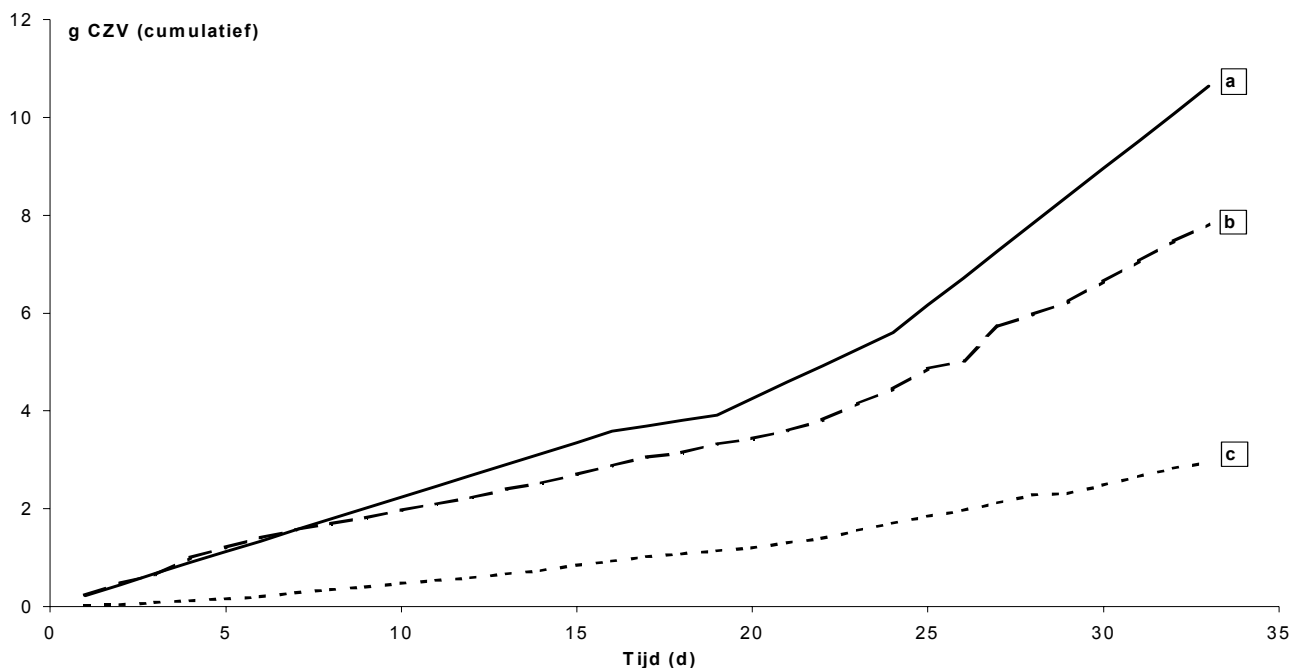
### 3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen

Als de hoeveelheid geproduceerde stroom (Tabel III.2) van de hoeveelheid verwijderde CZV (Tabel III.3) afgetrokken werd, kon er een inschatting van verliezen gemaakt worden (Tabel III.5). De cursieve waarden werden voor tenminste één van de parameters (stroomproductie en effluentconcentraties) bekomen op slechts één reactor.

**Tabel III.5 Een overzicht van de verliezen (V) uitgedrukt als een belasting (kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>) en als percentage van de influentbelasting (%) voor een wisselende externe weerstand en influentbelasting (0,21 L NAC)**

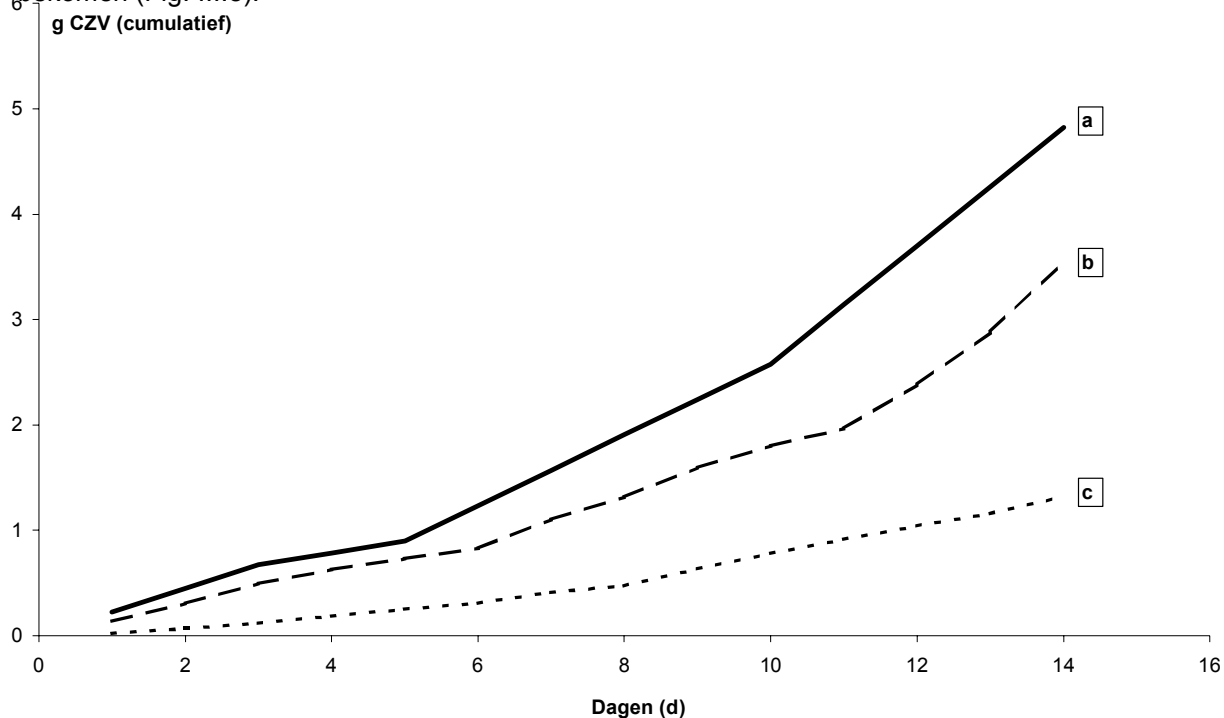
	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>	
	V	%	V	%	V	%	V	%
<b>100 Ω</b>			<u>0,26</u>	<u>24</u>				
<b>75 Ω</b>			<u>0,18</u>	<u>17</u>				
<b>50 Ω</b>	-0,08	/	<u>0,37</u>	<u>34</u>	1,04	65		
<b>35 Ω</b>					0,52	33		
<b>25 Ω</b>	-0,45	/	<u>0,06</u>	<u>5</u>	0,31	19	0,48	18
<b>20 Ω</b>							0,50	19
<b>10 Ω</b>			0,04	4				

De cursieve waarden buiten beschouwing gelaten, kon er ruwweg gesteld worden dat de verliezen kleiner waren bij lagere externe weerstanden. Hogere belastingen genereerden, in deze beperkte dataset, ook grotere verliezen bij een gelijke externe weerstand (25 ohm). Het cumulatief samenbrengen van de influent-, effluent- en stroomwaarden (Fig. III.7) was een andere manier om de verliezen te minimaliseren.



**Fig. III.7 Een overzicht van de cumulatieve hoeveelheid influent (a), stroom (c) en stroom plus effluent (b) uitgedrukt in gram CZV van een reactor (0,21 L NAC)**

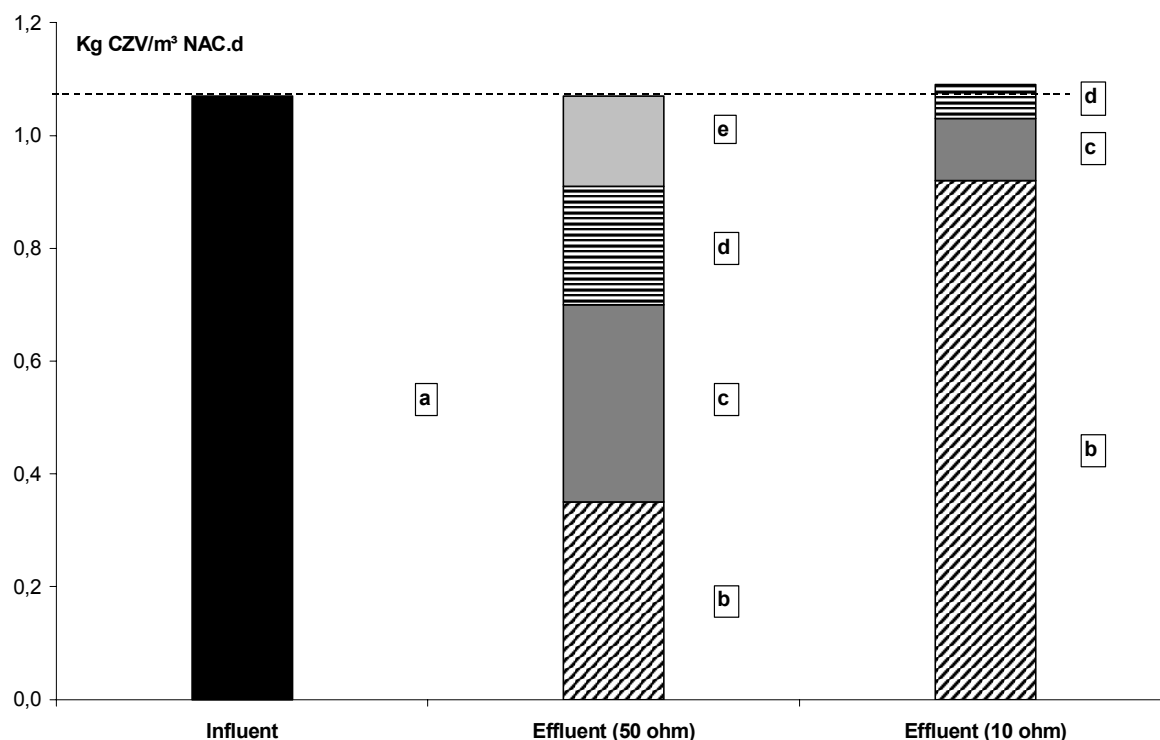
Aan de helling van de influentcurve is de overgang van de belasting duidelijk zichtbaar. Opeenvolgend werd er  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ;  $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ;  $1,60 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en  $2,67 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  toegediend aan de reactoren. Aan de zwakkere helling van de cumulatieve stroomproductie bij een hogere belasting wordt zichtbaar dat meer voeding toedienen zich niet evenredig omzette in een hogere stroomproductie. Wanneer de hoeveelheid CZV in het effluent gesuperponeerd wordt op de stroomproductie, dan wordt duidelijk hoe het verlies aan ladingen zich manifesteerde (a-b). Ook voor de andere reactor werd een gelijkaardig patroon bekomen (Fig. III.8).



**Fig. III.8 Een overzicht van de cumulatieve hoeveelheid influent (a), stroom (c) en stroom plus effluent (b) uitgedrukt in gram CZV van een reactor (0,21 L NAC)**

De reductie van sulfaat kon een deel van de bovenstaande verliezen verklaren als de gereduceerde zwavelverbindingen vervluchtigden. Bij een belasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  onder de vorm van glucose met een externe weerstand van 50 ohm werd een concentratiedaling van  $38 \text{ mg SO}_4\text{-S L}^{-1}$  naar  $7 \text{ mg SO}_4\text{-S L}^{-1}$  vastgesteld, wat omgerekend neerkwam op een maximaal verbruik van elektronen van  $0,21 \text{ kg CZV-S m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Dit was evenwel in het geval dat sulfaat volledig tot  $\text{H}_2\text{S}$  gereduceerd werd en het zonder enige oxidatie uit de reactor verdween. Fig. III.12 stelt deze situatie voor, al is het zo dat de opgeloste sulfiden worden meegerekend bij het effluent bij een CZV-meting. Sulfidenconcentraties en andere intermediären werden niet gemeten. De belasting, die nog aanwezig was in het effluent, bedroeg in deze situatie (50 ohm) gemiddeld  $0,35 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Met een gemiddelde stroomproductie van  $0,35 \text{ kg CZV-stroom m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  betekende dit dat, zelfs als de sulfaatverwijdering volledig omwille van afgevoerde, gereduceerde zwavelverbindingen zou verklaard werd, er nog ongeveer  $0,16 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  verlies overbleef.

Bij een belasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en een externe weerstand van 10 ohm werd er maximaal  $0,06 \pm 0,04 \text{ CZV-S m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  door sulfaatreductie verwijderd uit het influent. De stroomproductie bedroeg gemiddeld  $0,92 \text{ kg CZV-stroom m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en in het effluent was er nog voor  $0,11 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  aanwezig (Fig. III.9).



**Fig. III.9** Een overzicht van de bestemming van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  onder de vorm van glucose (a) bij zowel 50 als 10 ohm: stroomproductie (b), uitspoeling via het effluent (c), sulfaatreductie (d) en andere verliezen (e) ( $0,21 \text{ L NAC}$ )

Een bepaling van de sulfaatconcentratie bij een belasting van  $2,67 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en 20 ohm bracht een sulfaatverwijdering van  $0,21 \pm 0,01 \text{ CZV-S m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  aan het licht. Hierbij werd gemiddeld een stroomproductie van  $0,75 \text{ kg CZV-stroom m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  verkregen en een uitspoeling van  $1,42 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Als sulfaatverwijdering volledig in rekening kon gebracht worden als een verlies, dan bleef er van de  $0,50 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  verlies nog  $0,29 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  verlies over dat ergens anders aan toe te schrijven viel, bijvoorbeeld aangroei van biomassa.

#### 4 Energetische opbrengsten met glucose als substraat

De energetisch efficiëntie drukt uit hoeveel er van de chemische energie die ingebracht wordt onder de vorm van glucose via het elektrisch circuit kan gewonnen worden. Het effect van het variëren van de influentbelasting en de externe weerstand op deze energetische efficiëntie wordt weergegeven in Tabel III.6. Er werd gerekend met  $4,168 \text{ kWh kg}^{-1} \text{ CZV}$  ( $15,0 \text{ kJ g}^{-1} \text{ CZV}$ ). Als de open kring potentiaal ( $0,650 \text{ V}$ ) als theoretisch maximale spanning aanzien wordt, dan legt deze externe weerstand limitaties op aan de energetische efficiëntie (Fig. III.10).

Tabel III.6 De gemiddelde procentuele energetische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal bekomen procentuele energetische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,21 L NAC)

	0,53 kg CZV m <sup>3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,60 kg CZV m <sup>3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h
<b>100 Ω</b>				<u>6 ± 1</u>	<u>10</u>	<u>76</u>						
<b>75 Ω</b>				<u>9 ± 1</u>	<u>12</u>	<u>88</u>						
<b>50 Ω</b>	22 ± 5	35	111	<u>14 ± 2</u>	<u>16</u>	<u>152</u>	8 ± 2	10	10			
<b>35 Ω</b>							13 ± 3	15	36			
<b>25 Ω</b>	40 ± 9	58	23	<u>22 ± 3</u>	<u>28</u>	<u>44</u>	18 ± 3	24	87	10 ± 1	13	73
<b>20 Ω</b>										10 ± 2	14	88
<b>10 Ω</b>				19 ± 2	24	31						

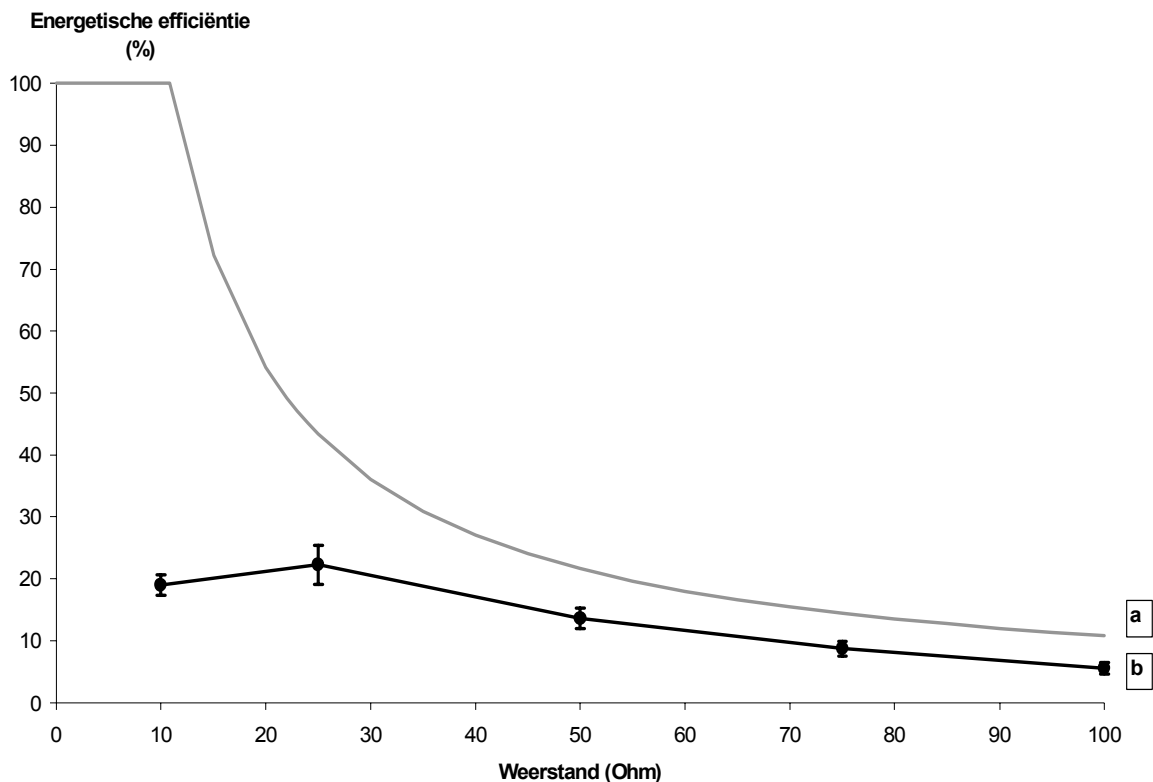


Fig. III.10 De maximale procentuele energetische efficiëntie (a), volgens een theoretisch maximale celspanning van 0,650 V, en de gemiddelde procentuele energetische efficiëntie met standaardafwijking (b) die behaald werd bij een belasting van 1,07 kg CZV m<sup>3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (0,21 L NAC)

De energetische efficiëntie daalde met een hogere influentbelasting. Het verlagen van de externe weerstand deed de energetische efficiëntie doorgaans toenemen. Mogelijks werd er een plateau bereikt alhoewel een daling van de energetische efficiëntie bij lage weerstanden ook niet uit te sluiten viel. In Tabel III.7 wordt het geproduceerde vermogen absoluut uitgedrukt.

**Tabel III.7 Het gemiddelde geproduceerde vermogen (Watt m<sup>-3</sup> NAC) met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), het maximaal geproduceerde vermogen (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met het theoretisch maximaal haalbare vermogen (M) (bij een open kringpotentiaal van 0,650 V)**

		0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,60 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	M	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
<b>100 Ω</b>	20				<u>10 ± 2</u>	<u>18</u>	<u>76</u>						
<b>75 Ω</b>	27				<u>16 ± 2</u>	<u>22</u>	<u>88</u>						
<b>50 Ω</b>	40	20 ± 4	32	111	<u>25 ± 3</u>	<u>30</u>	<u>152</u>	23 ± 4	28	10			
<b>35 Ω</b>	57							35 ± 9	42	36			
<b>25 Ω</b>	80	37 ± 8	54	23	<u>41 ± 6</u>	<u>52</u>	<u>44</u>	49 ± 8	66	87	48 ± 4	58	73
<b>20 Ω</b>	101										44 ± 9	63	88
<b>10 Ω</b>	201				35 ± 3	44	31						

Er werd een statistische toets uitgevoerd om na te gaan of het vermogen bij 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> significant daalde door de weerstand van 25 naar 10 ohm te verlagen. Beide datasets bleken normaal verdeeld te zijn volgens de *Kolmogorov-Smirnov-test* (significantieniveau: 5 %). Er bleek een gelijkheid van variantie te bestaan (homoscedasticiteit) volgens de *modified-Levene-test* (5 % significantieniveau). Hierbij waren de randvoorwaarden voldaan om een *two-sample-t-test* (5 % significantieniveau) uit te voeren. Deze toonde aan dat beide distributies significant verschilden. Een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau) toonde ook aan dat beide distributies significant verschilden. Er was met andere woorden een optimale externe weerstand voor energieproductie voor deze omstandigheden. Bij een influentbelasting van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> benaderde 25 ohm het beste deze optimale weerstand.

## 5 Invloed van de belasting op de pH

Op elk moment was de pH van het influent  $7,0 \pm 0,1$  (N = 18). Gedurende de testen met influentbelastingen 0,53 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>, 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> en 1,60 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> bedroeg de pH van het effluent  $6,7 \pm 0,1$  (N = 23). Toen de influentbelasting verhoogd werd tot 2,67 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> daalde de pH tot  $5,6 \pm 0,4$  (N = 8). De pH van de gebufferde katholietoplossing bedroeg steeds  $7,1 \pm 0,1$  (N = 12).

## 6 Ammoniumverwijdering

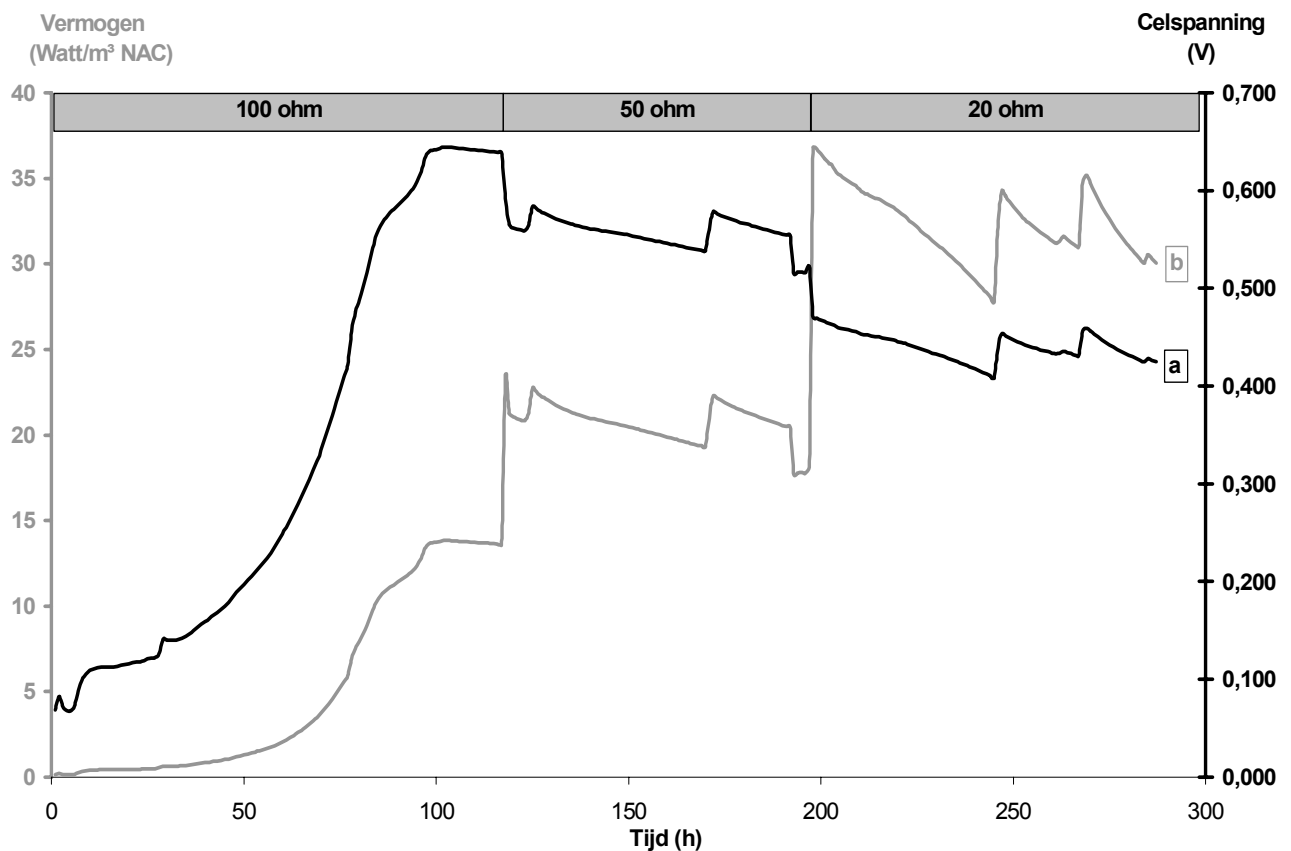
In de M9-oplossing werd er in het begin van de test 262 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> opgelost. Bij staalname van het influent en het effluent bleek de concentratie respectievelijk  $173 \pm 6$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> (N = 3) en  $112 \pm 16$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> (N = 5) te bedragen. Later werd er 50 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> opgelost in de M9-vloeistof. Metingen van het influent en het effluent brachten respectievelijk een concentratie van  $36 \pm 8$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> (N = 7) en  $9 \pm 7$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N L<sup>-1</sup> (N = 15) aan het licht. Er werd geen nitraat en nitriet vastgesteld in het influent noch het effluent.

## Hoofdstuk 3

### Microbiële brandstofcellen gevoed met acetaat

#### 1 De opstart van de reactoren

Na de testen met glucose werden de kleine reactoren (0,21 L NAC) gevoed met acetaat als elektrondonor. Een grotere reactor (0,30 L NAC) werd gebouwd, wat resulteerde in een hydraulische verblijftijd van 10 h. De reactor werd geïnoculeerd met het effluent van een actieve microbiële brandstofcel en het verloop is te volgen in Fig. III.11. Na 104 h werd een maximale celspanning van 0,644 V bekomen bij een externe weerstand van 100 ohm. Daarna werd deze weerstand gradueel verlaagd.



**Fig. III.11** Het verloop van de celspanning (a) en het geleverde vermogen (b) bij de opstart en na het gradueel verlagen van de weerstand van de grote reactor (0,30 L NAC)

Het verlagen van de externe weerstand deed het geleverde vermogen sterk stijgen. Variaties in de celspanning deden het geleverde vermogen proportioneel meer fluctueren dan bij lagere externe weerstanden.

## 2 Het effect van de belasting en de externe weerstand op het ladingstransport

De omzetting van chemisch gebonden elektronen in acetaatmoleculen naar het elektrisch circuit wordt het beste gerapporteerd met de coulometrische efficiëntie gebaseerd op de influentbelasting. In Tabel III.8 en Tabel III.9 worden deze efficiënties voor respectievelijk de twee kleine reactoren (0,21 L NAC) en de ene grote reactor (0,30 L NAC) weergegeven.

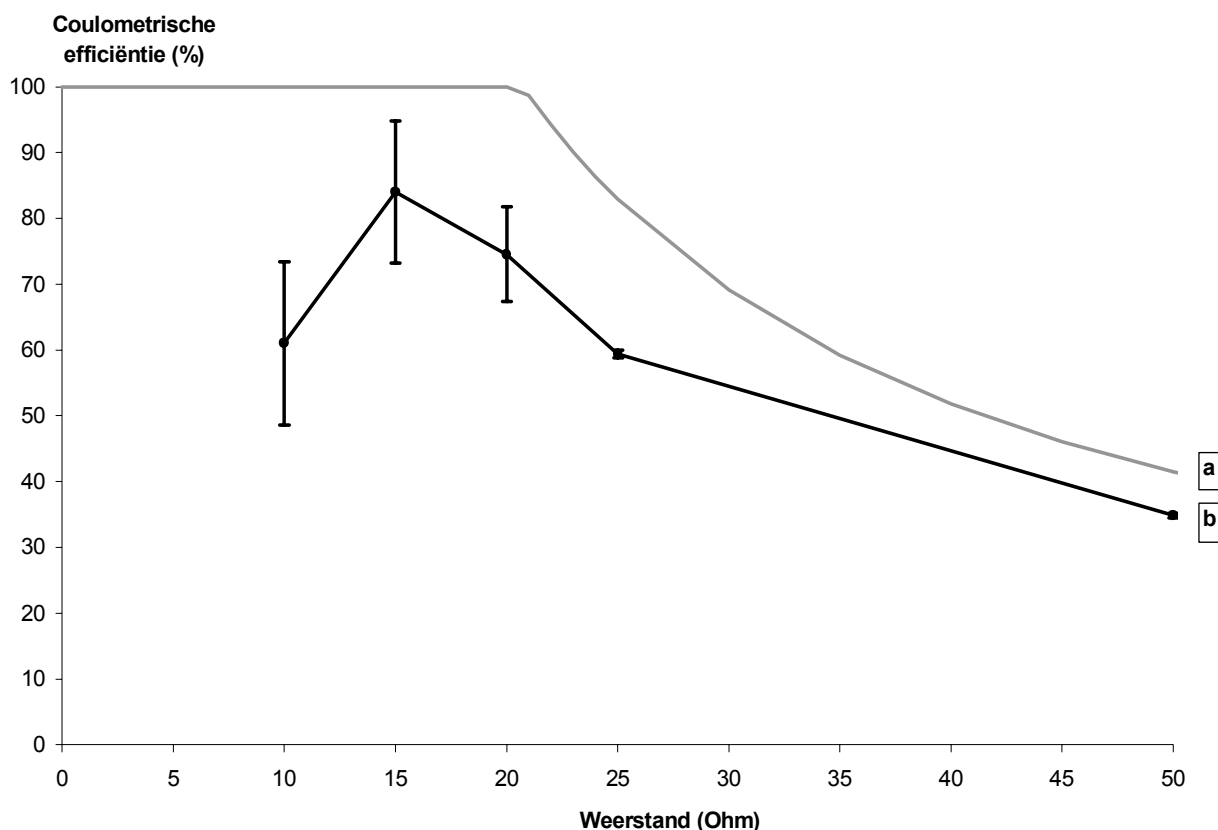
**Tabel III.8 De gemiddelde procentuele coulometrische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal behaalde procentuele coulometrische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,21 L NAC)**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h
<b>50 Ω</b>	40 ± 5	47	12	35 ± 0	38	32			
<b>25 Ω</b>	75 ± 5	83	32	59 ± 1	68	12			
<b>20 Ω</b>	59 ± 1	62	48	75 ± 7	98	758	36 ± 2	39	106
<b>15 Ω</b>				84 ± 11	105	325	37 ± 2	41	16
<b>10 Ω</b>	61 ± 3	69	64	61 ± 12	89	58	24 ± 0	25	45

**Tabel III.9 De gemiddelde procentuele coulometrische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal behaalde procentuele coulometrische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,30 L NAC)**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h	$x \pm s$ (%)	max. (%)	# h
<b>100 Ω</b>				13 ± 0	13	5						
<b>50 Ω</b>				26 ± 2	29	104						
<b>20 Ω</b>	54 ± 2	61	48	50 ± 4	57	276	31 ± 1	32	44	21 ± 1	24	199
<b>15 Ω</b>				72 ± 5	84	270	37 ± 2	39	47			
<b>10 Ω</b>	50 ± 5	71	67							35 ± 6	47	91

Doorgaans daalde de coulometrische efficiëntie met een hogere influentbelasting en een hogere externe weerstand. Er bleek een optimale weerstand te bestaan (Fig. III.12). De grote reactor presteerde minder goed dan de kleine reactoren.



**Fig. III.12** De maximale procentuele coulometrische efficiëntie (a), volgens een theoretisch maximale potentiaal van 0,650 V, en de gemiddelde procentuele coulometrische efficiëntie met standaardafwijking (b) die behaald werd bij een belasting van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (0,21 L NAC)

Het was zinvol om de stroomproductie absoluut uit te drukken om een vergelijking mogelijk te maken. Hierbij werd de stroom omgerekend in kg CZV-equivalenten per kubieke meter NAC per dag. In Tabel III.10 en Tabel III.11 worden deze waarden weergegeven in combinatie met de theoretisch maximale stroomproductie (M) als een open kringpotentiaal (OKP) van 0,650 V als maximale celspanning aanzien wordt.

**Tabel III.10** De gemiddelde stroomproductie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>, de maximaal bekomen stroom (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met de theoretisch maximaal haalbare stroom (M) (bij een OKP 0,650 V; 0,21 L NAC)

	M	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
		x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
<b>50 Ω</b>	0,44	0,21 ± 0,03	0,25	12	0,37 ± 0,00	0,41	32			
<b>25 Ω</b>	0,89	0,40 ± 0,03	0,44	32	0,63 ± 0,01	0,73	12			
<b>20 Ω</b>	1,11	0,32 ± 0,01	0,33	48	0,79 ± 0,08	1,05	758	0,77 ± 0,04	0,84	106
<b>15 Ω</b>	1,48				0,90 ± 0,12	1,12	325	0,79 ± 0,05	0,87	16
<b>10 Ω</b>	2,22	0,33 ± 0,02	0,37	64	0,65 ± 0,13	0,95	58	0,50 ± 0,01	0,53	45



Tabel III.11 De gemiddelde stroomproductie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>, de maximaal bekomen stroom (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met de theoretisch maximaal haalbare stroom (M) (bij een OKP 0,650 V; 0,30 L NAC)

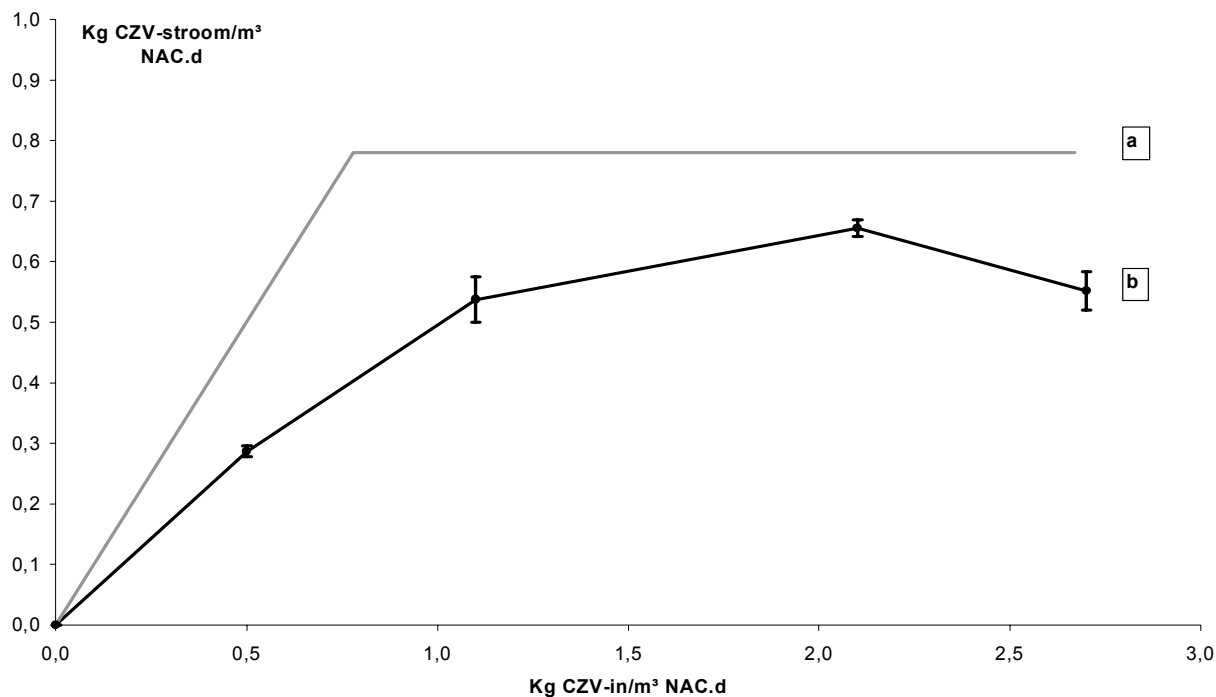
		0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	M	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
100 Ω	0,16				0,14 ± 0,00	0,14	5
50 Ω	0,31				0,27 ± 0,02	0,31	104
20 Ω	0,78	0,29 ± 0,01	0,32	48	0,54 ± 0,04	0,61	276
15 Ω	1,03				0,76 ± 0,06	0,90	270
10 Ω	1,55	0,27 ± 0,02	0,38	67			
		2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	M	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
100 Ω	0,16						
50 Ω	0,31						
20 Ω	0,78	0,66 ± 0,01	0,68	44	0,55 ± 0,03	0,63	199
15 Ω	1,03	0,79 ± 0,04	0,84	47			
10 Ω	1,55				0,92 ± 0,15	1,25	91

De daling in de stroomproductie die optrad bij de kleine reactoren (0,21 L NAC) bij 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> bij de overgang van 10 ohm naar 15 ohm was significant verschillend. Dit werd bekomen via een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau) aangezien de data niet normaal verdeeld waren (*Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %). Er bleek hier dus een optimale externe weerstand te zijn.

Er werd nagegaan of er een optimale belasting bestond bij de kleine reactoren (0,21 L NAC). Bij 20 ohm werd de stroomproductie op statistische significantie vergeleken voor influentbelastingen van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> en 2,14 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>. Aangezien één van de datareeksen niet normaal verdeeld bleek te zijn (*Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %), werd gebruik gemaakt van een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau). Hieruit bleek dat de stroomproducties niet significant verschilden. Er deed zich dus in deze dataset geen optimale belasting voor bij 20 ohm.

Bij de grote reactor werd de stroomproductie bij influentbelastingen van 2,14 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> en 2,67 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> vergeleken bij 20 ohm. Ook hier bleek één van de datareeksen niet normaal verdeeld te zijn (*Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %) waarna een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau) gehanteerd werd. Er werd besloten dat de stroomproducties significant verschilden. 2,14 Kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> was hier de meeste optimale belasting.

De invloed van een variërende influentbelasting op de stroomproductie bij 20 ohm wordt weergegeven in Fig. III.13.



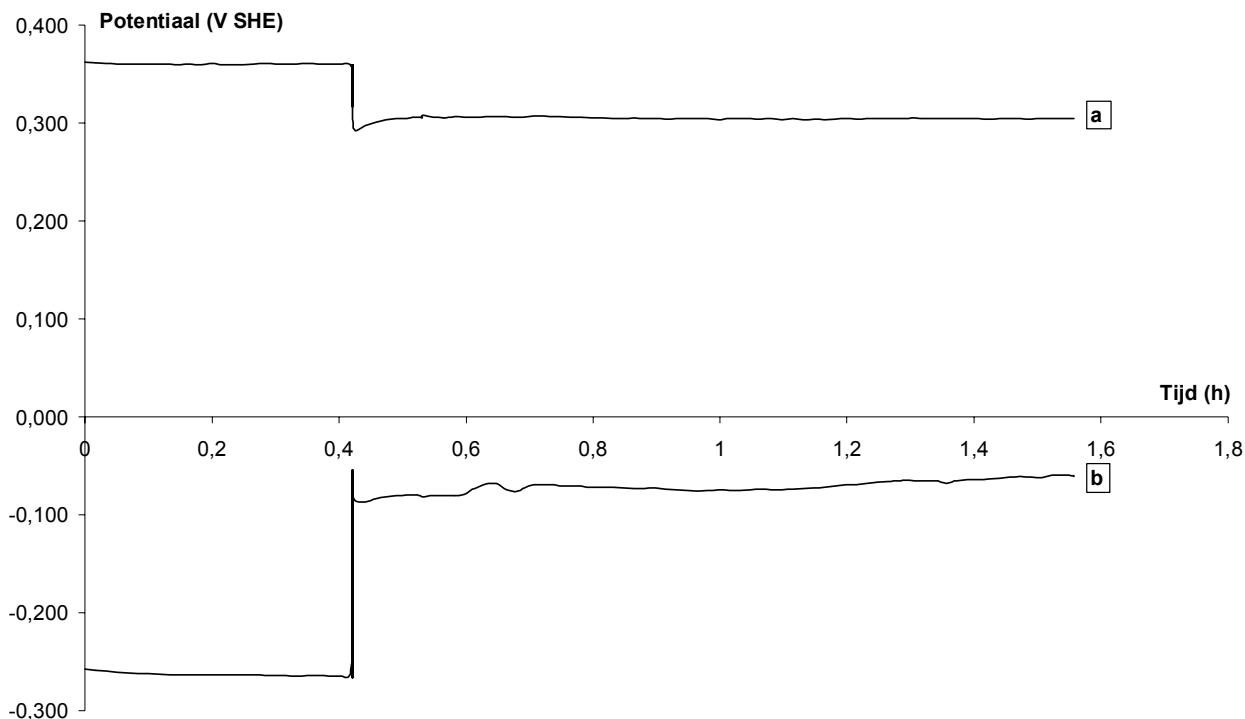
**Fig. III.13 Het effect van het variëren van de influentbelasting op de stroomproductie bij een gelijke externe weerstand van 20 ohm bij 0,30 L NAC (a: de theoretisch maximale stroomproductie gebaseerd op een open kring potentiaal van 0,650 V ; b: de gerealiseerde gemiddelde stroomproductie met standaardafwijking)**

De externe weerstand en de influentbelasting bleken invloed op de effluentkwaliteit te hebben. Er werd meer CZV verwijderd bij een lagere weerstand. Het verschil in concentratie aan CZV tussen het influent en het effluent werd omgerekend in kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (Tabel III.12). Van de grote reactor (0,30 L NAC) werd de effluentkwaliteit slechts in één geval bepaald. Zo werd er bij een externe weerstand van 50 ohm en een influentbelasting van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> een verwijdering van 0,61 ± 0,02 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> vastgesteld.

**Tabel III.12 De gemiddelde hoeveelheid verwijderde CZV met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt als een belasting (kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>), de procentuele verwijderingsefficiëntie en het aantal CZV-metingen (#) waarbij de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,21 L NAC)**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	$x \pm s$	%	#	$x \pm s$	%	#
<b>50 Ω</b>	0,40 ± 0,02	75	2	0,65 ± 0,23	61	2
<b>25 Ω</b>	0,40 ± 0,07	75	2	0,70 ± 0,05	65	2
<b>20 Ω</b>				0,87 ± 0,08	81	6
<b>15 Ω</b>				0,97 ± 0,04	91	2

Er werd met behulp van een potentiostaat nagegaan hoe de potentiaal van de anode en de kathode veranderde door de overgang van een open kring naar 10 ohm (Fig. III.14). De belasting bedroeg hier 2,67 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> en de test gebeurde op de grote reactor (0,30 L NAC).



**Fig. III.14** Het verloop van de potentiaal van de kathode (a) en de anode (b) bij het veranderen van een open kring naar een externe weerstand van 10 ohm

Dit sluiten van de elektrische kring resulteerde in een spanningsval. Het was vooral ter hoogte van de anode dat dit gerealiseerd werd, al daalde de kathodepotentiaal ook significant.

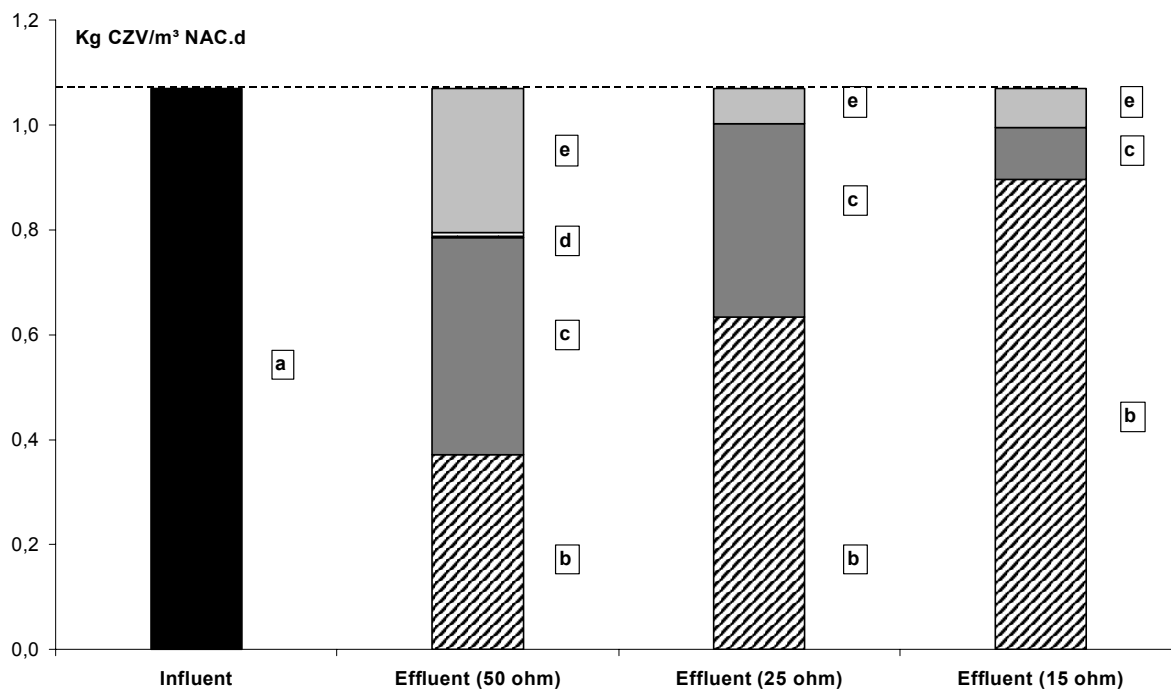
### 3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen

Als de hoeveelheid geproduceerde stroom (Tabel III.10) van de verwijderde hoeveelheid CZV (Tabel III.12) afgetrokken werd, kon een inschatting van de verliezen gemaakt worden. Deze fractie wordt weergegeven in Tabel III.13.

**Tabel III.13** Een overzicht van de verliezen (V) uitgedrukt als een belasting ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) en als percentage van de influentbelasting (%) voor een wisselende externe weerstand en influentbelasting

	0,53 kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$		1,07 kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$	
	V	%	V	%
<b>50 <math>\Omega</math></b>	0,19	35	0,28	26
<b>25 <math>\Omega</math></b>	0,00	0	0,06	6
<b>20 <math>\Omega</math></b>			0,07	7
<b>15 <math>\Omega</math></b>			0,07	7

Sulfaatreductie had een hoeveelheid van dit verlies kunnen uitmaken, maar er werd maximaal 3 % van de ingebrachte hoeveelheid sulfaat verwijderd. Als verondersteld wordt dat dit volledig in  $H_2S$  omgezet werd, dan bedroeg dit omgerekend, om een vergelijking mogelijk maken, maximaal  $0,01 \text{ kg CZV-S m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  in het geval van 50 ohm (Fig. III.15). Bij lagere externe weerstanden was deze hoeveelheid sulfaatverwijdering nog lager. In enkele gevallen werd een hogere sulfaatconcentratie aangetroffen in het effluent. De stijging betrof maximaal 2 %.



**Fig. III.15 Een overzicht van de bestemming van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  onder de vorm van acetaat (a) bij 50, 25 en 10 ohm: stroomproductie (b), uitspoeling via het effluent (c), sulfaatreductie (d) en andere verliezen (e)**

Accumulatie van organisch materiaal was een andere mogelijkheid om de verliezen te verklaren. Korrels die gebruikt werden in reactoren met afvalwater als substraat werden op een zeef gespoeld met water. Hierna werden deze korrels opnieuw in de reactoren gebracht om testen met acetaat op uit te voeren. Na 14 dagen testen werd opnieuw bepaald hoeveel organisch materiaal er zich in de reactoren bevond. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.14. Het werd duidelijk dat er niet direct sprake was van accumulatie.

**Tabel III. 14 Een overzicht van de hoeveelheid organisch materiaal per gram natte korrels (N = 2)**

	mg CZV g <sup>-1</sup> natte korrels	mg TSS g <sup>-1</sup> natte korrels	mg VSS g <sup>-1</sup> natte korrels
Start	$1,52 \pm 1,39$	$1,17 \pm 0,50$	$0,93 \pm 0,33$
Einde	$0,91 \pm 0,19$	$0,86 \pm 0,10$	$0,73 \pm 0,05$

#### 4 Energetische opbrengsten met acetaat als substraat

De energetisch efficiëntie drukt uit welke fractie van de chemische energie die ingebracht wordt, er via het elektrisch circuit kan gewonnen worden. Het effect van het variëren van de influentbelasting en de externe weerstand op deze energetische efficiëntie wordt weergegeven in Tabel III.15 en Tabel III.16. Er werd gerekend met  $3,675 \text{ kWh kg}^{-1} \text{ CZV}$  ( $13,2 \text{ kJ g}^{-1} \text{ CZV}$ ).

**Tabel III.15 De gemiddelde procentuele energetische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal bekomen procentuele energetische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,21 L NAC)**

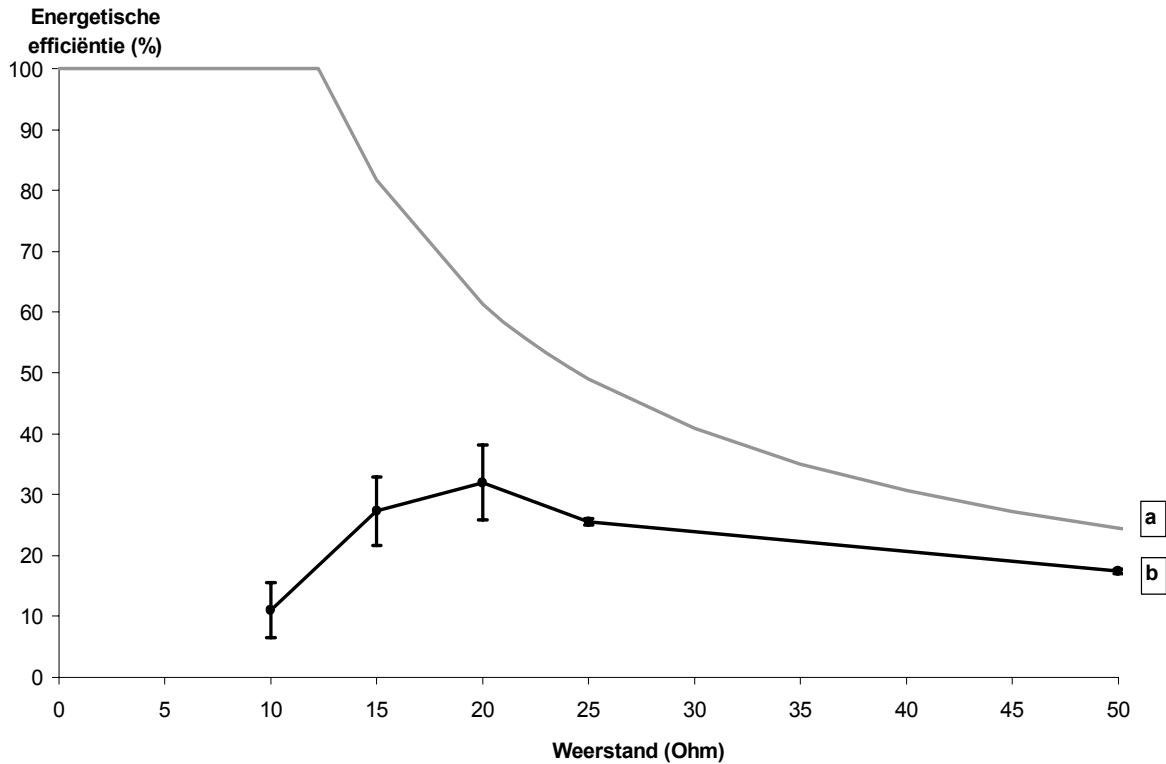
	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	x ± s (%)	max. (%)	# h	x ± s (%)	max. (%)	# h	x ± s (%)	max. (%)	# h
<b>50 Ω</b>	12 ± 3	14	12	17 ± 0	21	32			
<b>25 Ω</b>	20 ± 3	25	32	26 ± 1	33	12			
<b>20 Ω</b>	10 ± 0	11	48	32 ± 6	55	758	15 ± 2	18	106
<b>15 Ω</b>				31 ± 8	47	325	12 ± 1	14	16
<b>10 Ω</b>	5 ± 1	7	64	11 ± 5	23	58	3 ± 0	3	45

**Tabel III.16 De gemiddelde procentuele energetische efficiëntie met standaardafwijking ( $x \pm s$ ), de maximaal bekomen procentuele energetische efficiëntie (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden (0,30 L NAC)**

	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,67 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
	x ± s (%)	max. (%)	# h	x ± s (%)	max. (%)	# h	x ± s (%)	max. (%)	# h	x ± s (%)	max. (%)	# h
<b>100 Ω</b>				7 ± 0	7	5						
<b>50 Ω</b>				12 ± 2	14	104						
<b>25 Ω</b>												
<b>20 Ω</b>	12 ± 1	15	48	21 ± 3	26	276	15 ± 1	17	44	9 ± 1	11	199
<b>15 Ω</b>				31 ± 5	43	270	17 ± 2	19	47			
<b>10 Ω</b>	5 ± 1	10	67							12 ± 4	22	91

Het variëren van de influentbelasting en de externe weerstand bracht een optimum aan het licht. Voor de kleine reactoren (0,21 L NAC) werden de beste resultaten behaald bij 15 - 20 ohm en  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . De grote reactor (0,30 L NAC) leek bij 15 ohm en  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  een optimale efficiëntie te behalen, al werd niet nagegaan wat het effect bij 10 ohm was.

Als de open kring potentiaal (0,650 V) als theoretisch maximale celspanning aanzien wordt, dan legt deze externe weerstand limitaties op aan de energetische efficiëntie (Fig. III.16).



**Fig. III.16** De maximale procentuele energetische efficiëntie (a), volgens een theoretisch maximale celspanning van 0,650 V, en de gemiddelde procentuele energetische efficiëntie met standaardafwijking (b) die behaald werd bij een belasting van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (0,21 L NAC)

Het is verder zinvol deze energieproductie ook absoluut te bekijken. De geproduceerde vermogens worden uitgedrukt per kubieke meter vloeistofinhoud (NAC) om vergelijkingen met andere configuraties mogelijk te maken (Tabel III.17 en Tabel III.18).

**Tabel III.17** Het gemiddelde geproduceerde vermogen met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt in Watt m<sup>-3</sup> NAC, het maximaal geproduceerde vermogen (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met het theoretisch maximaal haalbare vermogen (M) (bij een open kringpotentiaal van 0,650 V; 0,21 L NAC)

	M	0,53 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>			2,14 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>		
		x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h	x ± s	max.	# h
<b>50 Ω</b>	40	9 ± 2	11	12	28 ± 1	34	32			
<b>25 Ω</b>	80	16 ± 2	20	32	42 ± 1	54	12			
<b>20 Ω</b>	101	8 ± 0	9	48	52 ± 10	90	758	49 ± 5	58	106
<b>15 Ω</b>	134				50 ± 13	77	325	39 ± 4	46	16
<b>10 Ω</b>	201	4 ± 0	6	64	18 ± 7	37	58	10 ± 0	11	45

**Tabel III.18 Het gemiddelde geproduceerde vermogen met standaardafwijking ( $x \pm s$ ) uitgedrukt in Watt  $m^{-3}$  NAC, het maximaal geproduceerde vermogen (max.) en het aantal uren (# h) dat de omstandigheden van influentbelasting en weerstand golden, kunnen vergeleken worden met het theoretisch maximaal haalbare vermogen (M) (bij een open kringpotentiaal van 0,650 V; 0,30 L NAC)**

	M	0,53 kg CZV $m^{-3}$ NAC $d^{-1}$			1,07 kg CZV $m^{-3}$ NAC $d^{-1}$			2,14 kg CZV $m^{-3}$ NAC $d^{-1}$			2,67 kg CZV $m^{-3}$ NAC $d^{-1}$		
		$x \pm s$	max.	# h	$x \pm s$	max.	# h	$x \pm s$	max.	# h	$x \pm s$	max.	# h
<b>100 <math>\Omega</math></b>	14				$12 \pm 0$	12	5						
<b>50 <math>\Omega</math></b>	28				$22 \pm 3$	28	104						
<b>25 <math>\Omega</math></b>	56												
<b>20 <math>\Omega</math></b>	70	$10 \pm 1$	12	48	$34 \pm 5$	43	276	$50 \pm 2$	55	44	$36 \pm 4$	46	199
<b>15 <math>\Omega</math></b>	94				$51 \pm 7$	71	270	$54 \pm 5$	62	47			
<b>10 <math>\Omega</math></b>	141	$4 \pm 1$	9	67							$51 \pm 17$	91	91

Om na te gaan of er een optimale belasting was, werden 3 combinaties statistisch getest. Bij de kleine reactoren (0,21 L NAC) werd het geproduceerde vermogen vergeleken tussen 1,07 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  en 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bij zowel 20 ohm als 15 ohm. Bij de grote reactor werd het geproduceerde vermogen vergeleken tussen 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  en 2,67 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bij 20 ohm. Er werd steeds een *Wilcoxon two-sample-test* (5 % significantieniveau) gebruikt aangezien de data niet steeds normaal verdeeld waren (*Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %).

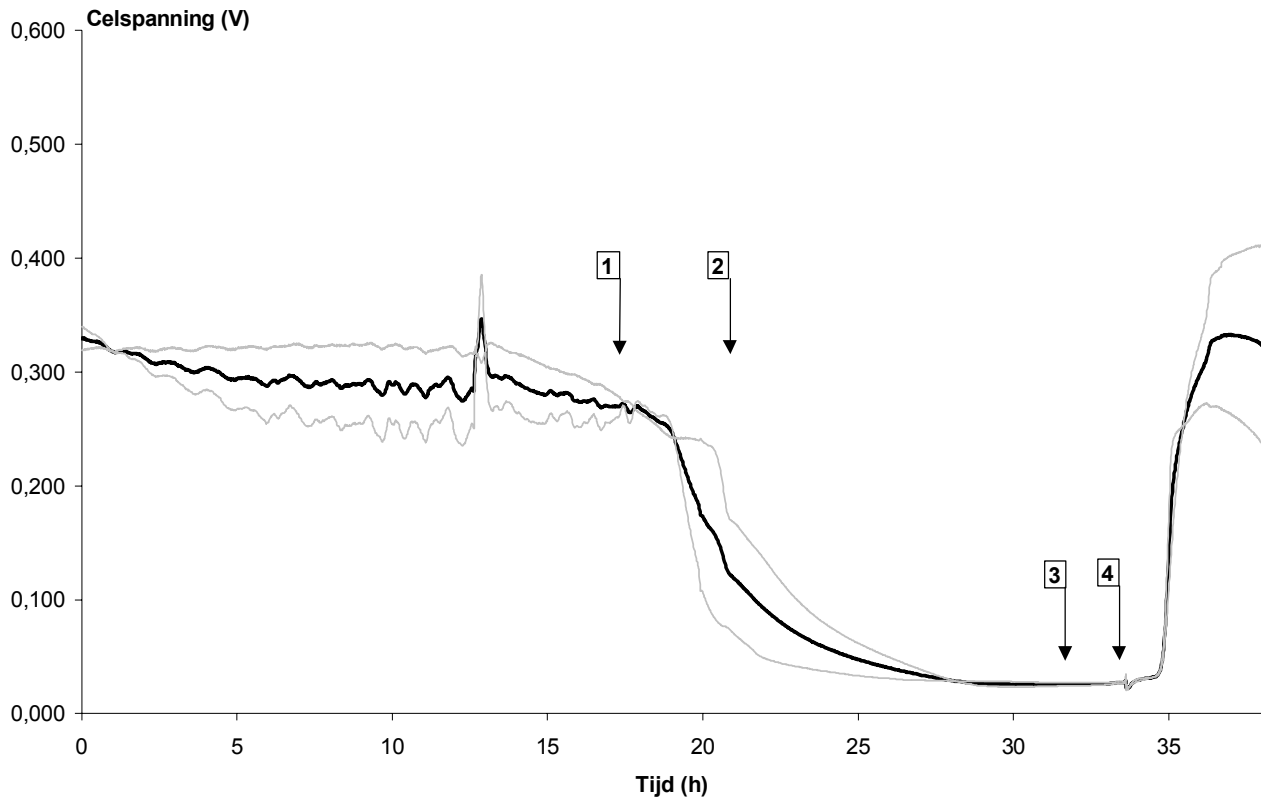
Het verhogen van de influentbelasting van 1,07 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  naar 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  leverde in de kleine reactoren geen significant verschil op in geproduceerd vermogen bij 20 ohm, maar wel bij 15 ohm. Bij de grote reactor was de overgang van 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  naar 2,67 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bij 20 ohm wel significant verschillend. Er kon dus besloten worden dat de combinatie van een bepaalde externe weerstand én belasting een optimaal vermogen kon leveren.

## 5 Invloed van de belasting op de pH

De pH van het influent bedroeg  $7,5 \pm 0,3$  (N = 11). Gedurende de testen met de kleine reactoren (0,21 L NAC) bedroeg de pH van het effluent  $6,5 \pm 0,4$  (N = 55). Er werd geen relatie gevonden tussen de pH van het effluent en de belasting tot 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  voor deze reactoren. Bij de grote reactor (0,30 L NAC) bedroeg de pH van het effluent  $6,5 \pm 0,4$  (N = 31) voor de belastingen 1,07 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ , 2,14 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  en 2,67 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ . Bij 0,53 kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bedroeg de pH van het effluent evenwel  $4,9 \pm 0,1$  (N = 6). Het katholiet werd gedurende de eerste dagen van de testen nog gebufferd met een fosfaatbuffer. De pH van het gebufferde katholiet bedroeg  $7,1 \pm 0,1$  (N = 9). Later werd deze buffer achterwege gelaten en fluctueerde de pH sterk:  $6,7 \pm 0,9$  (N = 29) (maximaal pH = 9,0). Er werd geen correlatie teruggevonden tussen de pH van het katholiet en de externe weerstand.

## 6 Onderzoek naar limiterende factoren

Er werd nagegaan welke componenten van de M9-oplossing er noodzakelijk waren om een goede performantie te verkrijgen. Met een externe weerstand van 15 ohm en een influentbelasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  werd eerst getest wat er als een controleniveau kon beschouwd worden. Nadien werd de M9-oplossing vervangen door gedestilleerd water (Fig. III.17 : 1). De toediening van acetaat bleef gedurende de gehele test dezelfde.

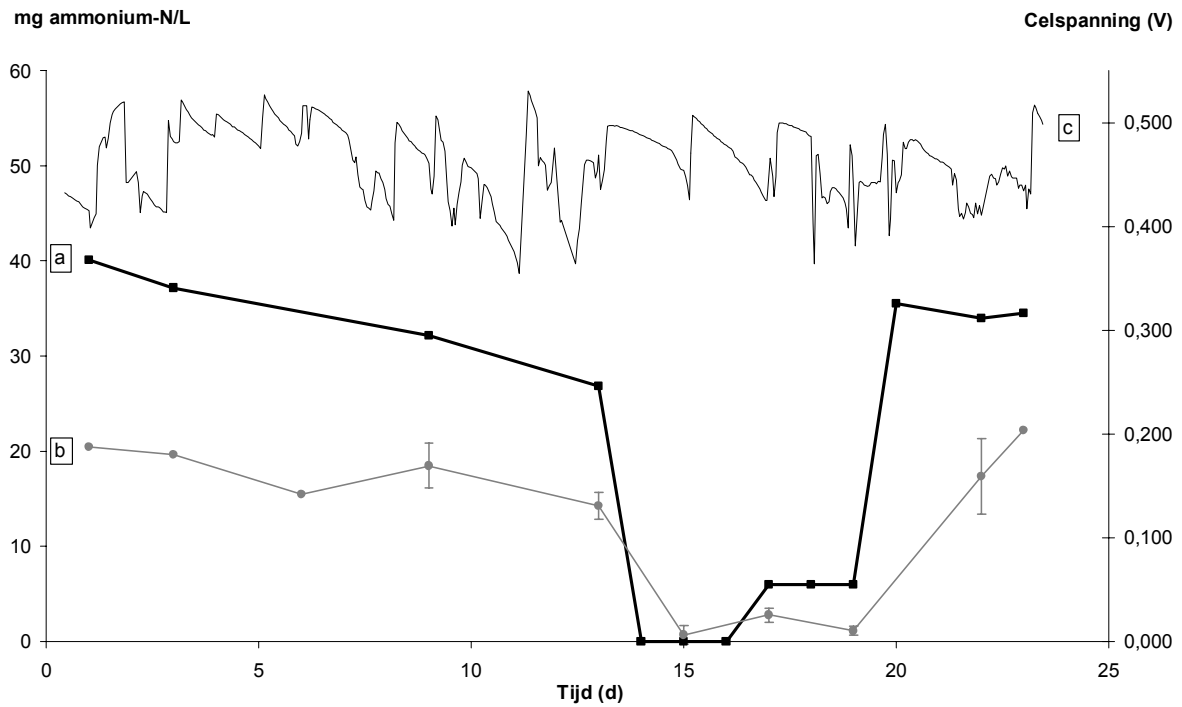


**Fig. III.17 De gemiddelde celspanning met standaardafwijking in functie van de tijd bij het toedienen van gedestilleerd water (1),  $\text{CaCl}_2$  samen met  $\text{MgSO}_4$  en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2),  $\text{NaCl}$  met een spooroplossing (3) en een fosfaatbuffer (4) ( $0,21 \text{ L NAC}$ )**

Na enkele uren begon deze celspanning snel te dalen. Toediening van  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$  en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  aan het desioniseerd water kon dit niet verhelpen (2). Later werd  $\text{NaCl}$  en een spooroplossing toegediend (3). Om op kortere termijn effect te bekomen werd er, naast toediening aan de onvolledige M9-oplossing, ook een bepaalde hoeveelheid van geïnjecteerd zodat de reactor direct aan de normale concentraties blootgesteld werd. Dit bleef echter zonder direct effect. Enkele uren later werd de fosfaatbuffer toegediend (zonder directe injectie) zodat een normale M9-oplossing bekomen werd. Een uur later steeg de celspanning naar het spanningsniveau dat voor de test bekomen werd.

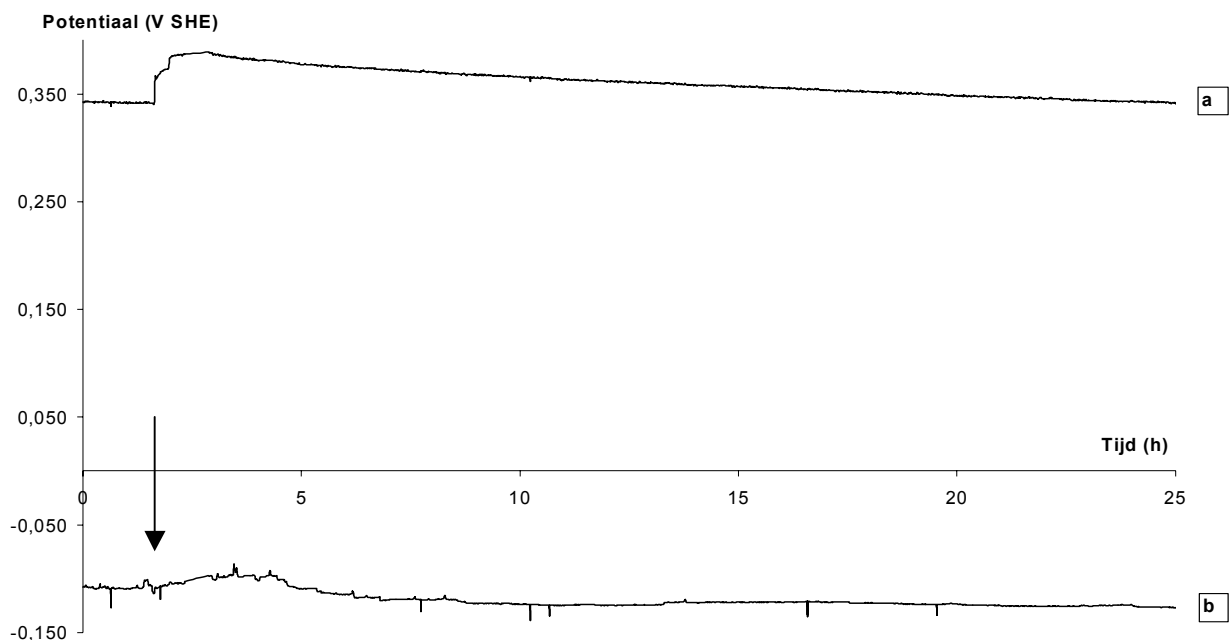
In een aparte test werd nagegaan of de ammoniumconcentratie een limiterende factor was. Met een externe weerstand van 20 ohm en een belasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  werd getest hoe de celspanning evolueerde bij een normale, geen (3 dagen) en een lage (3 dagen) toediening van ammoniumchloride. Het spanningsprofiel, evenals de ammoniumconcentraties, worden weergegeven in Fig. III.18.





**Fig. III.18** Het verloop van de ammoniumconcentratie van het influent (a) en het effluent (b), evenals de gemiddelde celspanning (c) (0,21 L NAC)

Het werd duidelijk dat de ammoniumconcentratie niet limiterend werkte als er enkele dagen geen input aan ammonium was. De fluctuatie in het spanningsverloop werd hoofdzakelijk bepaald door de versheid van het katholiet. Het katholiet werd doorgaans om de twee dagen verversd. In Fig. III.19 is zichtbaar dat het verversen van het katholiet zich vooral laat merken ter hoogte van de kathode.



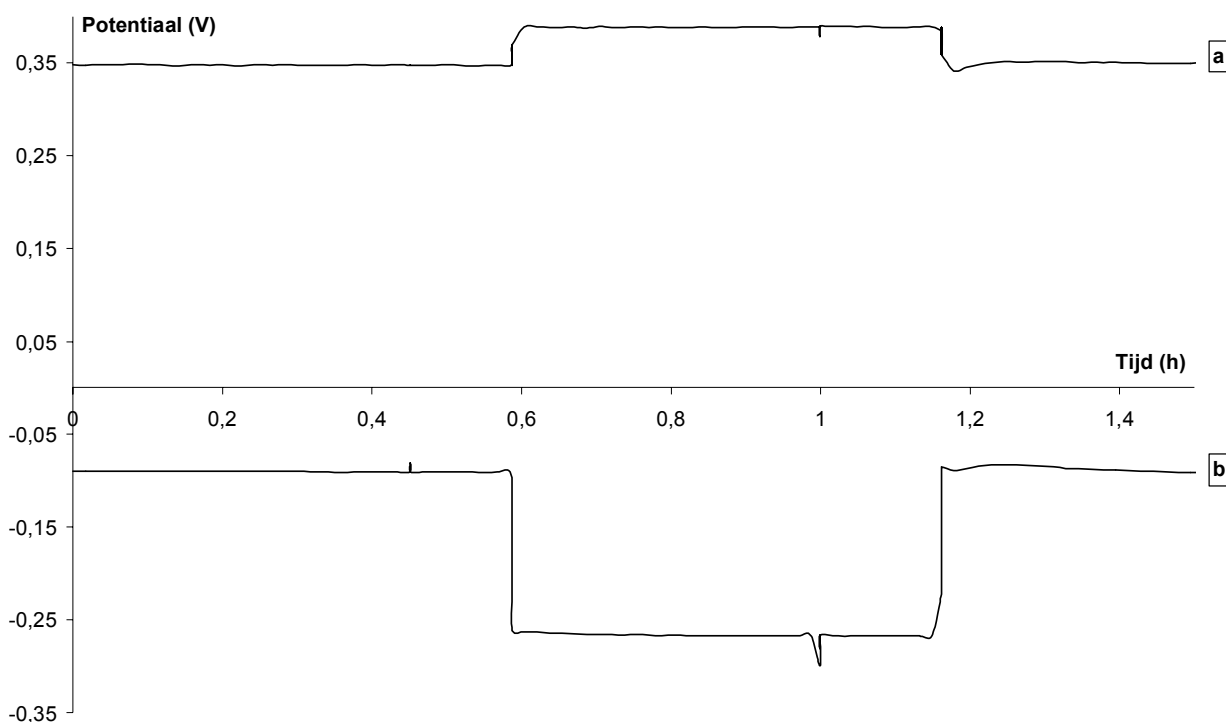
**Fig. III. 19** Het verloop van de potentiaal van de kathode (a) en de anode (b) bij het verversen van het katholiet op het tijdstip aangeduid door de pijl ( $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ;  $20 \text{ ohm}$ ;  $0,30 \text{ L NAC}$ )

## 7 Inschatting van de inwendige weerstand

Volgens een methode beschreven door He *et al.* [2005] was het mogelijk een inschatting te maken van de inwendige weerstand van de reactor. Daartoe werd de elektrische kring onderbroken en werden de potentialen in anode en kathode gemeten door een potentiostaat (Fig. III.20). De externe weerstand was bij een gesloten kring 20 ohm en de influentbelasting bleef 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>. De test werd uitgevoerd op de grote reactor (0,30 L NAC).

Bij een gesloten kring bedroeg de kathodepotentiaal + 0,347 V SHE en de anodepotentiaal - 0,090 V SHE. Dit kwam overeen met een stroomproductie van 22 mA. Bij het openen van de kring konden 2 fasen vastgesteld worden: een fase met een directe spanningstoename gevolgd door een fase met een vertraagde spanningstoename. Die eerste fase werd veroorzaakt door de inwendige weerstand en de trage fase door activatie overpotentialen. Bij het sluiten van de kring werd een gelijkaardig verloop vastgesteld.

In de kathode was er zo voor 0,022 V verlies aan inwendige weerstand en in de anode voor 0,129 V. Aangezien de stroom vóór de test 22 mA bedroeg, zou de inwendige weerstand volgens de formule van He *et al.* [2005]  $R_i = V_s \cdot I^{-1} = (0,022 + 0,129) \cdot (0,022)^{-1} = 7$  ohm bedragen ( $R_i$  = inwendige weerstand,  $V_s$  is het spanningsverschil veroorzaakt door de inwendige weerstand en  $I$  de stroomproductie vóór het verbreken van het elektrisch circuit).



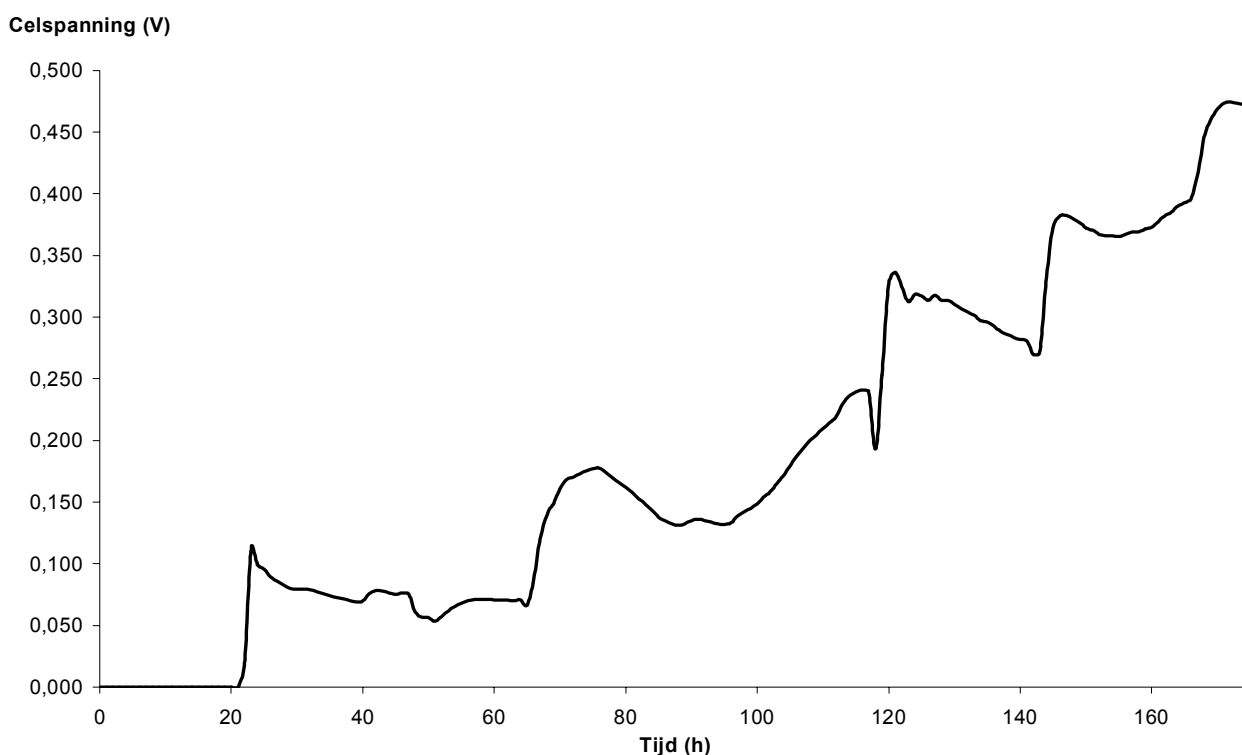
**Fig. III. 20** Het verloop van de potentiaal van de kathode (a) en de anode (b) bij het realiseren van een open kring (0,30 L NAC)

## Hoofdstuk 4

# Microbiële brandstofcellen gevoed met huishoudelijk afvalwater

### 1 De opstart van een reactor

Twee reactoren met een vloeistofinhoud van 0,21 L NAC werden geïnoculeerd met korrels van een bestaande microbiële brandstofcel [Rabaey *et al.*, 2005d]. Het gefilterde, huishoudelijke afvalwater (Ossemeersen, Gent) werd daarop toegediend aan 0,72 L d<sup>-1</sup>. Met een externe weerstand van 100 ohm werd er na 151 h een maximale spanning van 0,474 V bekomen (Fig. III.21).



**Fig. III.21** Het verloop van de celspanning van een reactor (0,21 L NAC) gevoed met huishoudelijk afvalwater bij 100 ohm

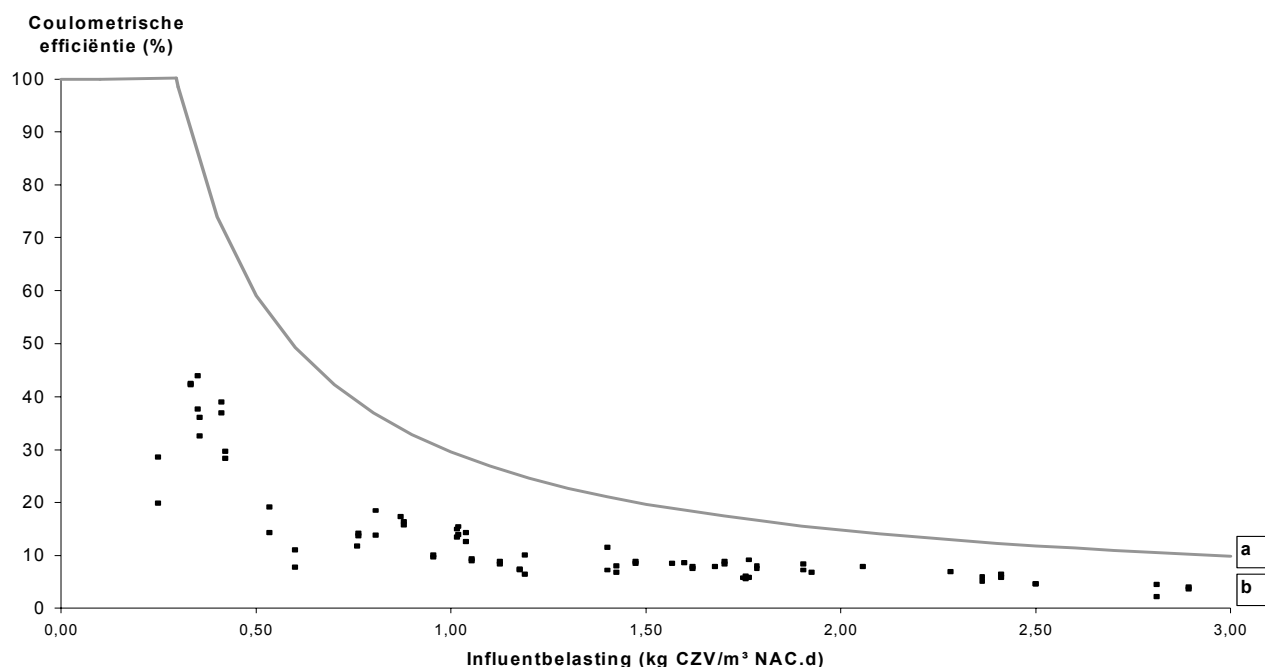
### 2 Het effect van de externe weerstand op het ladingstransport

Bij drie externe weerstanden (100, 75 en 50 ohm) werd getest in hoeverre het afvalwater als elektrondonor kon optreden. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.19. Het afvalwater werd gefilterd vooraleer toegediend te worden. Het ongefilterde afvalwater had een CZV-concentratie van  $694 \pm 185$  mg CZV L<sup>-1</sup> ten tijde van de testen met 75 ohm, wat omgerekend  $2,38 \pm 0,63$  kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (N = 5) was. Er werd ongeveer 48 % van alle CZV weerhouden door filtratie. Het is steeds cruciaal de bekomen waarden te vergelijken met een stroomproductie zoals die zich zou voordoen als de celspanning een open kringpotentiaal van 0,650 V zou benaderen.

**Tabel III.19 Een balans bij het gebruik van huishoudelijk afvalwater als influent voor microbiële brandstofcellen met het aantal metingen of het aantal gemeten uren tussen haken (0,21 L NAC)**

	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Influentbelasting</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,94 ± 0,69 (# 14)	1,24 ± 0,63 (# 39)	1,57 ± 0,59 (# 8)
<b>CZV-verwijdering</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,59 ± 0,67 (# 28)	0,71 ± 0,76 (# 51)	0,76 ± 0,45 (# 11)
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	53 ± 29 (# 28)	51 ± 32 (# 51)	43 ± 22 (# 11)
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,13 ± 0,05 (980 h)	0,13 ± 0,04 (2762 h)	0,12 ± 0,02 (346 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,20	0,20	0,16
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,44	0,30	0,22
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	18 ± 9 (# 28)	13 ± 10 (# 51)	10 ± 5 (# 11)
<b>Verlies</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,45 ± 0,66 (# 28)	0,60 ± 0,63 (# 51)	0,65 ± 0,45 (# 11)

Er was een grote variabiliteit aanwezig. Daartoe werd de influentbelasting beschouwd als een potentiële bron van variabiliteit. In Fig. III.22 wordt de coulometrische efficiëntie weergegeven in functie van de influentbelasting. Deze efficiëntie steeg bij een lagere influentbelasting.

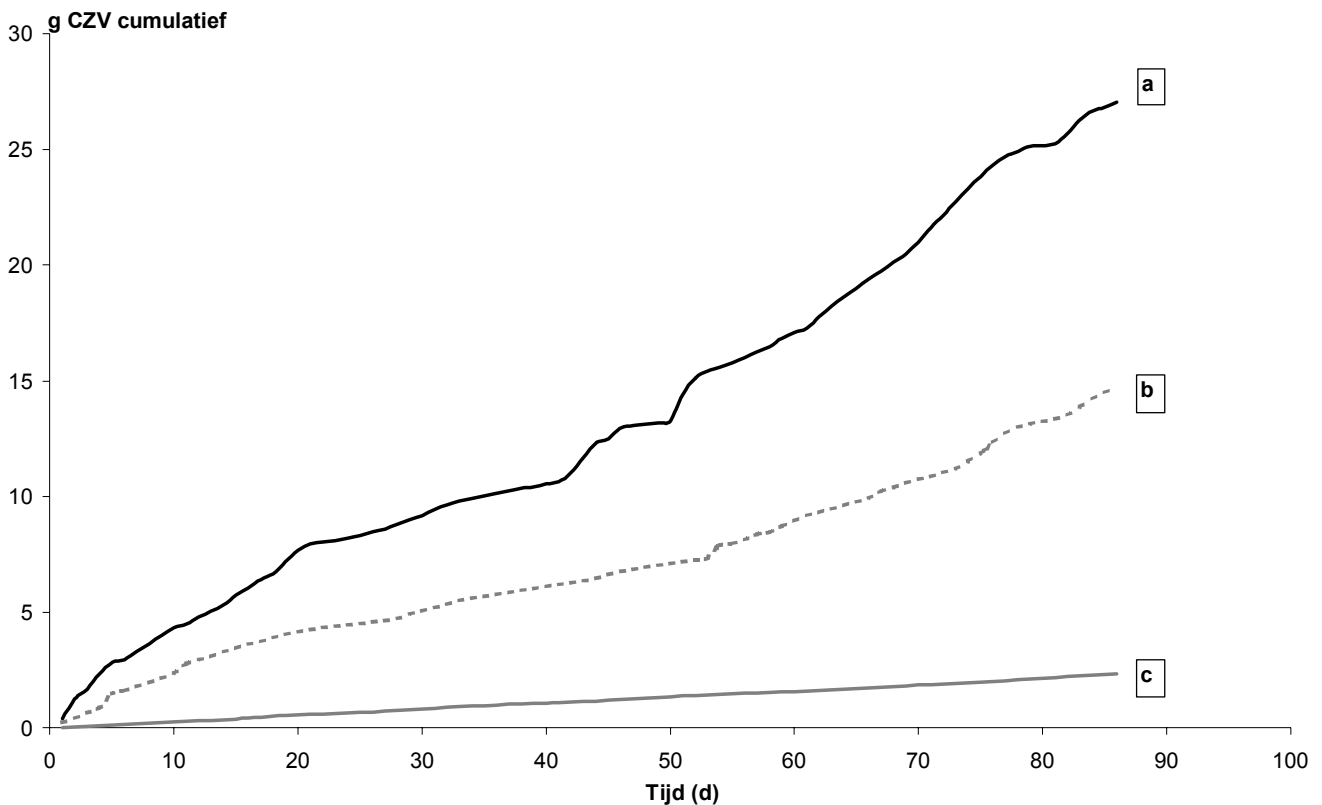


**Fig. III.22 De procentuele coulometrische efficiëntie bij een theoretische celspanning van 0,650 V (a) en de gepresteerde coulometrische efficiëntie in functie van de influentbelasting van huishoudelijk afvalwater (Ossemeersen) bij een externe weerstand van 75 ohm (b) (0,21 L NAC)**

De biologische zuurstofvraag ( $BZV_5^{20}$ ) werd nagegaan voor zowel het gefilterde influent als het effluent bij een externe weerstand van 75 ohm. Het gefilterde influent bleek een concentratie van  $160 \pm 95 \text{ mg } BZV_5^{20} \text{ L}^{-1}$  ( $0,55 \pm 0,33 \text{ kg } BZV_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ;  $N = 6$ ) te bevatten. In het effluent werd nog  $36 \pm 27 \text{ mg } BZV_5^{20} \text{ L}^{-1}$  ( $0,12 \pm 0,09 \text{ kg } BZV_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ;  $N = 6$ ) teruggevonden.

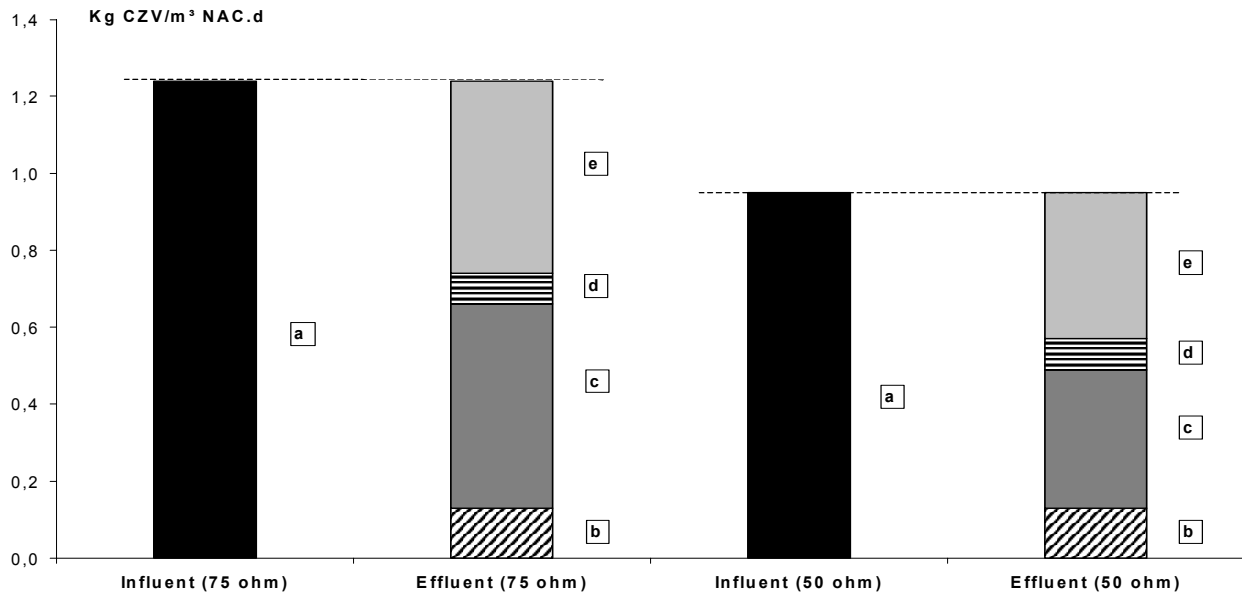
### 3 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen

Het was duidelijk dat er aanzienlijke verliezen optraden bij het gebruik van afvalwater. In Fig. III. 23 worden de cumulatieve hoeveelheden weergegeven. Het verschil tussen a en b maakte het cumulatieve verlies uit. Er werd verder nagegaan waardoor deze verliezen veroorzaakt werden.



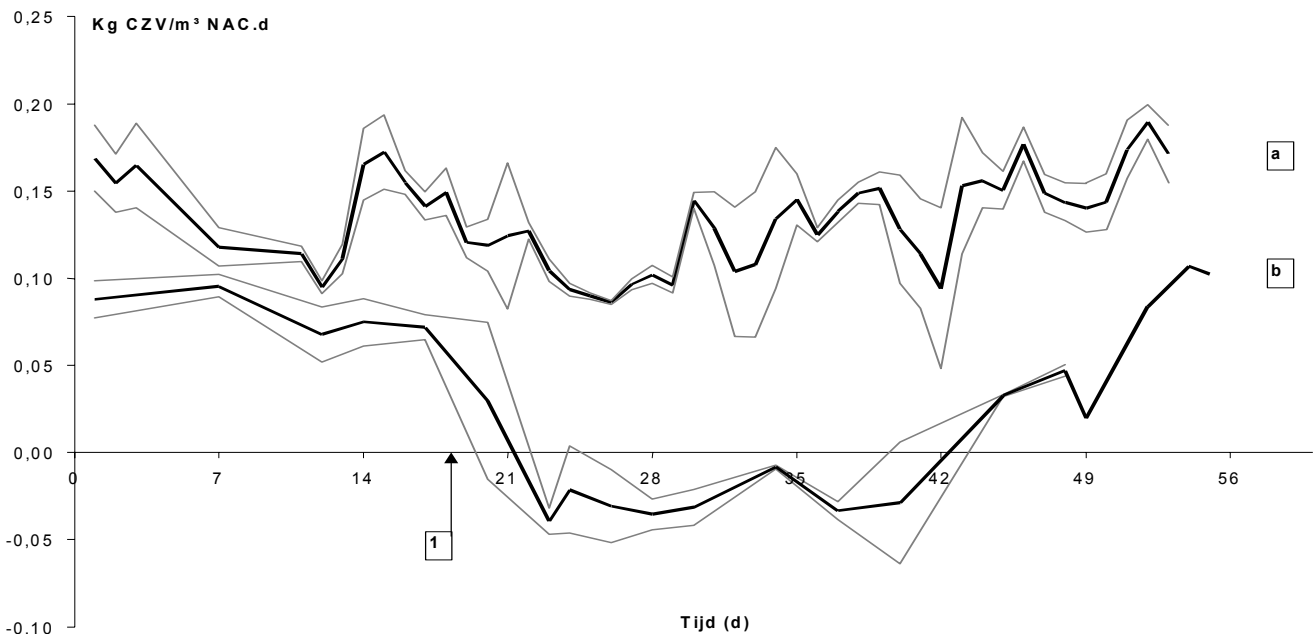
**Fig. III.23 Het cumulatieve verloop van de ingebrachte hoeveelheid substraat (a), de opgeleverde stroomproductie (c) en de som van de stroomproductie en effluenthoeveelheid (b)**

Een eerste mogelijkheid betrof sulfaatreductie. Bij een externe weerstand van 50 ohm nam de sulfaatconcentratie af van  $17$  naar  $5 \pm 2 \text{ mg } \text{SO}_4\text{-S } \text{L}^{-1}$  ( $N = 2$ ). De fractie verwijderd sulfaat fungeerde mogelijks als een elektronacceptor door de reductie tot sulfide. Bij een volledige omzetting zou dit impliceren dat er een aandeel van  $0,09 \pm 0,01 \text{ kg CZV-S } \text{m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  uit de influentbelasting verloren ging door sulfaatreductie. Bij testen met een externe weerstand van 75 ohm nam de sulfaatconcentratie af van  $32 \pm 8$  naar  $20 \pm 8 \text{ mg } \text{SO}_4\text{-S } \text{L}^{-1}$  ( $N = 16$ ). Omgerekend correspondeerde dit met  $0,08 \pm 0,02 \text{ kg CZV-S } \text{m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  dat via sulfaatreductie kon verloren gaan. Zoals weergegeven in Fig. III.24 kan dit het volledige verlies niet verklaren.



**Fig. III.24 Een overzicht van de bestemming van het substraat (a) bij 75 en 50 ohm: stroomproductie (b), uitspoeling via het effluent (c), sulfaatreductie (d) en andere verliezen (e)**

Er werd nagegaan of inhibitie van sulfaatreductie een verhoogde stroomproductie zou opleveren. Hiertoe werd er eenmalig  $\text{NaMoO}_4$  geïnjecteerd in de reactor (10 mM). Dit resulteerde in een inhibitie van de sulfaatreductie gedurende ongeveer drie weken. De effluentconcentratie aan sulfaat bleek zelfs hoger te zijn dan de influentconcentratie. Een *paired t-test* uitgevoerd op de sulfaatconcentratie in het influent en effluent (normaal verdeeld volgens *Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %) bracht aan het licht dat de influentconcentratie significant van de effluentconcentratie verschilde. (significantieniveau: 5 %). De stroomproductie steeg niet in deze periode (Fig. III.25). Ook kon er geen verandering in de CZV-verwijdering vastgesteld worden in deze periode.



**Fig. III.25 Het verloop van de stroomproductie met standaardafwijking (a) en de hoeveelheid belasting met standaardafwijking die maximaal verloren ging door sulfaatreductie (b) (1: toediening van 10 mM  $\text{NaMoO}_4$ )**

Een andere mogelijke verklaring voor het verlies aan ladingen was fermentatie. Daartoe werd de concentratie aan vluchtige vetzuren in het influent met het effluent vergeleken en uitgedrukt als een belasting (Tabel III.20).

**Tabel III.20 Een overzicht van de concentraties aan vluchtige vetzuren bij verschillende externe weerstanden**

	Influent	Effluent (50 ohm)	Effluent (75 ohm)	Effluent (100 ohm)
<b>Acetaatconcentratie</b> (mg CZV-acetaat L <sup>-1</sup> )	16 ± 21	0 ± 0	10 ± 11	10
<b>Vluchtige vetzurenconcentratie</b> (mg CZV-VFA L <sup>-1</sup> )	20 ± 24	2 ± 1	11 ± 11	10
<b>Belasting aan vluchtige vetzuren</b> (kg CZV-VFA m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,05 ± 0,04	0,01 ± 0,00	0,04 ± 0,04	0,03
<b>Aantal metingen</b>	10	4	20	1

Er bleek geen toename aan vluchtige vetzuren te zijn, veeleer een verbruik, zeker bij een externe weerstand van 50 ohm. De grootste fractie aan vluchtige vetzuren bleek acetaat te zijn en werd bij een lagere weerstand sterk verwijderd.

Een ander proces dat elektronen belet naar de elektrode te stromen is methaanvorming en waterstofgasvorming. Geen enkele meting kon deze componenten aantonen, al is de vorming ervan niet uitgesloten aangezien deze gassen doorheen het membraan kunnen permeëren of in lage concentraties in het effluent kunnen oplossen (5 mg CH<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> en 1,2 mg H<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>).

Er kon organisch materiaal accumuleren in de reactoren, wat ook onder de noemer verlies viel. Aangroei van biomassa in de reactor viel tevens onder deze noemer. Op het einde van de testen werd de hoeveelheid CZV, TSS en VSS bepaald van wat zich opgehoopt had in de reactor (Tabel III.21).

**Tabel III.21 Een overzicht van de accumulatie aan CZV, TSS en VSS in de reactoren na 90 dagen gevoed te zijn met afvalwater**

Reactor 1	Reactor 2	
21,0 ± 0,5	20,8 ± 0,3	mg CZV g <sup>-1</sup> natte korrels
14,2 ± 0,8	11,9 ± 0,5	mg TSS g <sup>-1</sup> natte korrels
11,0 ± 0,6	8,0	mg VSS g <sup>-1</sup> natte korrels
0,52 ± 0,01	0,47 ± 0,03	kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,35 ± 0,02	0,26 ± 0,01	kg TSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,27 ± 0,02	0,20	kg VSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie

Het werd duidelijk dat accumulatie in de reactor (0,47 - 0,52 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>) bijna volledig de verliezen, geschat in Tabel III.19, kon verklaren. Een laatste mogelijke optie om de verliezen te verklaren bestond uit aërobe afbraak van organisch materiaal door permeatie van zuurstof door het uitwisselingsmembraan. Deze denkpiste kon niet getest worden, maar uit de evaluatie van alle andere mogelijke verklaringen bleek dat deze laatste optie zeker niet het dominante proces kon zijn.

#### 4 Energetische opbrengsten met huishoudelijk afvalwater als substraat

De energetisch aspecten worden weergegeven in Tabel III.22. Er werd gerekend met een energie-inhoud van  $3,833 \text{ kWh kg}^{-1} \text{ CZV}$  ( $13,8 \text{ kJ g}^{-1} \text{ CZV}$ ). Als een open kringpotentiaal van  $0,650 \text{ V}$  als maximale celspanning ( $0,650 \text{ V}$ ) aanzien wordt, dan kan de energieproductie hiermee vergeleken worden.

**Tabel III.22 Een overzicht van de gemiddelde energieproductie met standaardafwijking bij gebruik van huishoudelijk afvalwater (de testduur of het aantal metingen tussen haken) (0,21 L NAC)**

	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Geproduceerd vermogen</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	$4 \pm 3$ (980 h)	$5 \pm 3$ (2762 h)	$7 \pm 2$ (346 h)
<b>Maximaal geproduceerd vermogen</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	8	12	11
<b>Energetische efficiëntie</b> (%)	$3 \pm 2$ (# 41)	$3 \pm 3$ (# 114)	$3 \pm 2$ (# 12)
<b>Theoretisch vermogen bij 0,650 V</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	40	27	20

#### 5 De zuurtegraad in de reactor en in het katholiet

De pH van het influent bedroeg  $7,4 \pm 0,3$  ( $N = 67$ ). De waarden van het effluent worden in Tabel III.23 weergegeven.

**Tabel III.23 De gemiddelde zuurtegraad met standaardafwijking in het effluent en in het gebruikte katholiet (het aantal metingen tussen haken)**

	50 ohm (gebufferd katholiet)	75 ohm (gebufferd katholiet)	75 ohm (ongebufferd katholiet)	100 ohm (gebufferd katholiet)
<b>Effluent</b>	$6,3 \pm 0,3$ (# 36)	$6,7 \pm 0,4$ (# 20)	$6,6 \pm 0,4$ (# 63)	$6,7 \pm 0,2$ (# 20)
<b>Katholiet</b>	$7,0 \pm 0,1$ (# 18)	$7,1 \pm 0,1$ (# 4)	$5,8 \pm 0,4$ (# 35)	$7,2 \pm 0,1$ (# 8)

Als een fosfaatbuffer gebruikt werd, dan bleef het katholiet constant rond de ingestelde waarde. Bij het weglaten van de fosfaatbuffer in het katholiet daalde de pH van deze oplossing en was er een iets grotere variantie. Er waren geen aanwijzingen om te vermoeden dat er een lagere stroomproductie was door het weglaten van deze buffer.

#### 6 Ammoniumverwijdering en fosfaattoename

De ammoniumconcentratie in het influent bedroeg  $25 \pm 12 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$  ( $N = 23$ ). Na passage door de reactoren bleef daar nog  $17 \pm 10 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$  ( $N = 46$ ) van over.



Nitriet werd slechts eenmaal vastgesteld in het influent aan  $0,4 \text{ mg NO}_2^- \text{-N L}^{-1}$  en nooit in het effluent. Nitraat werd meestal niet gedetecteerd in het influent en de maximale concentratie betrof  $1,0 \text{ mg NO}_3^- \text{-N L}^{-1}$ . In het effluent werd er hoogst uitzonderlijk nitraat aangetroffen. De maximale concentratie betrof hier  $1,2 \text{ mg NO}_3^- \text{-N L}^{-1}$ .

De fosfaatconcentratie in het influent bedroeg  $4,2 \pm 1,7 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{-P L}^{-1}$  ( $N = 17$ ), terwijl deze in het effluent  $5,6 \pm 2,4 \text{ mg PO}_4^{3-} \text{-P L}^{-1}$  ( $N = 34$ ) was. Een *paired t-test* uitgevoerd op de fosfaatconcentratie in het influent en effluent (normaal verdeeld volgens *Kolmogorov-Smirnov*, significantieniveau: 5 %) bracht aan het licht dat de influentconcentratie significant van de effluentconcentratie verschilde. (significantieniveau: 5 %).

## 7 Het substraat als limiterende factor

Gezien de lage concentraties aan  $\text{BZV}_5^{20}$ , werd nagegaan of de stroomproductie zou stijgen door toevoeging van snel biodegradeerbare substraten. De resultaten van deze testen worden weergegeven in Tabel III.24.

**Tabel III.24 De performantie vóór en na additie van een extra, snel biodegradeerbaar substraat bij afvalwater als influent (0,21 L NAC)**

	Acetaat	Acetaat	Pepton
<b>Externe weerstand</b> (ohm)	75	50	75
<b>Voor Belasting</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	1,78	0,51	0,59
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV-stroom $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	$0,12 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,03$
<b>Energieproductie</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	$5 \pm 1$	$1 \pm 1$	$3 \pm 2$
<b>Na Additieve belasting</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,25	0,25	0,26
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV-stroom $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	$0,21 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,02$
<b>Energieproductie</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	$13 \pm 1$	$5 \pm 3$	$12 \pm 3$
<b>Testduur additie</b> (h)	24	308	34
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,30	0,44	0,30
<b>Theoretisch vermogen bij 0,650 V</b> (Watt $\text{m}^{-3}$ NAC)	27	40	27

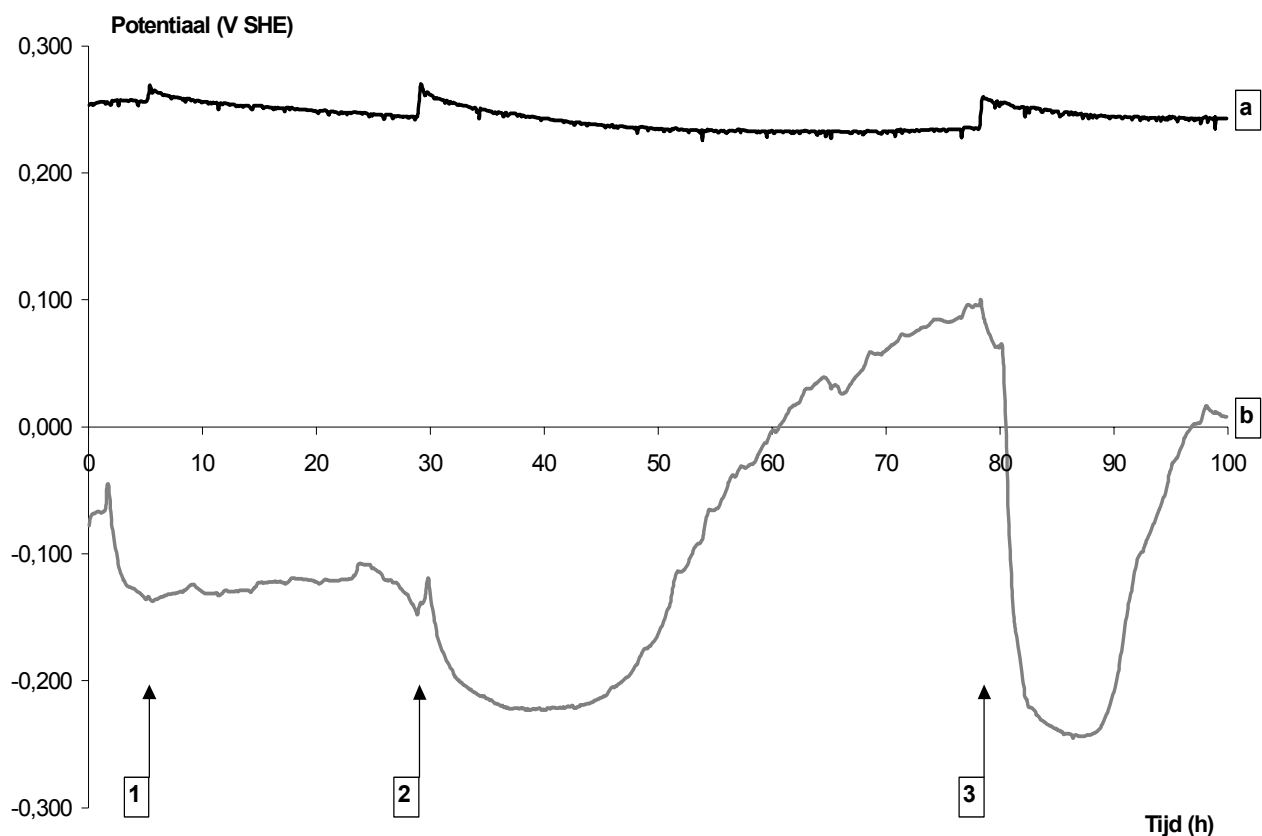
Het werd duidelijk dat substraten zoals acetaat en pepton de stroomproductie sterk bevorderden. De hoeveelheid aan direct metaboliseerbare substraten bleek dus limiterend voor de stroomproductie bij het afvalwater.

Daarop werd een test uitgevoerd waarbij het afvalwater respectievelijk niet, 1 dag en 3 dagen op 37 °C bewaard werd vooraleer toegediend te worden. Een verhoogde temperatuur bevordert doorgaans de afbraak van polymeren tot oligomeren. Het verloop van deze test werd met behulp van een potentiostaat gevolgd (Fig. III.26). De externe weerstand was steeds 75 ohm.

Onder controleomstandigheden werd er  $0,17 \pm 0,01$  kg CZV-stroom  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bekomen en  $9 \pm 1$  Watt  $m^{-3}$  NAC. De influentbelasting bedroeg  $1,69$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ .

De additie van het afvalwater na één dag op 37 °C, resulteerde in een hogere celspanning, veroorzaakt door een lagere anodepotentiaal. Deze celspanning kon niet langer dan een tiental uur behouden blijven. Hierbij werd er  $0,20 \pm 0,01$  kg CZV-stroom  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bekomen en  $12 \pm 1$  Watt  $m^{-3}$  NAC voordat de celspanning begon te zakken (Fig. III.26).

Additie van afvalwater dat drie dagen op 37 °C bewaard werd, vertoonde nog een iets hogere celspanning doordat de anodepotentiaal nog sterker zakte. De duur van een stabiele potentiaal is hier minder dan tien uur. In deze periode bedroeg de stroomproductie  $0,22 \pm 0,01$  kg CZV-stroom  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  en werd er  $15 \pm 1$  Watt  $m^{-3}$  NAC geleverd.



**Fig. III.26** Het verloop van de kathodepotentiaal (a) en de anodepotentiaal (b) bij de controletoestand (vanaf 1), bij afvalwater na 1 dag op 37 °C (vanaf 2) en bij afvalwater na 3 dagen bij 37 °C (vanaf 3) ; bij 1, 2 en 3 werd bovendien het bufferloze katholiet ververst (0,21 L NAC)

## Hoofdstuk 5

### Microbiële brandstofcellen gevoed met ziekenhuis afvalwater

#### 1 Het effect van de externe weerstand op het ladingstransport

Initieel werd het ziekenhuis afvalwater (Maria Middelaes, Gent) aan dubbele snelheid ( $1,44 \text{ L d}^{-1}$ ) aangebracht, waardoor de hydraulische verblijftijd slechts 3,5 h bedroeg (10 ohm). In deze preliminaire testen werd er slechts één reactor gebruikt. Later werden hogere weerstanden (15, 20, 50, 75 en 100 ohm) getest bij een gewone voedingssnelheid van  $0,72 \text{ L d}^{-1}$  en dus een hydraulische verblijftijd van 7 h. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.25. Het is steeds cruciaal de bekomen waarden te vergelijken met een stroomproductie zoals die zich zou voordoen als de potentiaal een open kringpotentiaal van 0,650 V zou benaderen.

**Tabel III.25 Balans en resultaten op basis van het gebruik van ziekenhuis afvalwater als influent voor een microbiële brandstofcel (0,21 L NAC)**

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Hydraulische verblijftijd</b> (h)	3,5	7	7	7	7	7
<b>Voedingssnelheid</b> ( $\text{L d}^{-1}$ )	1,44	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72
<b>Influentbelasting</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	$2,54 \pm 1,41$ (# 10)	$1,15 \pm 0,21$ (# 5)	$1,27 \pm 0,13$ (# 2)	$1,28 \pm 0,55$ (# 2)		
<b>CZV-verwijdering</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	$0,93 \pm 1,30$ (# 9)	$0,61 \pm 0,19$ (# 5)	$0,78 \pm 0,06$ (# 2)	$0,55 \pm 0,34$ (# 2)		
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	$28 \pm 18$ (# 9)	$52 \pm 9$ (# 5)	$61 \pm 1$ (# 2)	$41 \pm 9$ (# 2)		
<b>Stroomproductie</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	$0,35 \pm 0,19$ (1056 h)	$0,27 \pm 0,10$ (118 h)	$0,30 \pm 0,07$ (64 h)	$0,26 \pm 0,02$ (65 h)	$0,19 \pm 0,01$ (10 h)	$0,16 \pm 0,01$ (28 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	0,92	0,45	0,45	0,30	0,21	0,17
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	$16 \pm 7$ (# 9)	$27 \pm 10$ (# 5)	$23 \pm 3$ (# 2)	$15 \pm 1$ (# 2)		
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	2,22	1,48	1,11	0,44	0,30	0,22
<b>Verlies</b> ( $\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ )	0,58	0,34	0,48	0,29		

Het verlagen van de externe weerstand resulteerde in een hogere coulometrische efficiëntie. Bij 10 ohm was de coulometrische efficiëntie lager dan bij 15 ohm. Mogelijks was er sprake van een optimale externe weerstand, al kon het evengoed te wijten zijn aan de halvering van de verblijftijd. De CZV-verwijdering was procentueel minder groot bij een verdubbeling van de voedingssnelheid. De hoogste stroomproductie werd evenwel bekomen bij 10 ohm: 0,92 kg CZV-stroom  $\text{m}^{-3}$  NAC  $\text{d}^{-1}$ . Gedurende een periode van enkele dagen werd deze hoge stroomproductie bekomen uit een influent met een erg hoge CZV-concentratie: 928 mg CZV  $\text{L}^{-1}$ . Voor de reactor met 0,21 L NAC kwam dit neer op een belasting van 6,36 kg CZV  $\text{m}^{-3}$  NAC  $\text{d}^{-1}$  (14 % coulometrische efficiëntie). Parallel aan het experiment met de kleine reactoren, werd er ook één grote reactor (0,30 L NAC) gevoed met dit afvalwater. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.26

**Tabel III.26 Balans en resultaten op basis van het gebruik van ziekenhuis afvalwater als influent voor een microbiële brandstofcel (0,30 L NAC)**

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Hydraulische verblijftijd</b> (h)	5	10	10	10	10	10
<b>Voedingssnelheid</b> ( $\text{L d}^{-1}$ )	1,44	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72
<b>Influentbelasting</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	1,77 ± 0,99 (# 10)	0,81 ± 0,14 (# 5)	0,89 ± 0,09 (# 2)	0,90 ± 0,39 (# 2)		
<b>CZV-verwijdering</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,75 ± 0,91 (# 9)	0,35 ± 0,15 (# 5)	0,55 ± 0,12 (# 2)	0,37 ± 0,24 (# 2)		
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	33 ± 16 (# 9)	42 ± 11 (# 5)	62 ± 7 (# 2)	40 ± 10 (# 2)		
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,22 ± 0,11 (1056 h)	0,21 ± 0,05 (118 h)	0,24 ± 0,03 (64 h)	0,19 ± 0,01 (65 h)	0,14 ± 0,01 (10 h)	0,12 ± 0,01 (28 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,62	0,42	0,29	0,21	0,15	0,12
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	17 ± 8 (# 9)	28 ± 8 (# 5)	27 ± 0 (# 2)	18 ± 3 (# 2)		
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	1,55	1,03	0,78	0,31	0,21	0,16
<b>Verlies</b> (kg CZV $\text{m}^{-3}$ NAC $\text{d}^{-1}$ )	0,53	0,14	0,31	0,18		

Een gelijkaardige coulometrische efficiëntie werd bekomen bij deze grote reactor als bij de kleine reactoren (0,21 L NAC) met een kleinere hydraulische verblijftijd bij de lagere weerstanden. Bij 50 en 75 ohm lag de coulometrische efficiëntie iets hoger. De CZV-verwijdering was gelijkaardig. Ook bij deze reactor had de piekbelasting (928 mg CZV  $\text{L}^{-1}$ ) een maximale stroomproductie tot gevolg: 0,62 kg CZV-stroom  $\text{m}^{-3}$  NAC  $\text{d}^{-1}$ . In dit geval bedroeg de influentbelasting 4,45 kg CZV  $\text{m}^{-3}$  NAC  $\text{d}^{-1}$ . De coulometrische efficiëntie van deze maximale stroomproductie was ook 14 %. Het ongefilterde

afvalwater had een concentratie van  $431 \text{ mg CZV L}^{-1}$  ten tijde van de testen bij 15 ohm. Dit correspondeerde met een theoretische belasting van  $1,48 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  voor de kleine reactoren (0,21 L NAC) en  $1,03 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  voor de grote reactor (0,30 L NAC). De effectieve belasting die op de reactor kwam, na filtratie, wordt weergegeven in Tabel III.25 en Tabel III.26. Filtratie weerhield bijgevolg 22 % van alle CZV. Op dezelfde dag werd een  $\text{BZV}_5^{20}$ -test uitgevoerd op het gefilterde influent en op het effluent. Het influent bevatte  $263 \pm 68$  (N = 3)  $\text{mg BZV}_5^{20} \text{ L}^{-1}$ . Voor de kleine reactoren (0,21 L NAC) betekende dit een belasting van  $0,90 \pm 0,23 \text{ kg BZV}_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en voor de grote reactor (0,30 L NAC) betekende dit een belasting van  $0,63 \pm 0,13 \text{ kg BZV}_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . In het effluent van de kleine reactoren werd er nog  $100 \pm 18 \text{ mg BZV}_5^{20} \text{ L}^{-1}$  ( $0,34 \pm 0,06 \text{ kg BZV}_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ; N = 4) teruggevonden, in het effluent van de grote reactor bedroeg de concentratie  $90 \pm 14 \text{ mg BZV}_5^{20} \text{ L}^{-1}$  ( $0,22 \pm 0,03 \text{ kg BZV}_5^{20} \text{ m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ; N = 2).

Met behulp van een potentiostaat kon een benadering gemaakt worden van de heersende redoxpotentiala in anode en kathode bij verschillende externe weerstanden (Tabel III.27).

**Tabel III.27 Een overzicht van de kathode- en anodepotentiala bij verschillende externe weerstanden (0,30 L NAC)**

	15 ohm	20 ohm	50 ohm	100 ohm
<b>Kathodepotentiala</b> (V SHE)	$-0,008 \pm 0,065$	$-0,045 \pm 0,009$	$+0,239 \pm 0,004$	$+0,304 \pm 0,005$
<b>Anodepotentiala</b> (V SHE)	$-0,161 \pm 0,019$	$-0,200 \pm 0,002$	$-0,176 \pm 0,009$	$-0,181 \pm 0,009$
<b>Meetduur</b> (h)	100	28	35	16

Het is opmerkelijk dat de anodepotentiala niet sterk varieerde, maar de kathode des te meer. Ook bij de testen met een externe weerstand van 10 ohm en een voedingsnelheid van  $1,44 \text{ L d}^{-1}$ , werd de potentiala gemeten. Eenmaal werd dit gemeten bij gemiddelde omstandigheden (20 h) en eenmaal bij de piekbelasting (cfr. supra). In het eerste geval bleken kathode en anode respectievelijk een potentiala van  $-0,073 \pm 0,013 \text{ V SHE}$  en  $-0,201 \pm 0,013 \text{ V SHE}$  te hebben. In het geval van de piekbelasting werd een kathodepotentiala van  $+0,173 \pm 0,005 \text{ V SHE}$  en een anodepotentiala van  $-0,180 \pm 0,005 \text{ V SHE}$  opgemeten. Er werd later een open kring gecreëerd en met behulp van de potentiostaat werden de potentialen opgemeten. Aangezien de kathodepotentiala oorspronkelijk laag bleef, werd het katholiet ververs (Tabel III.28).

**Tabel III.28 Een overzicht van de kathode- en anodepotentiala bij het creëren van een open kring bij oud en bij vers katholiet**

	Oud katholiet	Vers katholiet
<b>Kathodepotentiala</b> (V SHE)	$+0,199 \pm 0,001$	$+0,465 \pm 0,008$
<b>Anodepotentiala</b> (V SHE)	$-0,230 \pm 0,002$	$-0,228 \pm 0,005$
<b>Meetduur</b> (h)	0,31	0,35

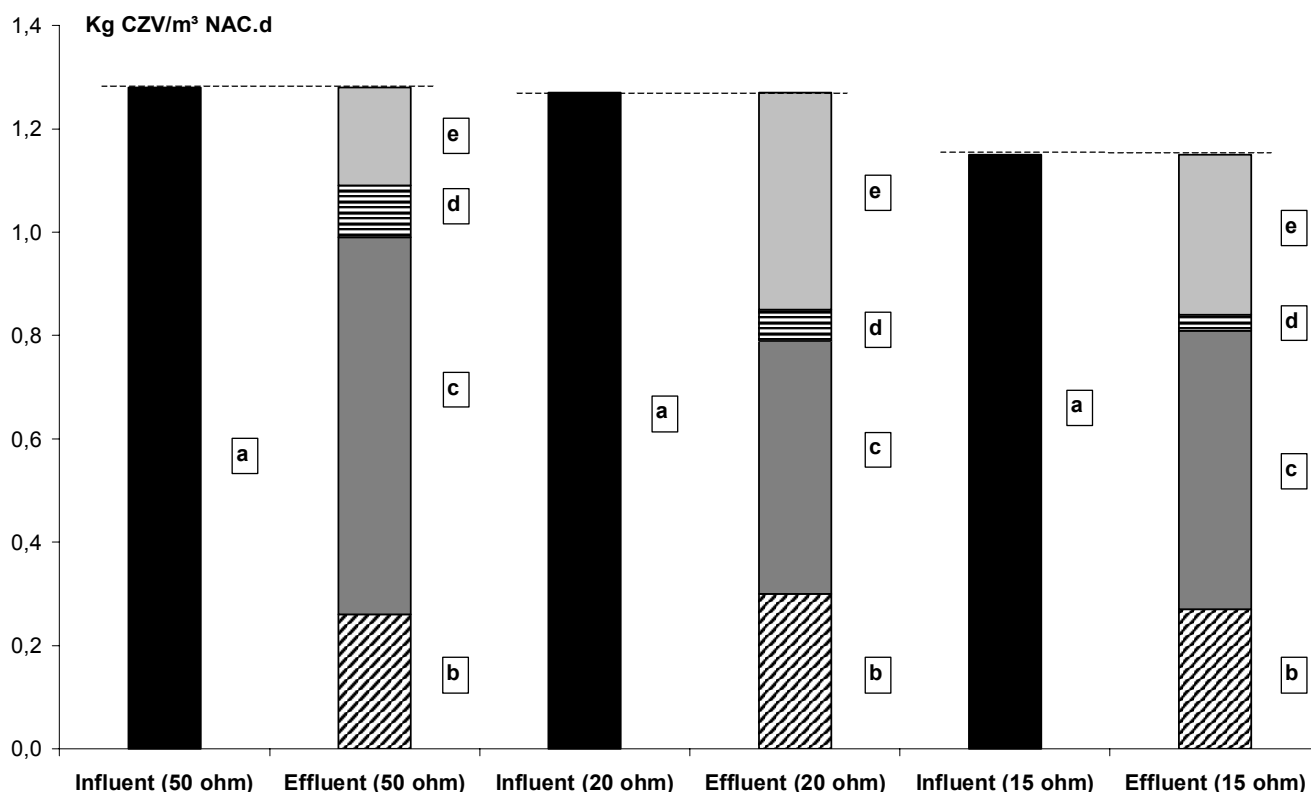
## 2 Inschatting van de oorsprong van de ladingsverliezen

Sulfaatreductie betekent een verlies aan ladingen die anders op de elektrode konden afgezet worden. De sulfaatverwijdering werd opgemeten en omgerekend in een maximale hoeveelheid van de belasting die op deze manier kon verloren gaan (Tabel III.29).

**Tabel III.29 Een overzicht van de sulfaatverwijdering bij het ziekenhuis afvalwater bij de kleine reactoren (0,21 L NAC)**

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm
<b>Sulfaatconcentratie influent</b> (mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	29 ± 4 (# 5)	39 ± 1 (# 2)	34 (# 1)	38 ± 2 (# 2)
<b>Sulfaatconcentratie effluent</b> (mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	19 ± 7 (# 5)	34 ± 3 (# 4)	25 ± 1 (# 2)	23 ± 9 (# 4)
<b>Potentieel verlies aan belasting door sulfaatreductie</b> (kg CZV-S m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,14	0,03	0,06	0,10

De stelling dat sulfaatreductie toeneemt met stijgende externe weerstand, gaat alleen niet op voor het geval van 10 ohm. Al valt deze test met 10 ohm moeilijk te vergelijken met de andere testen, aangezien de belasting dubbel zo hoog was. Bovendien impliceerde de dubbele voedingssnelheid in dit geval een halvering van de hydraulische verblijftijd. De bestemming van het substraat wordt gevisualiseerd in Fig. III.27.



**Fig. III.27 Een overzicht van de bestemming van het ziekenhuis afvalsstraat (a) bij 50, 20 en 15 ohm: stroomproductie (b), uitspoeling via het effluent (c), sulfaatreductie (d) en andere verliezen (e) (0,21 L NAC)**

Voor de grote reactor (0,30 L NAC) werden gelijkaardige resultaten bekomen (Tabel III.30).

**Tabel III.30 Een overzicht van de sulfaatverwijdering bij de grote reactor (0,30 L NAC)**

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm
<b>Sulfaatconcentratie influent</b>	29 ± 4	39 ± 1	34	38 ± 2
(mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	(# 5)	(# 2)	(# 1)	(# 2)
<b>Sulfaatconcentratie effluent</b>	15 ± 2	33 ± 3	24	22 ± 13
(mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -S L <sup>-1</sup> )	(# 4)	(# 2)	(# 1)	(# 2)
<b>Potentieel verlies aan belasting</b>	0,13	0,03	0,05	0,08
(kg CZV-S m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )				

Accumulatie van organisch materiaal was een onderdeel van de verliezen. Daartoe werd een inschatting van deze verliezen gemaakt. Na 47 dagen aan 1,44 L d<sup>-1</sup> gevoed te zijn met een externe weerstand van 10 ohm, werd één kleine reactor (0,21 L NAC) opengemaakt en zowel bovenaan, onderaan als in het midden werden twee stalen genomen. Er werd bepaald hoeveel CZV, TSS en VSS er accumuleerde per gram natte korrels. Aangezien het totale gewicht aan natte korrels gekend was, kon een inschatting gemaakt worden van de verliezen per volume-eenheid per dag (Tabel III.31).

**Tabel III.31 De accumulatie van organisch materiaal op verschillende plaatsen in de reactor na 47 dagen (0,21 L NAC)**

Bovenaan	Midden	Onderaan	
8,3 ± 1,9	14,7 ± 2,6	6,4 ± 3,6	mg CZV g <sup>-1</sup> natte korrels
7,1 ± 2,0	7,4 ± 0,3	4,0 ± 0,6	mg TSS g <sup>-1</sup> natte korrels
6,1 ± 1,9	6,3 ± 0,3	3,4 ± 0,6	mg VSS g <sup>-1</sup> natte korrels
0,26 ± 0,06	0,47 ± 0,08	0,20 ± 0,11	kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,23 ± 0,06	0,24 ± 0,01	0,13 ± 0,02	kg TSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,19 ± 0,06	0,20 ± 0,01	0,11 ± 0,02	kg VSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie

De accumulatie bleek het grootst in het midden van de reactor en het geringst onderaan de reactor. Deze verliezen lijken het gros van de verliezen berekend in Tabel III.25 uit te maken.

De resterende testen met dit afvalwater (0,72 L d<sup>-1</sup> en 15 - 100 ohm) werden uitgevoerd met gebruikte korrels die met water gespoeld werden op een zeef. Deze gespoelde korrels bevatten nog 1,52 ± 1,39 mg CZV g<sup>-1</sup> natte korrels (1,17 ± 0,50 mg TSS g<sup>-1</sup> natte korrels en 0,93 ± 0,33 mg VSS g<sup>-1</sup> natte korrels). De korrels werden hierna gehomogeniseerd en in de reactor gebracht. De toename na 23 dagen testen wordt weergegeven in Tabel III.32, alsook de gemiddelde accumulatie uitgedrukt per volume-eenheid per dag.

**Tabel III.32 De toename aan organisch materiaal op gespoelde korrels, op verschillende plaatsen in de reactor, na 23 dagen voeding met ziekenhuis afvalwater (0,21 L NAC)**

Bovenaan	Midden	Onderaan	
6,3 ± 1,4	4,0 ± 1,9	4,7 ± 2,5	mg CZV g <sup>-1</sup> natte korrels
4,3	1,7 ± 0,7	3,0 ± 0,6	mg TSS g <sup>-1</sup> natte korrels
4,2	1,5 ± 0,4	2,9 ± 0,5	mg VSS g <sup>-1</sup> natte korrels
0,39 ± 0,09	0,24 ± 0,11	0,29 ± 0,15	kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,26	0,10 ± 0,04	0,18 ± 0,04	kg TSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,25	0,09 ± 0,03	0,17 ± 0,03	kg VSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie

Het midden van de reactor bleek het minste biomassa te accumuleren. Dit in tegenstelling tot wat bekomen werd in Tabel III.31. Het gaat hier dan ook om een benaderende test. Ook voor de grote reactor (0,30 L NAC) werd de accumulatie aan organisch materiaal ingeschat. De resultaten worden in Tabel III.33 weergegeven.

**Tabel III.33 De accumulatie van organisch materiaal op verschillende plaatsen in de reactor na 68 dagen (0,30 L NAC)**

Bovenaan	Midden	Onderaan	
4,8	3,6	3,2	mg CZV g <sup>-1</sup> natte korrels
1,5	2,3	3,9	mg TSS g <sup>-1</sup> natte korrels
1,2	1,9	3,3	mg VSS g <sup>-1</sup> natte korrels
0,10	0,07	0,06	kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,03	0,05	0,08	kg TSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie
0,02	0,03	0,04	kg VSS m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> accumulatie

De accumulatie in de grote reactor was beduidend lager dan in de kleine reactoren. De lagere belasting van het influent kon dit slechts gedeeltelijk verklaren.

### 3 Energetische opbrengsten met ziekenhuis afvalwater als substraat

Een hoeveelheid van de chemische energie vervat in het afvalsubstraat kon gewonnen worden via het externe elektrische circuit (Tabel III.34 en Tabel III.35). Er werd gerekend met een energie-inhoud van 3,819 kWh kg<sup>-1</sup> CZV (13,8 kJ g<sup>-1</sup> CZV).

De optimale externe weerstand voor energiewinning bleek in beide gevallen 50 ohm te zijn voor influentbediet van 0,72 L d<sup>-1</sup>.

Als een open kringpotentiaal van 0,650 V als maximale celspanning aanzien wordt, dan kan de energieproductie hiermee vergeleken worden.



Tabel III.34 De energieproductie bij de kleine reactoren (0,21 L NAC)

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Geproduceerd vermogen</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	5 ± 6	5 ± 3	8 ± 4	14 ± 2	11 ± 2	10 ± 2
<b>Maximaal geproduceerd vermogen</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	35	13	17	19	13	12
<b>Energetische efficiëntie</b> (%)	2 ± 1	3 ± 2	4 ± 1	4 ± 1		
<b>Theoretisch vermogen bij 0,650 V</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	201	134	101	40	27	20

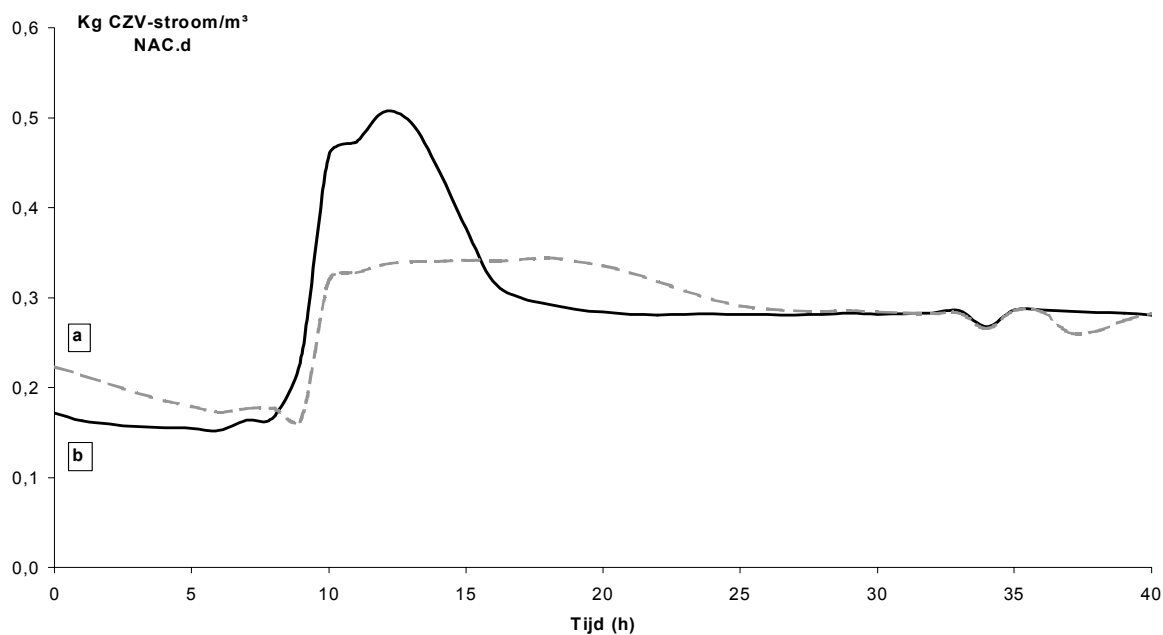
Tabel III.35 De energieproductie bij de grote reactor (0,30 L NAC)

	10 ohm	15 ohm	20 ohm	50 ohm	75 ohm	100 ohm
<b>Geproduceerd vermogen</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	3 ± 3	4 ± 1	7 ± 2	10 ± 1	8 ± 1	8 ± 1
<b>Maximaal geproduceerd vermogen</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	22	7	10	13	10	9
<b>Energetische efficiëntie</b> (%)	2 ± 1	4 ± 1	5 ± 0	5 ± 1		
<b>Theoretisch vermogen bij 0,650 V</b> (Watt m <sup>-3</sup> NAC)	141	94	70	28	19	14

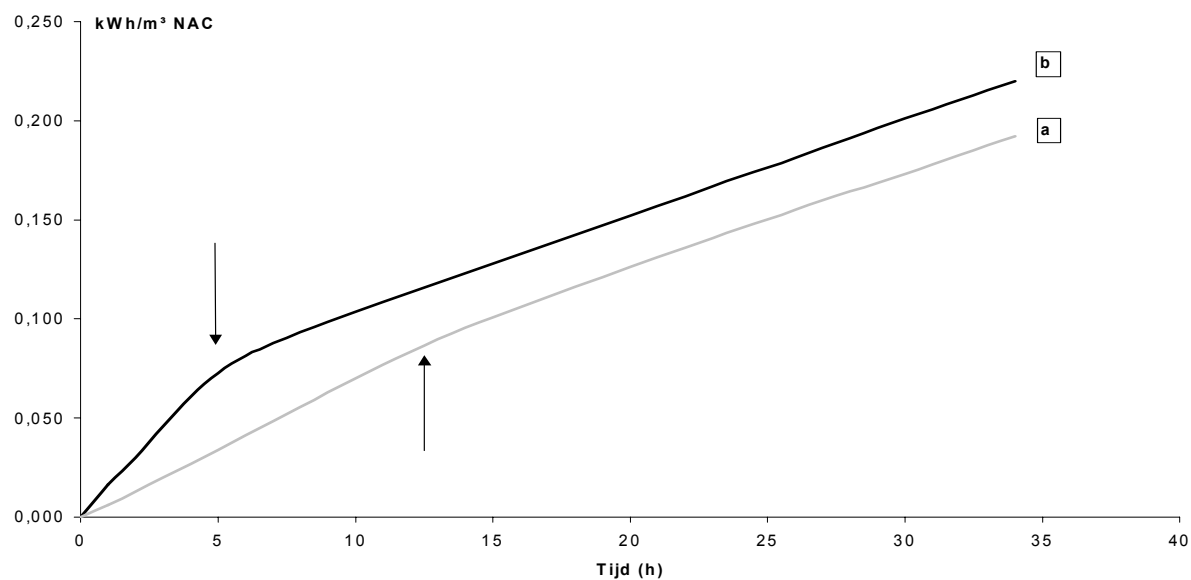
#### 4 Zure hydrolyse bij een verhoogde temperatuur

Een hoeveelheid van 10 L vers afvalwater werd in twee gelijke delen verdeeld. De ene 5 L werd aangezuurd tot een pH van 2,0 terwijl de andere 5 L als controle fungeerde. Beide flessen werden 24 h geïncubeerd op 44 °C. Hierna werd het zure afvalwater terug op een gelijke pH als de controle gebracht. Het controleafvalwater werd aan de ene reactor toegediend terwijl het afvalwater met de zuurbehandeling aan de andere reactor toegediend werd. De resulterende stroomproductie en de cumulatieve energieproductie bij 15 ohm worden weergegeven in respectievelijk Fig. III.28. en Fig. III.29. In Fig. III.29 wordt de cumulatieve energieproductie weergegeven vanaf fase 1.

Zowel bij het controleafvalwater als bij het afvalwater met de zuurbehandeling konden twee fasen onderscheiden worden. De eerste fase werd gekenmerkt door een maximale stroomproductie, die bij het afvalwater met de zuurbehandeling hoger was dan bij het controleafvalwater, maar wel minder lang duurde. Beide afvalwaters convergeerden in een tweede fase naar eenzelfde stroomproductie. CZV-metingen werden uitgevoerd op beide afvalwaters net na de incubatie op 44 °C (start fase 1) en op de influenten en effluenten tijdens fase 2 (Tabel III.36). De lagere stroomproductie in fase 2 werd wellicht veroorzaakt door een lagere concentratie aan bCZV in het influent. De CZV-verwijdering bedroeg in de controletest 61 % terwijl dit bij de zure test slechts 42 % bedroeg. Toch resulteerde dit in een gelijke stroomproductie. De efficiëntie van de stroomproductie per verwijderde CZV-eenheid lag dus hoger bij het afvalwater met de zuurbehandeling in fase 2. De sulfaatverwijdering was in beide gevallen gelijkaardig aan het geval er geen voorbehandeling was.



**Fig. III.28** Het verloop van de stroomproductie bij het controleafvalwater (a) en het afvalwater met de zuurbehandeling (b): de test begint met het toedienen van deze verse afvalwaters op tijdstip 8 h



**Fig. III.29** De cumulatieve energieproductie voor het controleafvalwater (a) en het afvalwater met een extra zuurbehandeling (b); de pijlen duiden de overgang van fase 1 naar fase 2 aan

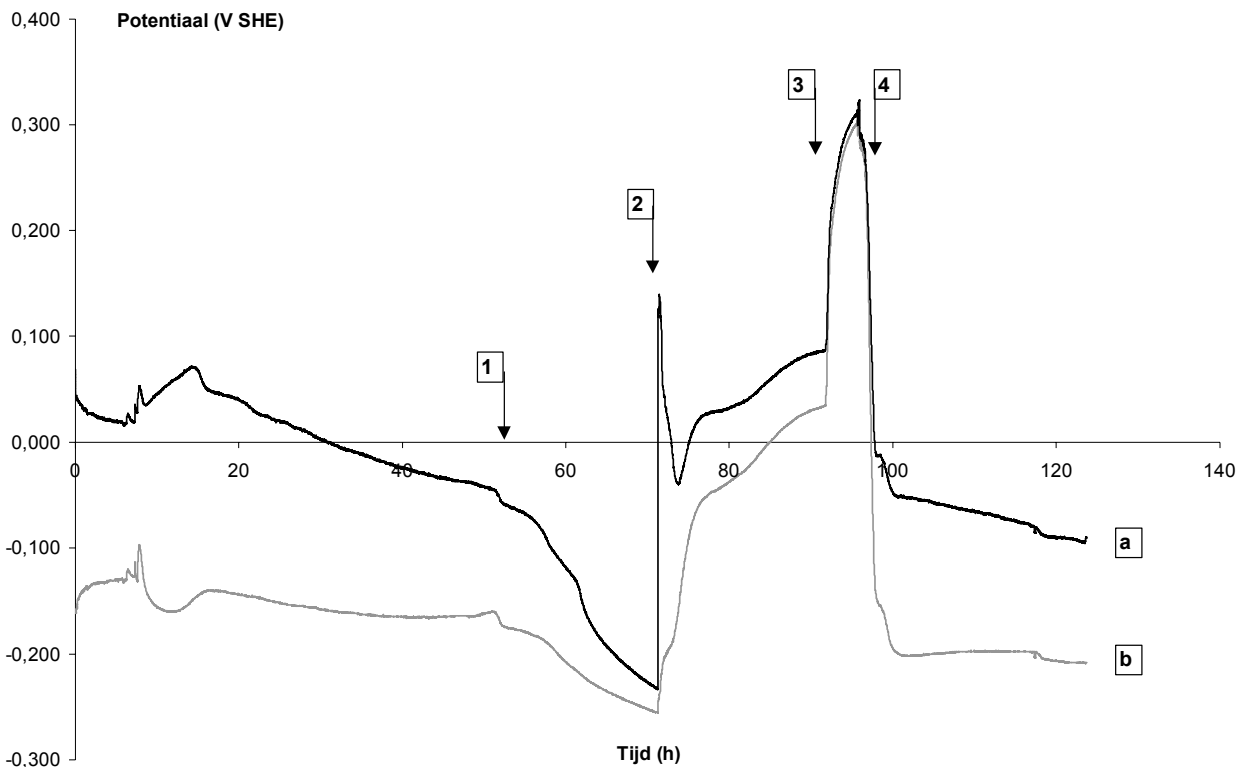
**Tabel III.36** De CZV-concentratie en de belasting tijdens de zure hydrolysetest (0,21 L NAC)

		mg CZV L <sup>-1</sup>	kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
FASE 1	Influent: controle	508	1,74
	Influent: hydrolyse	497	1,70
FASE 2	Influent: controle	400	1,37
	Influent: hydrolyse	377	1,29
	Effluent: controle	154	0,53
	Effluent: hydrolyse	217	0,75

## 5 Extreme omstandigheden

Tijdens de testen met een voedingsnelheid van  $1,44 \text{ L d}^{-1}$  en een externe weerstand van  $10 \text{ ohm}$ , werd het effect van een droog kathodecompartiment onderzocht. Vervolgens werd nagegaan wat er gebeurde als er in plaats van substraat, lucht aangezogen werd in het anodecompartiment. De potentiaal van de kathode en de anode wordt weergegeven in Fig. III.30.

Het opdrogen van de kathode deed zowel de kathode- als anodepotentiaal sterk zakken. Het is duidelijk dat er geen tegengewicht meer geleverd werd voor de reducerende kracht van de anode. Bij verse toediening steeg de kathodepotentiaal abrupt, de anodepotentiaal werd mee beïnvloed. Mogelijks was het substraat niet meer vers genoeg om een grote celspanning aan te leggen. Bij het opzuigen van lucht stegen anode- en kathodepotentiaal tot een zelfde potentiaal. De celspanning was nagenoeg nul volt. Bij het toedienen van vers afvalwater herstelde de celspanning snel naar een toestand die iets lager was dan voor de test, en waren zowel anode- als kathodepotentiaal lager dan voor de test. Deze extreme omstandigheden hadden geen positief effect op de performantie.



**Fig. III.30** Het verloop van de potentiaal van kathode (a) en anode (b) bij het opdrogen van het katholiet (1), het verversen van het katholiet (2), het opzuigen van lucht in plaats van afvalwater (3) en het toedienen van vers afvalwater (0,30 L NAC) (4)

## Hoofdstuk 6

# Microbiële brandstofcellen gevoed met industrieel afvalwater

### 1 De performantie met industrieel afvalwater

In een aardappelverwerkend bedrijf (Lutosa, Wevelgem) wordt zetmeelhoudend afvalwater aan een anaërobe behandeling onderworpen. Het effluent van deze anaërobe behandeling werd ter plekke bemonsterd en aan de microbiële brandstofcellen als substraat toegediend. De resultaten worden in Tabel III.37 weergegeven.

**Tabel III.37 De resultaten van het gebruik van industrieel afvalwater (0,21 L NAC)**

	15 ohm	50 ohm
<b>Influentbelasting</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	3,71 ± 0,16 (# 2)	3,21 ± 0,02 (# 2)
<b>CZV-verwijdering</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,56 ± 0,11 (# 2)	0,50 ± 0,03 (# 4)
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	16 ± 3 (# 2)	15 ± 1 (# 4)
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,40 ± 0,15 (150 h)	0,26 ± 0,03 (152 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,75	0,31
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	11 (# 2)	8 (# 2)
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	1,48	0,44
<b>Verlies</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,24	0,24

De verwijderingsefficiëntie was erg laag, al werd er een aanzienlijk deel van de verwijderde CZV omgezet in stroom. Bij 15 ohm was de efficiëntie ten opzichte van de fractie verwijderde CZV 71 %. De sulfaatverwijdering was beperkt. De maximale fractie van de influentbelasting die kon verloren gaan door sulfaatreductie was 0,01 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> en 0,02 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> bij respectievelijk 15 ohm en 50 ohm. In het influent werd 70 mg acetaat L<sup>-1</sup> teruggevonden, wat correspondeert met een belasting van 0,26 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>. Andere vluchtige vetzuren werden niet gedetecteerd. In het effluent werden evenmin vluchtige vetzuren gedetecteerd.

De energieproductie bedroeg 11 ± 9 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 34 Watt m<sup>-3</sup> NAC voor een externe weerstand van 15 ohm. Bij 50 ohm bedroeg de energieproductie 14 ± 3 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 20 Watt m<sup>-3</sup> NAC. De energetische efficiëntie bij een externe weerstand van 15 ohm was hier slechts 2 %, bij 50 ohm was dit 3 %.

## 2 De performantie met industrieel afvalwater met acetaat versterkt

Bij het gewone industriële afvalwater werd er 1 g L<sup>-1</sup> natriumacetaat toegevoegd, wat overeenkwam met een extra belasting van 2,68 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> onder de vorm van acetaat. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.38.

**Tabel III.38 De resultaten van het gebruik van industrieel afvalwater met 1 g L<sup>-1</sup> natriumacetaat versterkt (0,21 L NAC)**

	15 ohm	50 ohm
<b>Influentbelasting</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	5,52 (# 1)	
<b>CZV-verwijdering</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	1,50 ± 0,11 (# 2)	
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	27 ± 2 (# 2)	
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,77 ± 0,12 (96 h)	0,35 ± 0,03 (6 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,98	0,38
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	14 (# 1)	
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	1,48	0,44
<b>Verlies</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,73	

De additie met acetaat resulteerde in een hogere procentuele CZV-verwijdering. De stroomproductie steeg evenals de coulometrische efficiëntie. Het verlies nam eveneens sterk toe. De maximale fractie van de influentbelasting die kon verloren gaan door sulfaatreductie was 0,01 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> bij een externe weerstand van 15 ohm.

De energieproductie bedroeg 44 ± 8 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 57 Watt m<sup>-3</sup> NAC voor een externe weerstand van 15 ohm. Bij 50 ohm bedroeg de energieproductie 25 ± 4 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 30 Watt m<sup>-3</sup> NAC. De energetische efficiëntie bij een externe weerstand van 15 ohm was 5 %.

## 3 Performantie van industrieel afvalwater na twee dagen op 44 °C

Vers industrieel afvalwater werd gedurende twee dagen geïncubeerd op 44 °C en het werd daarna toegediend aan de reactoren. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.39.

**Tabel III.39 De resultaten van het gebruik van industrieel afvalwater na 2 dagen op 44 °C (0,21 L NAC)**

	15 ohm	50 ohm
<b>Influentbelasting</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	8,58 (# 1)	
<b>CZV-verwijdering</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	1,07 ± 0,38 (# 2)	
<b>CZV-verwijdering</b> (%)	12 ± 4 (# 2)	
<b>Stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,20 ± 0,07 (76 h)	0,29 ± 0,03 (6 h)
<b>Maximale stroomproductie</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,36	0,32
<b>Coulometrische efficiëntie</b> (%)	2 (# 1)	
<b>Theoretische stroomproductie bij 0,650 V</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	1,48	0,44
<b>Verlies</b> (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	0,87	

Deze bijzonder hoge belasting resulteerde niet in een hogere stroomproductie in vergelijking met het gewone industriële afvalwater. Bovendien was het verlies aanzienlijk groter.

De energieproductie bedroeg 3 ± 2 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 8 Watt m<sup>-3</sup> NAC voor een externe weerstand van 15 ohm. Bij 50 ohm bedroeg de energieproductie 17 ± 3 Watt m<sup>-3</sup> NAC, met een maximum van 21 Watt m<sup>-3</sup> NAC. De energetische efficiëntie bij een externe weerstand van 15 ohm was 5 %. Het afvalwater werd geanalyseerd op vluchtige vetzuren tijdens de test bij een externe weerstand van 15 ohm. De resultaten worden weergegeven in Tabel III.40.

**Tabel III.40 Een overzicht van het lot van de vluchtige vetzuren (0,21 L NAC)**

	Influent (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	Effluent (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	Verschil (kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup> )	Verwijdering (%)
Acetaat	1,62 ± 0,19	1,15 ± 0,48	0,47	29
Propionzuur	1,64 ± 0,11	1,39 ± 0,29	0,25	15
Isoboterzuur	0,16 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,01	6
Boterzuur	1,35 ± 0,10	1,14 ± 0,22	0,21	16
Valeriaanzuur	1,25 ± 0,01	1,04 ± 0,20	0,21	17

DEEL IV

DISCUSSIE

---

# Hoofdstuk 1

## Bespreking van de uitgevoerde testen

### 1 De ontwikkeling van performante microbiële brandstofcellen

De gebouwde reactor verschilde op een aantal punten van tot dusver bestaande microbiële brandstofcellen:

- Het was de eerste tubulaire microbiële brandstofcel met een anode als centrale matrix
- Het principe van opstroom, analoog aan de *upflow anaerobic sludge blanket* (UASB) is uniek voor microbiële brandstofcellen. Deze UASB-technologie betekende in de jaren zeventig een doorbraak voor de anaërobe vergisting aangezien zo een mechanische mixing niet meer hoefde. Door de continue selectiedruk bleken de microbiële aggregaten in het effluent beter te bezinken [Lettinga *et al.*, 1980]. Voor een microbiële brandstofcel betekende dit dat de verdeling van het substraat homogener kon verlopen en dat het dode volume zo geminimaliseerd werd.
- Het design simplificeerde de constructie waarbij het membraan als externe dragerstructuur gebruikt werd

De granulaire matrix werd verkozen aangezien dit tot op heden de beste resultaten opleverde. Het te koloniseren oppervlak was groter dan bij andere gebruikte configuraties [Rabaey *et al.*, 2005c]. Bovendien minimaliseerde dit de afstand tussen de anode-elektrode en de kathode-elektrode, wat de interne weerstand bepaalt [Jang *et al.*, 2004]. Deze interne weerstand is best zo laag mogelijk, zolang dit weliswaar geen elektrische lekken oplevert. Zo vertoonde de gebouwde reactor een lagere interne weerstand ( $\pm 7$  ohm) dan deze van een gelijkaardige microbiële brandstofcel die ook volgens een opstroom recirculatie werkte: 84 ohm [He *et al.*, 2005].

De mogelijkheid bestond dat één enkel grafieten staafje als kathode-elektrode een maskering zou opleveren van vloeistofweerstand die optreden doorheen de kathodematrix. Daartoe werden vier grafieten staafjes door middel van koperdraad verbonden. Deze meervoudige kathode resulteerde niet in een hogere stroomproductie, wat erop wees dat de verspreide elektronenoverdracht in de kathode wellicht geen limiterende factor was bij deze stroomdensiteiten. Het is evenwel niet uit te sluiten dat deze optie noodzakelijk wordt bij hogere stroomdensiteiten.

### 2 De opstart van een microbiële brandstofcel

Uit de verschillende opstartfasen bleek dat de microbiële gemeenschap in 1 à 2 dagen tot expressie kwam. In 100 - 150 h kon een maximale celspanning bekomen worden. Dit lag in de lijn met bevindingen van Oh *et al.* [2004]. Dit is een uitgesproken voordeel ten opzichte van anaërobe vergistinginstallaties die vaak een lange opstartperiode kennen.

In deze opstartperiode is het noodzakelijk dat er aangroei van biomassa optreedt op de grafietkorrels. Hoe meer actieve biomassa, hoe meer stroomproductie door een verhoogde conversiesnelheid van



het substraat. Ook kan door een verhoogde biomassadensiteit intrusie van zuurstof doorheen het membraan geminimaliseerd worden. Het is mogelijk dat de aangroei van biomassa sneller verloopt dan de stijging in stroomproductie, aangezien de aanmaak van biomassa een verlies aan ladingen impliceert. Bovendien dient de biomassa de reactor te ontdoen van zuurstof vooraleer er gereduceerde omstandigheden ontstaan zodat de elektrode als elektronacceptor kan gebruikt worden. Deze uitgestelde stroomproductie kwam nog sterker tot uiting bij testen van Rabaey *et al.* [2005b]. (Fig. IV.1).

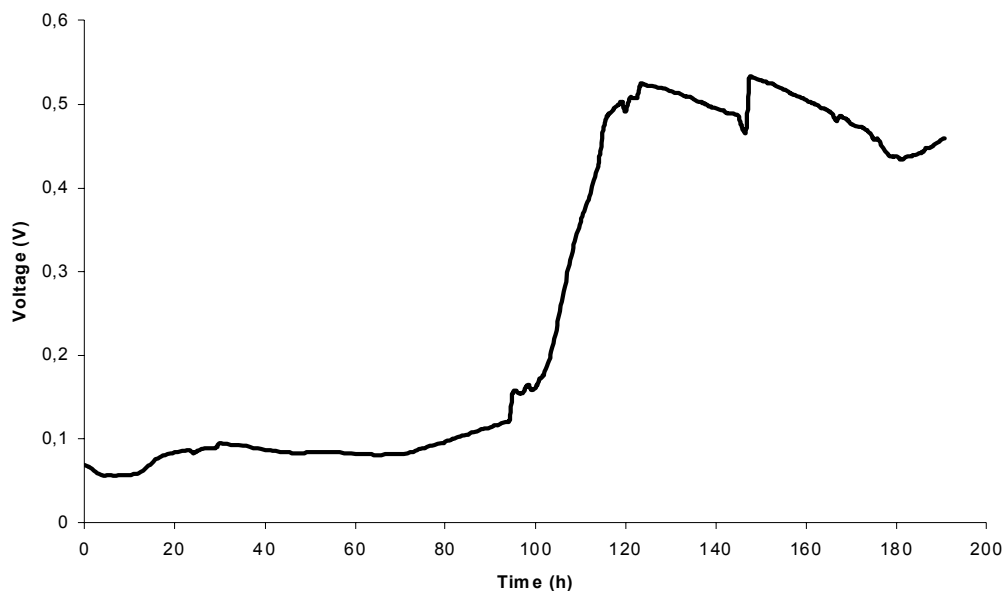


Fig. IV.1 De opstart van een reactor gevoed met acetaat [Rabaey *et al.*, 2005b]

### 3 De invloed van de externe weerstand

#### 3.1 De ladingsoverdracht

In de literatuur werd de invloed van de externe weerstand slechts beperkt besproken. De uitgevoerde testen brachten aan het licht dat deze externe weerstand een limiterende factor kon zijn. In de testen met glucose ( $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) kon een coulometrisch efficiëntie van  $86 \pm 5 \%$  behaald worden door de externe weerstand op 10 ohm in te stellen, terwijl dat bij 100 ohm slechts  $14 \pm 1 \%$  bedroeg. Bij acetaat ( $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) bleek 15 ohm de optimale externe weerstand te zijn om een maximale coulometrische efficiëntie van  $84 \pm 11 \%$  te bekomen. Ook voor het afvalwater bleek een lage externe weerstand de efficiëntie van ladingsoverdracht sterk te verhogen. Enkel Rabaey *et al.* [2003] haalden gelijkaardige resultaten, al gebeurde dit dan in batchtesten. Continue testen van Rabaey *et al.* [2005d] haalden coulometrische efficiënties van ongeveer 50 % met glucose en sucrose.

De stroomproductie per volume-eenheid reactor die bekomen werd, is, bij het weten van de auteur, de hoogst gerapporteerde stroomproductie voor continue microbiële brandstofcellen in de literatuur. De maximale uurgemiddelde stroomproducties voor glucose, acetaat en ziekenhuis afvalwater als substraat waren respectievelijk  $1,04 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (30 mA, 0,21 L NAC),

1,25 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (52 mA, 0,30 L NAC) en 0,92 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (27 mA, 0,21 L NAC). Additie van acetaat bij industrieel afvalwater leverde een maximale stroomproductie op van 0,98 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> (29 mA, 0,21 L NAC). He *et al.* [2005] bekwamen een maximale stroomproductie van 0,08 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> voor hun upflow reactor die het meeste de geteste reactor benaderde en waarbij er ook K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> gebruikt werd. Het substraat was hier synthetisch afvalwater met 1,00 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> sucrose als elektrondonor.

De testen toonden aan dat bacteriën over de mogelijkheid beschikten om quasi alle ladingen uit een substraat zoals glucose of acetaat op een elektrode over te brengen in een continue reactor. Hiertegenover stond dat dit niet meer volledig mogelijk bleek als de externe weerstand niet aangepast was.

### 3.1.1 Het gebruik van specifieke substraten

Om alle ladingen door het circuit te doen migreren, wordt er doorgaans gepoogd de externe weerstand zo laag mogelijk te houden en tegelijk de celspanning te maximaliseren ( $I = V \times R^{-1}$ ). Een eerste knelpunt hierbij is het feit dat de celspanning gelimiteerd is. Elk redoxkoppel legt in ieder geval een maximale spanning vast en bovendien liggen de maximaal haalbare spanningen in de realiteit nog een stuk lager door de aanwezige overpotentialen. Deze maximaal haalbare spanning kon het best benaderd worden door de open kring potentiaal, al rijzen er ook bezwaren bij deze benadering. Zo zal een open kring een evenwichtstoestand aan geoxideerde en gereduceerde componenten impliceren. Deze evenwichtstoestand is niet representatief voor het geval er stroomproductie is, aangezien het verdwijnen van de reagentia volgens de Nernst-vergelijking de potentiaal beïnvloedt. Ook induceert een open kring fermentatie aangezien de elektrode niet langer als elektronacceptor zal dienstdoen. De elektrochemisch actieve biomassa op de elektrode wordt geïnhibeed ten voordele van fermentatieve species, waardoor de anodepotentiaal sterk kan zakken. Daarom is het enkel zinvol een open kring potentiaal te bepalen gedurende een korte periode.

De celspanning kan verhoogd worden door het drukken van de overpotentialen door bijvoorbeeld een katalyserende elektrode of de adaptatie van de microbiële gemeenschap aan de MBC-condities. Deze eerste optie werd niet onderzocht aangezien de economische relevantie voor het gebruik van platina bij de aanvang van de testen niet kon verdedigd worden en platina bovendien snel vervuild raakt door sulfiden die inherent in de bacteriële suspensie voorkomen. Ook het toevoegen van mediators kan de overpotentiaal, veroorzaakt door de overdracht van elektronen van de bacteriën naar de elektrode, minimaliseren. Maar aangezien deze mediators vaak toxische kleurstoffen zijn, ze uitspoelen, degenereren en bovendien ook een meerkost vormen, werd deze optie buiten beschouwing gelaten. Bacteriën zouden immers zelf in staat zijn om dergelijke elektronshuttles aan te maken [Rabaey *et al.*, 2004]. Uit de testen is ook duidelijk gebleken dat een lage anodepotentiaal kon behaald worden. Dit impliceert dat de verliezen in de anode beperkt blijven. Het drukken van de overpotentialen werd in de testen gerealiseerd door een optimalisering van de reactor. Een stabiele kathodepotentiaal bij hoge stroomdensiteiten was ook een belangrijke parameter. Het huidige gebruik van K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> aan een standaardpotentiaal van + 0,350 V SHE was duidelijk een tussenstap, zeker omwille van de kostprijs van niet-regenereerbaar katholiet, en het gebruik van zuurstof als de finale elektronacceptor (+ 0,820 V SHE, bij p = 0,2 atm) moet het einddoel zijn. Het probleem was echter dat er nog geen waardevolle alternatieven waren zodat K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> de best beschikbare oplossing was.

Aangezien er niet verder aan de celspanning kon gesleuteld worden, lag de focus voor een hogere stroomproductie bijgevolg op de externe weerstand. Het verlagen van de externe weerstand resulteert in een hogere stroomproductie op voorwaarde dat de celspanning constant blijft. Maar deze celspanning bleef niet onafhankelijk van de aangelegde externe weerstand. Om een stroommaximalisatie te bekomen, kan een hoge externe weerstand verlaagd worden met een factor zolang de celspanning met een kleinere factor vermindert.

$$I_1 = \frac{\Delta V_1}{R_1}$$

$$I_2 = \frac{\Delta V_2}{R_2} = \frac{\Delta V_1 / a}{R_1 / b}$$

Het is dus voordelig de weerstand te verkleinen (delen door b) als de celspanning minder dan evenredig daalt. Zolang  $b > a$  is de optimale stroomproductie niet bereikt. Dat dit nodig was blijkt uit het feit dat een externe weerstand van 100 ohm bij een maximale celspanning van ongeveer 0,650 V (gebaseerd op een open kring potentiaal) slechts 6,5 mA kon produceren. Omgerekend voor de gebouwde reactor van 0,21 L NAC komt dit neer op 0,22 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>. Bij glucose werd een maximale stroomproductie van 0,21 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> opgemeten, wat impliceert dat het probleem in deze omstandigheden niet direct bij de bacteriën lag. Voor een stroomproductie van 1,07 kg CZV m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup> kan berekend worden dat een externe weerstand van 21 ohm hier noodzakelijk is als de celspanning van 0,650 V behouden blijft voor een reactor van 0,21 L NAC (15 ohm voor 0,30 L NAC). De celspanning bleef echter niet constant op 0,650 V SHE waardoor de optimale externe weerstand lager moest liggen. Bij glucose werd zo bij 10 ohm een maximale stroomproductie verkregen. Bij acetaat kon besloten worden dat er een hogere stroomproductie was bij 15 ohm dan bij 10 ohm (0,21 L NAC). Bij de overgang van 15 naar 10 ohm bleek  $a = 2,1$  en  $b = 1,5$ . Het is mogelijk dat bacteriën door een externe factor belemmerd werden. Dit kon wegens het tijdsschema van de geplande proeven niet gecontroleerd worden met een herhaling. Zo kon een slecht elektrisch contact of een slechte kwaliteit van het katholiet de stroomproductie significant verminderen. Verder onderzoek is vereist om na te gaan of er daadwerkelijk stroomlimitatie optreedt bij erg lage externe weerstanden, omdat dit zich niet voordeed bij de grote reactor van 0,30 L NAC die op acetaat werkte.

Dit lijkt immers vreemd aangezien een lagere externe weerstand zich vooral zal vertalen in een hogere anodische potentiaal (Fig. III.20). Deze omstandigheden zijn energetisch gunstiger voor de bacteriën dan hoge externe weerstanden. Zij kunnen via de elektronentransportketen slechts de energie benutten die vervat ligt tussen de potentiaal van energetische carriers zoals NADH ( $E'_0 = -0,320$  V SHE) en ferredoxine ( $E'_0 = -0,420$  V SHE) en de potentiaal van het laatste complex van de elektronentransportketen dat gebruikt kan worden voor extracellulaire elektrontransfer. Deze lengte van de transportketen wordt bepaald door de potentiaal van de anode-elektrode en van de mogelijkheid om bepaalde elektronshuttles te gebruiken. Als het verlagen van de externe weerstand gepaard ging met een verhoging van de anodepotentiaal, dan is de energiewinst voor de bacteriën groter. De elektronshuttles zouden hierbij zelfs beter werken aangezien ze sneller oxideren aan de elektrode bij een hoge anodische potentiaal. Hierdoor zouden meer en andere soorten bacteriën in staat geweest zijn hun metabolisme tot ontwikkeling te brengen.

### 3.1.2 Het gebruik van afvalwater

Bij de testen met het afvalwater waren er gelijkaardige tot merkkelijk hogere influentbelastingen dan bij de testen met glucose en acetaat. Toch bleef de stroomproductie doorgaans ondermaats. Een eerste denkpiste bestond erin het effect van de externe weerstand te onderzoeken. Een lagere externe weerstand verhoogde de stroomproductie wel, maar niet in dezelfde mate als bij glucose en acetaat. Er moesten andere redenen ook van belang zijn. Wellicht migreerden bepaalde componenten doorheen het uitwisselingsmembraan en interfereerden in de kathode met het katholiet. Een diffusionele pollutie van de kathode is niet ondenkbaar aangezien het katholiet vaak een donkere kleur kreeg door het gebruik bij afvalwater. Ook de biodegradeerbaarheid van het afval bleek een cruciale parameter (zie verder).

### 3.2 De energieproductie

De recuperatie van elektronen is één zaak, de recuperatie van energie is er een andere. De externe weerstand waarbij de meeste ladingen gegenereerd werden, was daarom nog niet deze die de meeste energie opleverde. De optimale externe weerstand voor energieproductie lag voor glucose en acetaat tussen 20 en 25 ohm. Voor glucose leverde het optimaliseren van de externe weerstand een energetische efficiëntie van  $22 \pm 3$  % op. Bij acetaat bleek dit zelfs  $32 \pm 6$  % te zijn. In absolute termen kwam dit neer op respectievelijk  $41 \pm 6$  en  $52 \pm 10$  Watt  $m^{-3}$  NAC. Het maximale uurgemiddelde bedroeg 91 Watt  $m^{-3}$  NAC en werd bekomen bij het gebruik van acetaat als substraat.

Bij het afvalwater lag dit enigszins anders. Voor huishoudelijk afvalwater (hoge externe weerstanden) werd slechts 3 % van de ingebrachte energie teruggewonnen. Bij het ziekenhuis afvalwater werd duidelijk dat 50 ohm de optimale energetische efficiëntie opleverde:  $4 \pm 1$  %. Hier bedroeg het vermogen  $14 \pm 2$  Watt  $m^{-3}$  NAC met een maximum van 19 Watt  $m^{-3}$  NAC. Een verdubbeling van het influentdebiet gecombineerd met een piekbelasting ( $6,36$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ ) bij 10 ohm leverde evenwel 35 Watt  $m^{-3}$  NAC op, alhoewel er buiten deze piekbelasting slechts  $5 \pm 6$  Watt  $m^{-3}$  NAC geproduceerd werd.

Opmerkelijk was dat de optimale externe weerstand voor energieproductie bij glucose en acetaat rond 20 - 25 ohm lag, maar voor ziekenhuis afvalwater rond 50 ohm. Mogelijks was het zo dat een lage externe weerstand de kathode ervan weerhield een hoge potentiaal te bereiken omwille van diffusionele pollutie. Van het industriële afvalwater werd verwacht dat het hoge concentraties vluchtige vetzuren bevatte, aangezien hoge concentraties vluchtige vetzuren een traditioneel probleem zijn in het effluent van een zwaar beladen anaërobe vergister. Het industriële afvalwater kon slechts  $11 \pm 9$  Watt  $m^{-3}$  NAC leveren bij een externe weerstand van 15 ohm (maximaal 34 Watt  $m^{-3}$  NAC). De analyse van de vluchtige vetzuren van dit afvalwater verduidelijkte dat er slechts een beperkte hoeveelheid van deze vluchtige vetzuren aanwezig was: slechts 70 mg acetaat  $L^{-1}$  (omgerekend: 0,26 kg CZV-acetaat  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ ).

Hierna werd er extra acetaat toegevoegd aan dit industriële afvalwater. Er werd op deze manier  $44 \pm 8$  Watt  $m^{-3}$  NAC bekomen met een maximum van 57 Watt  $m^{-3}$  NAC.

Het verhogen van de externe weerstand deed de celspanning stijgen, maar weliswaar werd er vanaf een bepaalde externe weerstand een plateau in de celspanning waargenomen. Het was duidelijk dat een verdere toename van de externe weerstand nefast was voor de energieproductie, aangezien de externe weerstand invers gecorreleerd is aan de energieproductie. Het is dus nodig een externe hoge weerstand te verlagen bij een gelijkblijvende celspanning. Zelfs als de celspanning begint te dalen kan het energetisch gezien nog steeds interessanter zijn de externe weerstand te verlagen als het kwadraat van de celspanning minder snel daalt dan de externe weerstand.

$$P_1 = \frac{\Delta V_1^2}{R_1}$$

$$P_2 = \frac{\Delta V_2^2}{R_2} = \frac{\left(\frac{\Delta V_1}{a}\right)^2}{R_1/b}$$

Het is met andere woorden nodig dat er bij een overgang van  $R_1$  naar  $R_2$  ( $R_1 > R_2$ ) geldt:  $b > a^2$ . Hier zal de optimale externe weerstand voor energieproductie verschillen van de weerstand die een maximale stroomproductie toelaat.

Er zijn met andere woorden twee interessante weerstanden en dus moet op dit punt een keuze gemaakt worden. Het is aannemelijk dat de focus bij het gebruik van specifieke substraten met een positieve marktwaarde, zoals glucose en acetaat, op energieproductie komt te liggen. Voor afvalwater, dat een negatieve marktwaarde heeft, zal de elektrochemische afbraak vooropstaan en is energieproductie eerder bijkomstig. De zuivering van afvalwater bestaat doorgaans uit een aantal behandelingsstappen. Het kan economisch gunstiger worden om op energierecuperatie te focussen als een andere voor- of nabehandeling een bepaalde fractie economischer kan afbreken. Zo zal recalcitrant materiaal niet of nauwelijks afgebroken worden in een microbiële brandstofcel maar mogelijks wel in een aërobe nabehandeling. Ook is het niet ondenkbaar dat door een verdere optimalisering van microbiële brandstofcellen, de energetische efficiënties voor acetaatafbraak hoger worden dan voor een anaërobe vergisting, waarbij er bovendien een uitstoot aan afvalgasen is. De kern van de zaak blijft dat de keuze van de externe weerstand de keuze van het eindresultaat weerspiegelt: afbraak of energieproductie.

### 3.3 De CZV-verwijdering

Doorgaans bepaalde de externe weerstand de kwaliteit van het effluent. Een lage externe weerstand leverde een hogere stroomproductie op, waardoor er minder teruggevonden werd in het effluent. De maximale CZV-verwijdering die bekomen werd, was ongeveer 90 % bij een glucose- en acetaatbelasting van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (10 - 15 ohm). Hierbij werd de influentconcentratie van  $312 \text{ mg CZV L}^{-1}$  verminderd tot een effluentconcentratie van  $30 \text{ mg CZV L}^{-1}$ . Bij het afvalwater lag de verwijderingsefficiëntie steeds lager, al was de effluentconcentratie aan CZV ook doorgaans lager bij een lage weerstand. Ziekenhuis afvalwater met een influentconcentratie van  $370 \pm 38 \text{ mg CZV L}^{-1}$  kon omgezet worden tot een effluentconcentratie van  $144 \pm 18$  gebruik te maken van een externe weerstand van 20 ohm ( $61 \pm 1 \%$  CZV-verwijdering, Tabel III.25).

Het gebruik van een lange reactor (0,30 L NAC) resulteerde bij het ziekenhuis afvalwater niet in een hogere procentuele CZV-verwijdering dan bij de korte reactoren (0,21 L NAC). Dit betekende dat de extra verblijftijd van drie uur niet resulteerde in een proportioneel hogere CZV-afbraak. De biologisch

interessante fractie voor stroomproductie wordt in een microbiële brandstofcel dus wellicht erg snel gemetaboliseerd terwijl het meer recalcitrante materiaal wellicht veel meer tijd vergt om afgebroken te worden.

## 4 De impact van het soort substraat en de belasting

### 4.1 Het gebruik van specifieke substraten

De aard van het substraat bepaalde de performantie van de microbiële brandstofcel. Allereerst wordt de aandacht gevestigd op het verschil tussen glucose en acetaat. Zo was de stroomproductie bij een lage belasting ( $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ ) hoger bij glucose dan bij acetaat. Bij  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ , lag de stroomproductie voor glucose in dezelfde lijn als voor acetaat. Wellicht valt dit te verklaren door de lagere energetische winst die er te behalen viel bij een acetaatmetabolisme zodat er een zekere concentratie aan acetaat nodig was om een volledige expressie van een dergelijke biomassa te creëren.

Op de vraag of er een optimale belasting bestond, kon er geen eenduidig antwoord geformuleerd worden. Bij glucose kon er niet vastgesteld worden dat het verhogen van de belasting een negatieve invloed op de stroomproductie had. Bij acetaat lag dit anders: hier bleek er zich bij de overgang van  $2,14 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  naar  $2,67 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  bij 20 ohm een significante stroomdaling voor te doen ( $0,30 \text{ L NAC}$ ). De optimale belasting, als die al bestaat, zal wellicht afhangen van veel meer parameters, zoals de biomassadensiteit en de samenstelling van de microbiële gemeenschap.

### 4.2 Het gebruik van afvalwater

#### 4.2.1 Het gebruik van huishoudelijk afvalwater

Bij afvalwater bestaan de elektrondonoren doorgaans uit een amalgaam aan substraten, al is er slechts een bepaalde fractie snel biodegradeerbaar. Deze biodegradeerbare fractie wordt het best benaderd met behulp van de  $BZV_5^{20}$ -test. Dit is slechts een benadering aangezien het hier gaat om een aërobe afbraak gedurende 5 dagen. De biodegradeerbare fractie van de CZV (bCZV) wordt het best benaderd door  $1,5 \times BZV_5^{20}$ . Bij het huishoudelijke afvalwater bedroeg de bCZV/CZV-verhouding 0,66. Als men de coulometrische efficiëntie zou uitdrukken ten opzichte van deze biodegradeerbare fractie, dan is deze nog steeds niet vergelijkbaar met de coulometrische efficiëntie die bij de specifieke substraten verkregen werd. Bij een glucosebelasting van  $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  en externe weerstand van 50 ohm, was de coulometrische efficiëntie voor glucose  $58 \pm 6 \%$  en voor acetaat  $40 \pm 5 \%$ , terwijl deze voor het afvalwater  $16 \pm 6 \%$  zou bedragen als deze zou uitgedrukt worden op basis van de biodegradeerbare CZV-fractie. Als we het geval van glucose of acetaat als het ideale geval zouden nemen, dan waren er limiterende factoren waardoor het afvalwater deze situatie niet bereikte. Er worden drie mogelijke verklaringen gegeven, al is een combinatie van deze verklaringen ook mogelijk.

Een eerste mogelijkheid bestond erin dat deze biodegradeerbare fractie componenten bevatte die niet biodegradeerbaar zijn onder gereduceerde omstandigheden. Substraten die meer *crosslinking*

bevatten vereisen de aanwezigheid van zuurstof voor ringsplitsing en gespecialiseerde enzymen, zoals oxygenasen. De expressie van deze extra enzymen vereist energie maar aangezien de energiewinst voor de bacteriën beperkt blijft onder gereduceerde omstandigheden, is het niet ondenkbaar dat deze expressie zich niet direct voordeed in de testen. Daartoe werden de testen met huishoudelijk afvalwater lange tijd aangehouden om selectie naar species te krijgen die een ruimer aanbod aan substraten kunnen metaboliseren met overdracht van elektronen op de elektrode. Dit gebeurde niet, of althans niet in die zin dat er na verloop van tijd een hogere stroomproductie kon waargenomen worden. Zuurstof is naast een finale elektronacceptor ook een initiator van de biodegradatie. In toekomstig onderzoek kan onderzocht worden of een periodieke zuurstofpuls de degradatie van recalcitrant organisch materiaal in de microbiële brandstofcel versterkt. Het herstel van een dergelijke zuurstofpuls gebeurde snel (Fig. III.30). In deze test werd er evenwel geen hogere stroomproductie vastgesteld: er werd ook slechts één dergelijke puls gegenereerd.

Een tweede mogelijkheid was een gelimiteerde massatransfer omwille van de accumulatie van organisch materiaal in de reactor. Dit kon enerzijds een fysische limitatie betekenen zodat de elektrochemisch actieve bacteriën niet langer de volledige biofilm konden koloniseren. Ook kon het particulier en colloïdaal materiaal een limitatie van de toevoer van substraat naar de bacteriën betekenen. Deze accumulatie van organisch materiaal kwam de elektrische geleidbaarheid in het anodecompartiment wellicht niet ten goede.

Ten derde bestaat de mogelijkheid dat er alternatieve elektronacceptoren aanwezig waren in het afvalwater waardoor de coulometrische efficiëntie negatief beïnvloed werd. Zo konden complexe organische moleculen gereduceerd worden, maar zolang deze niet verder degradeerden, betekende dit een verlies aan ladingen. Hierbij zou een periodieke zuurstofpuls ook een positief effect betekenen op lange termijn. Toch moet er een toestand bereikt worden dat de dagelijkse oxidatie van recalcitrant organisch materiaal op den duur sneller gebeurt dan de dagelijkse toevoer ervan, anders blijft een aërobe behandeling een betere technologie.

De testen met de extra additie van substraten (Tabel III.24) waren interessant in deze context. Het gewone afvalwater leverde een stroomproductie van  $0,07 \pm 0,02$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bij 50 ohm (influentbelasting:  $0,51$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ , 14 % coulometrische efficiëntie). Na additie van  $0,25$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  acetaat bovenop de gewone belasting in het afvalwater werd er een extra toename aan stroom van  $0,11$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  (44 % coulometrische efficiëntie) opgemeten. De totale stroom productie was dus  $0,18 \pm 0,02$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  (influentbelasting:  $0,76$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$ , 24 % coulometrische efficiëntie). Bij de testen met acetaat als specifiek substraat was de stroomproductie  $0,21 \pm 0,03$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  (influentbelasting:  $0,53$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  & 50 ohm externe weerstand,  $40 \pm 5$  % coulometrische efficiëntie).

Een test waarbij het afvalwater 1 tot 3 dagen geïncubeerd werd bij  $37$  °C leverde een maximale stroomproductie van  $0,22 \pm 0,01$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  op (influentbelasting  $1,69$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  & 75 ohm, 13 % coulometrische efficiëntie). Als dit vergeleken wordt met de stroomproductie bij glucose ( $0,23 \pm 0,02$  kg CZV-stroom  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  bij 75 ohm &  $1,07$  kg CZV  $m^{-3}$  NAC  $d^{-1}$  influentbelasting) kan besloten worden dat een voorbehandeling van het afvalwater een gunstig effect op de performantie had.

#### 4.2.2 Het gebruik van ziekenhuis afvalwater

Het ziekenhuis afvalwater bezat een hogere fractie aan biodegradeerbaar organisch materiaal dan het huishoudelijke afvalwater. Zo'n  $78 \pm 20$  % van de CZV in het influent kon als  $BZV_5^{20}$  bestempeld worden, zodat een bCZV/CZV-verhouding van 1 kon aangenomen worden. Dit deed de stroomproductie toenemen ten opzichte van het gebruik van huishoudelijk afvalwater, al bleef de stroomproductie bij een lage externe weerstand ver onder de performantie die bij acetaat en glucose bekomen werd. Een verdubbeling van de voedingsnelheid bij 10 ohm leverde nog steeds geen hoge stroomproductie op, al was er eenmaal een hoeveelheid hoog belast ziekenhuis afvalwater dat tot  $0,92 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  stroom kon leveren, al bleef de coulometrische efficiëntie hierbij toch ondermaats (Tabel III.25). Dit ziekenhuis afvalwater kwam overeen met heel vers huishoudelijk afvalwater, maar aangezien het huishoudelijke afvalwater een lange tijd onderweg was via de riolering, was de biodegradeerbare fractie van huishoudelijk afvalwater lager. Het ziekenhuis afvalwater werd ter plaatse bemonsterd en verder maximaal 10 dagen op  $4^\circ\text{C}$  bewaard.

Later werd een zure hydrolysetest uitgevoerd bij een verhoogde temperatuur als voorbehandeling en dit leverde bij een externe weerstand van 15 ohm een stroomproductie tot  $0,51 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  op, terwijl een loutere temperatuursbehandeling maximaal  $0,34 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  aan stroom kon leveren (Fig. III.28). Zonder behandeling bedroeg de stroomproductie bij 15 ohm  $0,21 \pm 0,05 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Dit positieve effect kon slechts een aantal uur aangehouden worden, wellicht omdat de influentkwaliteit snel degenereerde. Toch illustreerde dit opnieuw de positieve invloed van hydrolyse van het afvalwater. Ook energetisch gezien was dit gunstig aangezien er maximaal  $16 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  bekomen werd na de zure hydrolyse op verhoogde temperatuur terwijl het louter verhogen van de temperatuur maximaal  $7 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  opleverde. Zonder behandeling werd er bij deze externe weerstand slechts  $5 \pm 3 \text{ Watt m}^{-3} \text{ NAC}$  gegenereerd.

#### 4.2.3 Het gebruik van industrieel afvalwater

Het industriële afvalwater was zwaar beladen en er werden hoge concentraties aan vluchtige vetzuren verwacht. Er werd een hoge (50 ohm) en een lage (15 ohm) externe weerstand getest. De stroomproductie was lager dan verwacht met deze hoge belasting:  $0,40 \pm 0,15 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  als stroom (coulometrische efficiëntie: 11 %). Analyse van de vluchtige vetzuren verklaarde dit enigszins aangezien er alleen acetaat in voorkwam wat slechts een belasting van  $0,26 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  aan vluchtige vetzuren opleverde. Een  $BZV_5^{20}$ -test kon om technische problemen niet uitgevoerd worden.

De relatief lage stroomproductie kwam wellicht door het feit dat het afvalwater al enige dagen oud was. Om een reële situatie te simuleren werd er voor  $2,68 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  belasting toegevoegd onder de vorm van acetaat en op deze wijze werd een maximale stroomproductie voor afvalwater bekomen van  $0,98 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Dit toonde aan dat met een voldoende hoge belasting het toch mogelijk was de limiterende factoren te overkomen om een even hoge stroomproductie als bij een specifieke toediening van acetaat te bekomen.

Er werd later vers afvalwater geïncubeerd op  $44^\circ\text{C}$  en zo werd een maximale belasting bekomen waarvan het grootste deel uit vluchtige vetzuren bestond ( $\pm 70$  %). De stroomproductie was ondermaats en er was slechts een beperkte verwijdering van de vluchtige vetzuren. In tegenstelling



tot de bevindingen van Rabaey *et al.* [2003] werd er geen toename aan boterzuur vastgesteld bij een dergelijke situatie van *overflow*. Wat wel overeenstemde, was het negatieve effect van een hoge belasting op de stroomproductie. De overflow aan bepaalde metabolieten werkt duidelijk een hoge stroomproductie tegen.

## 5 Onderzoek naar de verliezen

De mogelijke verliezen aan ladingen zijn: sulfaatreductie, fermentatie, accumulatie van organisch materiaal, aangroei van biomassa, methaanvorming, waterstofgasvorming en oxidatief metabolisme omwille van zuurstofpermeatie doorheen het kationuitwisselingsmembraan.

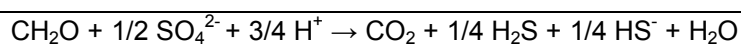
### 5.1 Sulfaatreductie

Bij een volledige reductie van sulfaat naar sulfide worden er 8 mol elektronen verbruikt per mol sulfaat. Sulfaatreductie doet zich onder standaardomstandigheden voor bij - 0,221 V SHE (McCarty, 1971). Maar zelfs als de gemeten anodepotentiaal hoger zou zijn, is sulfaatreductie niet uitgesloten, aangezien er nog een overpotentiaal is tussen de elektrode en de potentiaal die heerst voor de bacteriën. Bovendien kunnen sterke potentiaalgradiënten heersen naargelang de diepte in de biofilm. Als deze gereduceerde zwavelverbindingen niet geoxideerd worden aan de anode doet er zich een verlies voor. Bij glucose werd er vastgesteld dat er een significante hoeveelheid sulfaat verwijderd werd. In het slechtste geval werd er H<sub>2</sub>S gevormd dat uit de reactor vervluchtigde door het membraan of de headspace. Deze situatie werd steeds gevisualiseerd in de figuren die de bestemming van de influentbelasting weergaven. Het is anderzijds ook zo dat H<sub>2</sub>S tot een zekere concentratie oplosbaar is in het water. Carroll en Mather [1989] berekenden de concentratie aan H<sub>2</sub>S en HS<sup>-</sup> in functie van de pH. Aangezien de pH van het effluent rond 6,5 schommelde, werd een oplosbaarheid van beiden samen van 0,1 - 0,2 molal aangenomen. Er kon met andere woorden tot 3,2 g sulfide-S L<sup>-1</sup> oplossen in het water, al verloopt het oplossen zo traag dat het gebruik van een Henry-constante weinig zin heeft. Dergelijke concentraties konden niet bereikt worden en dus kon gesteld worden dat de sulfiden die uit de reactor kwamen in oplossing bleven als de dampspanning verwaarloosd wordt. Deze gereduceerde zwavelverbindingen worden dan in een CZV-meting met kaliumdichromaat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) geoxideerd, zodat deze verliezen meegerekend worden bij het effluent.

Het gedrag van H<sub>2</sub>S in de reactor valt minder eenduidig te beoordelen. Permeatie doorheen het uitwisselingsmembraan en pompdarmpjes wordt mogelijk geacht, al waren er niet voldoende gegevens om een zinvolle inschatting te maken.

#### Glucose

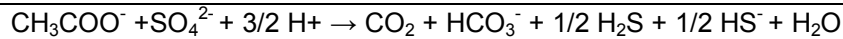
De sulfaatreductie met een suiker levert de bacteriën onder standaardcondities een potentiaalverschil van 0,213 V op volgens de reactie [McCarty, 1971]:



Omgerekend betekent dit dat sulfaatreducerende bacteriën onder standaardomstandigheden **21 kJ** winnen **per mol elektronen** of 2,6 kJ per gram CZV onder de vorm van glucose (0,714 kWh kg<sup>-1</sup> CZV-glucose).

### Acetaat

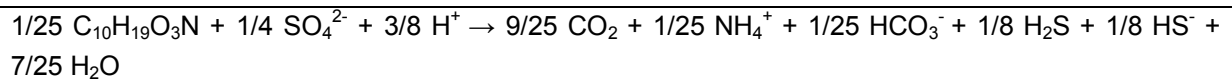
De sulfaatreductie met acetaat levert de bacteriën onder standaardcondities een potentiaalverschil van 0,066 V op volgens de reactie [McCarty, 1971]:



Omgerekend betekent dit dat sulfaatreducerende bacteriën onder standaardomstandigheden **6 kJ** winnen **per mol elektronen** of 0,8 kJ per gram CZV onder de vorm van acetaat (0,221 kWh kg<sup>-1</sup> CZV-acetaat).

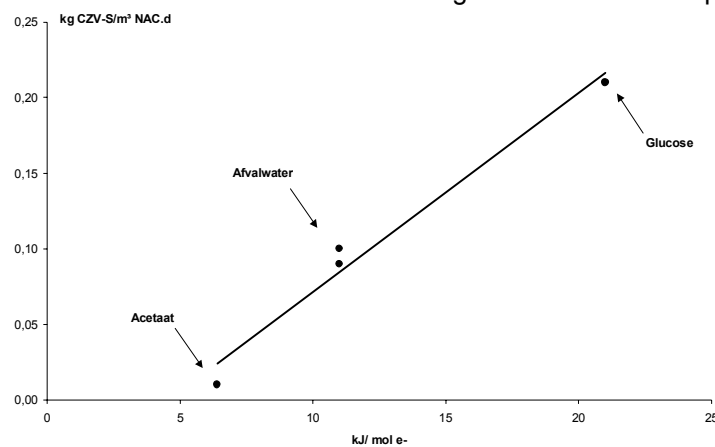
### Afvalwater

Het substraat in afvalwater is heel divers, maar McCarty [1971] stelde C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N voor om stochiometrische berekeningen mee te maken. De sulfaatreductie met afvalwater levert de bacteriën onder standaardcondities een potentiaalverschil van 0,113 V op volgens de reactie [McCarty, 1971]:



Omgerekend betekent dit dat sulfaatreducerende bacteriën onder standaardomstandigheden **11 kJ** winnen **per mol elektronen** of 1,3 kJ per gram CZV onder de vorm van acetaat (0,365 kWh kg<sup>-1</sup> CZV-afvalsubstraat).

Er werd vastgesteld dat de hoogste sulfaatverwijdering bij glucose voorkwam (0,21 kg CZV-S m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>) en de laagste sulfaatverwijdering bij acetaat (0,01 kg CZV-S m<sup>-3</sup> NAC d<sup>-1</sup>). Het afvalwater leverde een intermediaire sulfaatverwijdering op, dit is niet verwonderlijk aangezien de energetische winst voor bacteriën bij acetaat erg laag is. Bij een externe weerstand van 50 ohm werd een verband vastgesteld tussen beide parameters (Fig. IV.2).



**Fig. IV.2 De sulfaatverwijdering uitgedrukt als de fractie aan influentbelasting die maximaal kon verloren gaan door sulfaatreductie in functie van de energetische winst voor de bacteriën door een dergelijke sulfaatreductie**

Sulfaatreductie kon geïnhibeerd worden door toediening van 10 mM NaMoO<sub>4</sub>, al resulteerde dit niet in een verhoogde stroomproductie. Het kan zijn dat een hogere stroomproductie tegengewerkt werd door een verlies aan gereduceerde zwavelverbindingen als elektronshuttle. Ook kan het zijn dat molybdaat een antagonistische werking had op de stroomproducerende bacteriën waardoor er geen stijging kon vastgesteld worden. Onderzoek van Tender *et al.* [2002], Bond *et al.* [2002] en Straub en Shink [2004] maakte duidelijk dat de zwavelcyclus in een microbiële brandstof een niet te onderschatten rol kan spelen, al is deze zwavelcyclus in microbiële brandstofcellen nog niet volledig in kaart gebracht. De bovenstaande waarden werden bekomen onder standaardcondities. In de realiteit zijn deze spanningsverschillen en energiewinsten afhankelijk van de aanwezige concentraties.

## 5.2 Fermentatie

Als de omstandigheden op bepaalde plaatsen in de reactor, bijvoorbeeld waar zich een dikke biofilm heeft gevormd, dermate gereduceerd zijn dat het gebruik van de elektrontransportketen niet mogelijk is, zullen bacteriën NADH<sub>2</sub>, gevormd uit de substraatfosforylatie, enkel kunnen regenereren door reductie van pyruvaat met vorming van fermentatieproducten. Dit betekent een verlies aan elektronen die anders aan de elektrode konden overgedragen worden. Deze fractie zal dan in het effluent teruggevonden worden. Analyse van de vluchtige vetzuren heeft nooit een toename aan vluchtige vetzuren ten opzichte van het influent aangetoond bij afvalwater als substraat. Bij glucose was er evenwel vorming van acetaat, vooral bij hoge externe weerstanden. Dit kwam door het feit dat deze externe weerstand de stroomproductie limiteerde. Er werd echter geen onderzoek uitgevoerd naar hogere vetzuren, omdat de vorming in significante hoeveelheden ervan onwaarschijnlijk werd geacht.

## 5.3 Accumulatie van organisch materiaal en aangroei van biomassa

Uit de benaderende korte meting (Tabel III.14) kon niet direct een significante aangroei vastgesteld worden bij het toedienen van glucose en acetaat. Wanneer afvalwater toegediend werd, dan bleek de accumulatie van organisch materiaal het leeuwendeel van de verliezen uit te maken. Het particulier en colloïdaal materiaal werd weerhouden in de matrix aan grafietkorrels en aangezien deze fractie eerder recalcitrant was, kon een dagelijkse toename vermoed worden. Deze accumulatie is niet gewenst en daarmee zal in toekomstige ontwerpen rekening moeten gehouden worden. Een spoeling waarbij fluïdisatie optreedt wordt dan een noodzaak. Hierbij moet bovendien het bed voldoende kunnen uitzetten, waardoor een groter volume boven het bed nodig wordt. Het geconcentreerde spoelwater kan dan behandeld worden in een aërobe of een anaërobe installatie, waarna het eventueel terug naar de microbiële brandstofcel gevoerd wordt. Met de gegenereerde stroom kan eventueel ook een elektrolysecel in de recirculatiekring gevoerd worden bij het gebruik van afvalwater als substraat. Maar ook een beluchtingstap in de recirculatiekring kan de afbraak van het recalcitrant materiaal bevorderen waarna de elektrochemische omzetting in stroomproductie gestimuleerd wordt, al zal uit toekomstig onderzoek moeten blijken of dit haalbaar is.

#### 5.4 Methaanvorming en waterstofgasproductie

Aangezien sulfaatreductie mogelijk bleek, is het niet ondenkbaar dat methaanvorming en waterstofgasproductie zich ook voordeden in het anodecompartiment. Theoretisch gezien is methaanvorming onder standaardcondities mogelijk vanaf - 0,250 V SHE [McCarty, 1971]. Voor glucose, afvalsubstraat en acetaat komt dit respectievelijk neer op 0,184 V, 0,084 V en 0,037 V dat nog door bacteriën kunnen gewonnen worden onder standaardomstandigheden (of: 12 kJ per mol elektronen, 8 kJ per mol elektronen en 4 kJ per mol elektronen). De winst voor bacteriën is hier erg laag en men zou verwachten dat sulfaatreducerende de methanogenen onderdrukken, maar toch is methaanproductie in microbiële brandstofcellen met een hoge interne weerstand mogelijk, zeker als er excessieve hoeveelheden substraat aanwezig zijn en er geen sulfaat aan het medium toegediend werd [He *et al.*, 2005] [Kim *et al.*, 2005]. Zo werd er 35 tot 58 % van de verwijderde CZV omgezet in methaan bij He *et al.* [2005]. Toevoeging van BES kon de methaanproductie verhinderen en zo werd een stijging van de energieproductie vastgesteld van 25 %. Mogelijks ontstond er competitie tussen methanogenen en bacteriën die H<sub>2</sub> kunnen oxideren waarbij ze de elektronen doorgeven aan een elektrode. Het feit dat ze de stroomproductie negatief kunnen beïnvloeden, wijst erop dat de anodepotentiaal in deze reactoren laag was. Methanogenen kunnen waterstofgas tot 3 - 7 Pa [Lovley, 1985] verbruiken, waardoor de waterstofproducerende organismen gestimuleerd worden in hun metabolisme. Deze methaanvormende pathway via H<sub>2</sub> komt voor als de condities stress veroorzaken [McInerney, 1999]. Als het methaanvormende metabolisme niet via H<sub>2</sub> maar direct via acetaat verliep, dan wijst de competitie voor acetaat met de stroomgenererende bacteriën aan dat de energetische winst voor deze laatste erg laag was in deze reactoren en dat de anodepotentiaal dus erg laag was.

In de gebouwde reactoren voor dit eindwerk kon er geen methaanvorming, noch waterstofgasproductie vastgesteld worden bij het huishoudelijke afvalwater, al kan dat zeker niet uitgesloten worden. Gaspermeatie doorheen het uitwisselingsmembraan en de pompdampjes is niet ondenkbaar, alhoewel dit in de voorvermelde publicaties ook een mogelijkheid was. Mogelijks onderdrukten de sulfaatreducerende bacteriën de ontwikkeling van de methanogenen. In de testen met acetaat werd er zelfs nauwelijks sulfaatreductie vastgesteld (cfr. supra): de anodische elektrode was hier een interessantere elektronacceptor voor de bacteriën.

Het is interessant om de potentiële methaanvorming uit acetaat te relateren aan de bevindingen dat de sulfaatreductie uit acetaat zich nauwelijks voltrok. De bovenstaande verklaring opperde dat het energetisch ongunstig zou zijn voor de bacteriën om aan sulfaatreductie te doen met acetaat. Dit lijkt op het eerste zicht in tegenspraak met het feit dat methaanvorming zich voordeed bij He *et al.* [2005], aangezien methaanvorming bij een lagere potentiaal gebeurt onder standaardcondities. Dit hoeft niet in tegenspraak te zijn met de voorgestelde verklaring. De voornoemde opstellingen die methaangas vormden, beschikten niet over de performantie van de reactoren in dit eindwerk waardoor de stroomproductie erg beperkt bleef wat de potentiaal in deze opstellingen dermate deed dalen dat de reactoren sterke vergisting veroorzaakten. De reactoren in dit eindwerk lieten een hoge stroomproductie toe bij een hogere anodische potentiaal, wat energetisch interessanter was voor de bacteriën dan methaanvorming. Ook is het verder weinig zinvol om met voormelde publicaties te vergelijken, aangezien er geen sulfaat toegediend werd terwijl de testen in de eindwerk steeds met sulfaat uitgevoerd werden.

### 5.5 Oxidatief metabolisme omwille van zuurstofpermeatie

Zuurstof kan door een uitwisselingsmembraan dringen en een elektronacceptor vormen waar bacteriën een hogere energiewinst bij realiseren. Dit impliceert dan verlies aangezien deze elektronen niet op de anodische-elektrode terecht komen. Deze permeatie is niet per definitie slecht aangezien een kleine hoeveelheid zuurstof de biodegradatie van recalcitrant materiaal kan initiëren. Berekeningen van Liu *et al.* [2004b] brachten een zuurstofdiffusie van  $2,3 - 23 \mu\text{g O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ membraan h}^{-1}$  aan het licht voor een Nafion-membraan (Dupont). Omgerekend voor het gebruikte membraanoppervlak betekende dit een potentieel verlies van de influentbelasting van  $0,08 - 0,83 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (0,21 L NAC) en  $0,08 - 0,79 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  (0,30 L NAC). Wellicht werd de zuurstof, die door het membraan drong, gemetaboliseerd door een biofilm op het membraan zelf, waardoor het midden van de reactor steeds optimaal gereduceerd bleef. Ook zal de vorming van een biofilm de permeatie gevoelig verminderen.

Het feit dat coulometrische efficiënties van  $86 \pm 5 \%$  konden bekomen worden bij glucose met 90 % CZV-verwijdering, toont aan dat oxidatief metabolisme omwille van zuurstofpermeatie niet het belangrijkste CZV-verwijderende mechanisme was, integendeel. Er werd bovendien niet gewerkt met een Nafion-membraan, dat door zijn lage waterinhoud een hoge zuurstofpermeatie heeft. Over het gebruikte Ultrex-membraan werden dergelijke data niet gevonden. Er kon dus vermoed worden dat deze zuurstofpermeatie eerder te verwaarlozen was bij de bekomen stroomproducties.

## 6 Ammoniumverwijdering

Bij zowel glucose, acetaat als afvalwater werd er ammoniumverwijdering vastgesteld. Bij glucose en acetaat betrof deze verwijdering 40 - 50 %, terwijl de ammoniumverwijdering bij het afvalwater gemiddeld 32 % was. Het verschil was wellicht te wijten aan de hydrolyse van afvalwater waarbij er ammonium vrijkwam uit organische verbindingen. Er waren verschillende mogelijkheden die konden leiden tot ammoniumverwijdering. Een substantiële vervluchtiging hoort daar niet bij aangezien de pH daarvoor te laag bleef.

Een eerste mogelijkheid was dat er ammoniumoxiderende bacteriën koloniseerden op de biofilm aan de anodische kant van het kationuitwisselingsmembraan waar ze de zuurstof verbruikten die door het membraan drong. Deze denkpiste was enkel mogelijk als de geoxideerde stikstof onder de vorm van stikstofgas ( $\text{N}_2$ ) uit de reactor verdween, aangezien andere geoxideerde stikstofvormen verder in de reactor weer als elektronacceptor zouden kunnen gebruikt worden en waarbij er dus een gelijke hoeveelheid ammonium in het effluent zou teruggevonden worden. Geoxideerde stikstofvormen (nitraat en nitriet) werden evenmin, of in verwaarloosbare concentraties althans, aangetroffen in het effluent. Waarschijnlijk betreft het permeatie van ammonium door het kationuitwisselingsmembraan. De ammoniumconcentratie in het katholiet kon niet spectrofotometrisch gemeten worden omwille van de intrinsieke kleur van het katholiet. Ammoniumoxidatie door bacteriën die stikstofgas genereren en hun elektronen afgeven aan de elektrode was een derde mogelijkheid. De ammoniumcyclus werd echter niet verder in detail bestudeerd aangezien het buiten de doelstellingen lag. Voor een vollediger beeld van deze ammoniumverwijdering in microbiële brandstofcellen wordt verwezen naar De Schampelaire [2005].

Uit twee limitatietesten bleek dat ammonium niet de beperkende factor was. Een brandstofcel vertoonde dezelfde performantie gedurende dagen dat er weinig of geen ammonium gedoseerd werd. In de andere test, waarbij de componenten sequentieel toegediend werden, werd ook vastgesteld dat ammonium niet de beperkende factor was.

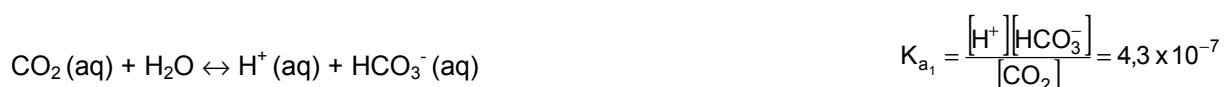
## 7 De rol van fosfaat

Het was niet aangewezen om de concentratie aan fosfaat te bestuderen bij de acetaat- en glucosetoediening, aangezien de M9-oplossing een hoge fosfaatbuffer bevatte waardoor de fosfaatconcentratie buiten het meetbereik viel. Bij de limitatietest, waarbij de M9-componenten sequentieel toegediend werden, kon vastgesteld worden dat er pas een significante stroomproductie ontstond nadat het fosfaat toegediend werd. Naast een kleine hoeveelheid fosfaat noodzakelijk voor metabolisme, was fosfaat wellicht vooral belangrijk omwille van het pH-bufferende effect.

Doorgaans kon vastgesteld worden dat de fosfaatconcentratie in het effluent van het afvalwater iets hoger lag dan in het influent bij het afvalwater. Bij afbraak van organische componenten is een fosfaatvrijstelling normaal. Toch stelt dit problemen voor het gebruik van microbiële brandstofcellen als afvalwaterverwerkende technologie, aangezien fosfaatverwijdering hierbij van groot belang is. De combinatie met andere waterzuiveringstechnologieën lijkt noodzakelijk.

## 8 De rol van de zuurtegraad

Verzuring kon op twee manieren gebeuren. Enerzijds moet er voor elk elektron dat naar de kathode stroomt een positieve lading door het uitwisselingsmembraan stromen. Als migratie van kalium ( $K^+$ ) of ( $Na^+$ ) door het kationuitwisselingsmembraan gunstiger verliep, was het mogelijk dat de geproduceerde protonen accumuleerden in de anode. Een andere mogelijkheid, die wellicht in combinatie met de vorige verklaring de pH-daling verklaarde, was de productie van  $CO_2$  waardoor de protonenconcentratie kon stijgen. Er stelt zich een evenwicht in tussen  $CO_2$  enerzijds en  $H^+$  en  $HCO_3^-$  anderzijds [Zumdahl, 1998]:



De pH in de reactor, en dus ook het effluent, bleek steeds lager dan in het influent ondanks een eventuele fosfaatbuffer. Bij glucose (influent-pH:  $7,0 \pm 0,1$ ) bleek dit voortdurend  $6,7 \pm 0,1$  ongeacht de externe weerstand of belasting. Vanaf een belasting van  $2,67 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  zakte de pH tot  $5,6 \pm 0,4$ . Deze lagere pH werd niet veroorzaakt door hoge concentraties aan vluchtige vetzuren. Vetzuren kunnen bovenop de pH-buffering van fosfaat,  $H_2S$  en carbonaat de pH bepalen. Het gebruik van acetaat als specifiek substraat (influent-pH:  $7,5 \pm 0,3$ ) veroorzaakte een toegenomen pH-daling ten opzicht van glucose bij een zelfde belasting, aangezien de effluent-pH  $6,5 \pm 0,4$  bedroeg voor belastingen van  $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  tot  $2,14 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  bij  $0,21 \text{ L NAC}$ . Ook bij  $0,30 \text{ L NAC}$  bedroeg de effluent-pH  $6,5 \pm 0,4$  voor belastingen van  $1,07 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  tot  $2,67 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$ . Bij  $0,53 \text{ kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}$  bedroeg dit evenwel  $4,9 \pm 0,1$ , wat niet kon verklaard worden.

Bij het huishoudelijke afvalwater bleken de pH-waarden van het influent en het effluent in dezelfde lijn te liggen als bij glucose en acetaat. Hierbij werd er geen buffer gebruikt, maar de stroomproductie was dan ook laag. Bij het ziekenhuis afvalwater lag de stroomproductie hoger; dit is wellicht gecorreleerd aan de lagere pH van het effluent:  $5,8 \pm 0,5$  (influent-pH:  $7,2 \pm 0,2$ ). Het industriële afvalwater vertoonde een hogere influent-pH (tot 8,4) waardoor de pH in de reactor en het effluent steeds boven 7,0 bleef. Het industriële afvalwater, dat een warme voorbehandeling onderging, had een lagere pH. De initiële pH van 7,0 in het influentvat zakte na een dag tot 4,7 waardoor de reactor dermate verzuurde dat de stroomproductie minimaal werd. Een pH-correctie van het influent deed de stroomproductie stijgen, maar na verloop van tijd zakte de pH in het influentvat weer naar pH-waarden kleiner dan 5,0. Het bleek dus noodzakelijk de pH in de reactoren voldoende hoog te houden aangezien de bacteriën gelimiteerd werden door pH-waarden lager dan 5,0.

Het weglaten van de fosfaatbuffer in het katholiet deed de pH van het katholiet doorgaans dalen, al konden er zich sterke fluctuaties voordoen (tot pH 9,0) die geen negatieve impact op de stroomproductie hadden. Er kon besloten worden dat het gebruik van een fosfaatbuffer in het katholiet, zoals voorgesteld door Park en Zeikus [2000] overbodig was bij de bekomen stroomdensiteiten.

## 9 De performantie van de kathode

In de kathode werd oorspronkelijk een  $K_3Fe(CN)_6$ -oplossing met een fosfaatbuffer gebruikt die belucht werd zoals veelvuldig beschreven [Roller *et al.*, 1984] [Delaney *et al.*, 1984] [Park en Zeikus, 2000]. Het beluchten van dit katholiet kon de gereduceerde oplossing niet heroxideren. Door de evolutie van de elektrodepotentialen op te volgen via de potentiostaat kon vastgesteld worden dat het beluchten de potentiaal niet kon veranderen (data niet weergegeven). De heroxidatie van  $Fe(II)(CN)_6^{4-}$  naar  $Fe(III)(CN)_6^{3-}$  kon dus niet spontaan aan opgelost zuurstof in het katholiet gebeuren. Beluchten was met andere woorden niet efficiënt. Ook bleek de fosfaatbuffer (cfr. supra) onnodig.

Het feit dat deze dure elektronacceptor niet spontaan heroxideert in de aanwezigheid van zuurstof, maakt hem onbruikbaar voor praktische toepassingen. Maar zelfs als het mogelijk zou zijn om ferrocyanide te heroxideren door bijvoorbeeld gebruik te maken van een katalyserend oppervlak, zou het financieel nog steeds onhaalbaar zijn. Er moet resoluut gekozen worden voor een kathode waar zuurstof de finale elektronacceptor is. Tot op heden bestaat er geen kathode die eenzelfde stroomproductie toelaat. Aangezien de focus van dit eindwerk lag op het creëren van de ideale omstandigheden van de microbiële gemeenschap mocht de kathode deze performantie zo min mogelijk verstoren en was deze keuze verantwoord. Het drukken van de kathodekosten door het vinden van een betere kathode is een noodzaak. Voorlopig worden er drie denkpijlers uitgewerkt.

- a Oh *et al.* [2004] gebruikten een kathode met slechts  $0,5 \text{ mg Pt cm}^{-2}$  (10 %) als kathode. Dit opent economische perspectieven. Er kon echter slechts een kathodepotentiaal van  $+ 0,463 \text{ V SHE}$  bereikt worden bij open kring. Aangezien een theoretische kathodepotentiaal met zuurstof als finale acceptor van  $+ 0,820 \text{ V SHE}$  niet kan bereikt worden omwille van de beperkte oplosbaarheid van zuurstof in een vloeistof en de kathodepotentiaal snel zakt van zodra er stroom geproduceerd wordt, zijn de resultaten met behulp van edelmetalen nog

steeds ondermaats. Ook maakt de irreversibele desactivatie van platina door H<sub>2</sub>S het gebruik bij afvalwater onwaarschijnlijk aangezien H<sub>2</sub>S door het uitwisselingsmembraan kan dringen.

- b Een kathodische elektrode waarop enzymen gecoat zijn, lijkt potentieel interessant aangezien deze enzymen aan een min of meer stabiele potentiaal werken en erg substraatspecifiek zijn, al kan dat laatste bij afvalwater als een nadeel aanzien worden. Als de levensduur en de stabiliteit kunnen gegarandeerd worden, kunnen de obstakels die de kathode momenteel stelt, overkomen worden. Hydrogenasen lijken interessante enzymen [Karyakin *et al.*, 2004] voor een H<sub>2</sub>-producerende kathode [Liu *et al.* 2005b].
- c Park en Zeikus [2002] creëerden een grafieten kathode-elektrode gecoat met driewaardig ijzer dat fungeerde als katalysator voor elektrontransfer naar zuurstof, via een sequentiële reductie en oxidatie. Deze werkte enkel naar behoren wanneer er in de anode ook een potentiaalregelend redoxkoppel gecoat was zoals Mn<sup>4+</sup> of neutraal rood.



## Hoofdstuk 2

### Een economische invalshoek

De gebouwde microbiële brandstofcel was een tussenstap naar een toepassing die financieel en ecologisch haalbaar zal zijn. Om doelgericht toekomstige veranderingen aan te brengen is het nuttig de kostenstructuur van de microbiële brandstofcel in te schatten. Er werd een stappenplan opgesteld voor het zuiveren van afvalwater (3,833 kWh kg<sup>-1</sup> CZV). Een aantal financiële gegevens werden onder voorbehoud gebruikt (Tabel IV.1). Gewone energiekosten bij bedrijfsvoering (pompen en elektronica), slibverwerking en de bouw van de rest van de reactor werden afgeleid uit realistische kosten bij een aërobe waterzuivering. Intresten werden in deze benadering niet in rekening gebracht.

**Tabel IV.1** Overzicht van de gebruikte parameters bij de financiële benadering

	Kostprijs	Bron	Parameter	Startwaarde
Energiekost bij bedrijfsvoering (pompen e.d.)	5 EUR IE <sup>-1</sup> j <sup>-1</sup>	Labmet	Omgezette belasting	1,07 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
Membraan	100 EUR m <sup>-2</sup>	Membranes Int.	Debiet	3,43 m <sup>3</sup> water m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>
Grafiëtkorrels	5 EUR kg <sup>-1</sup>	Le Carbone	Densiteit korrels	1,51 kg L <sup>-1</sup>
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> [K]	25 EUR kg <sup>-1</sup>	[Richtprijs]	Porositeit korrels (ε)	0,54
Slibverwerking	15 EUR IE <sup>-1</sup> j <sup>-1</sup>	Labmet	Vloeistofinhoud	0,21 L NAC
Groene energieprij	0,15 EUR kWh <sup>-1</sup>	[richtprijs]	Energetische efficiëntie (η)	0,05 kWh kWh <sup>-1</sup>
Kosten reactorbouw	1000 EUR m <sup>-3</sup> NAC	Labmet	Slibproductie	0,3 kg CZV m <sup>-3</sup> NAC d <sup>-1</sup>

De kostprijs van de reactoren, zoals gebouwd en beproefd in dit eindwerk, werd geëxtrapoleerd zodat een kostprijs per m<sup>3</sup> behandelde afvalwater verkregen werd. In vier daaropvolgende stappen werd de grootste kost uit de vorige stap gefocust met een technologische verbetering, die eventueel nog in de toekomst moet aangetoond worden (Tabel IV.2). De afschrijfperiode werd doorgaans op 5 jaar gekozen. De energetische efficiëntie werd verondersteld met 5 % te stijgen in elke stap. De bekomen kosten zijn louter indicatief en werden niet berekend om de toekomstige kosten precies te voorspellen. Het is louter een economische invalshoek om te duiden waar toekomstig onderzoek zich prioritair op kan richten. De bekomen waarden werden als volgt berekend:

**Energiekost bij bedrijfsvoering: 0,07 EUR m<sup>-3</sup> water =**

$$\frac{5 \text{ (EUR IE}^{-1} \text{ j}^{-1}) \times 1000 \text{ (L m}^{-3})}{365 \text{ (d j}^{-1}) \times 200 \text{ (L IE}^{-1} \text{ d}^{-1})}$$

**Membraankost : (A = m<sup>2</sup> membraanoppervlak per m<sup>3</sup> NAC)**

$$\frac{A \text{ (m}^2 \text{ m}^{-3} \text{ NAC)} \times 100 \text{ (EUR m}^{-2})}{365 \text{ (d j}^{-1}) \times 5 \text{ (j)} \times 3,43 \text{ (m}^3 \text{ water m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1})}$$

**Grafiëtkorrels:**

$$\frac{[1 - \varepsilon](\text{m}^3 \text{ korrels m}^{-3} \text{ NAC}) \times 1510 (\text{kg korrels m}^{-3} \text{ korrels}) \times 5 (\text{EUR kg}^{-1} \text{ korrels})}{365 (\text{d j}^{-1}) \times 5 (\text{j}) \times 3,43 (\text{m}^3 \text{ water m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1})}$$

**Bouw van de reactor: 0,16 EUR m<sup>-3</sup> water =**

$$\frac{1000 (\text{EUR m}^{-3} \text{ NAC})}{365 (\text{d j}^{-1}) \times 5 (\text{j}) \times 3,43 (\text{m}^3 \text{ water m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1})}$$

**Katholiet (K = K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>): 321 EUR m<sup>-3</sup> water =**

$$\frac{1,07 (\text{g CZV L}^{-1} \text{ NAC d}^{-1}) \times 4 (\text{mol K mol}^{-1} \text{ CZV}) \times 329 (\text{g K mol}^{-1} \text{ K}) \times (0,025 \text{ EUR g}^{-1} \text{ K}) \times 1000 (\text{L m}^{-3} \text{ water})}{32 (\text{g CZV mol}^{-1} \text{ CZV}) \times 3,43 (\text{L water L}^{-1} \text{ NAC d}^{-1})}$$

**Kathode met platina:**

$$\frac{A (\text{m}^2 \text{ m}^{-3} \text{ NAC}) \times 0,5 (\text{g Pt m}^{-2}) \times 21 (\text{EUR g}^{-1} \text{ Pt})}{365 (\text{d j}^{-1}) \times 1 (\text{j}) \times 3,43 (\text{m}^3 \text{ water m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1})}$$

**Slibverwerking: 0,21 EUR m<sup>-3</sup> water**

$$\frac{15 (\text{EUR IE}^{-1} \text{ j}^{-1}) \times 1000 (\text{L m}^{-3} \text{ water})}{365 (\text{d j}^{-1}) \times 200 (\text{L IE}^{-1} \text{ d}^{-1})}$$

**Energieopbrengst:**

$$\frac{\eta \times 1,07 (\text{kg CZV m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1}) \times 3,833 (\text{kWh kg}^{-1} \text{ CZV}) \times 0,15 (\text{EUR kWh}^{-1})}{3,43 (\text{m}^3 \text{ water m}^{-3} \text{ NAC d}^{-1})}$$

In fase één zal het noodzakelijk zijn om het katholiet te vervangen. Het stelt immers een exuberante kost en moet nu als cyanidehoudend afval verbrand worden, wat ecologisch niet verantwoord is. Hiertoe zou de grafiëten kathode met platina moeten gecoat worden. Volgens Tsuchiya en Kobayashi [2004] zou 0,5 g Pt m<sup>-2</sup> voldoende zijn. De huidige kostprijs bedraagt ongeveer 21 EUR g<sup>-1</sup> Pt [Beursprijs 9 maart 2005]. Er wordt gepostuleerd dat een dergelijke kathode tot een jaar lang operatief zou kunnen zijn. Er wordt in deze en alle volgende fasen verondersteld dat het potentieel vermogen hierbij minstens kan behouden blijven door toekomstig onderzoek.

In een tweede fase zou de kostprijs van het kationuitwisselingsmembraan geïmproveerd worden. Een eerste stap daartoe zou de opschaling van een reactor kunnen impliceren. Dit impliceert dat de verhouding oppervlak/volume daalt waardoor er minder kationuitwisselingsmembraan nodig zou zijn. De huidige reactordimensie (0,21 L NAC, 5 % extra membraan om over te plooiën en 20 % extra headspace) zou hierdoor bijvoorbeeld 20,3 L NAC per reactor worden met eenzelfde fractie extra membraan en headspace. De afstand naar het kationuitwisselingsmembraan zou dan een stuk groter zijn. Dit hoeft niet noodzakelijk negatief te zijn, aangezien er eventueel gunstige acetaatfermentatie zou kunnen optreden in het midden van de reactor.

In een derde fase wordt de kost voor grafietkorrels samen met de membraankosten geïntegreerd. Er wordt gepostuleerd dat een NAC/TAC verhouding van 0,90 moet vooropgesteld worden zonder dat deze anodische matrix duurder wordt per eenheid volume.

Het membraan zou de hoogste kost betekenen. Daartoe zou in een vierde fase kunnen geopteerd worden om het oppervlak van het kationuitwisselingsmembraan te verkleinen tot bijvoorbeeld één derde. In het ideale geval betekent dit geen daling van de stroomproductie, maar een stijging aangezien er zo minder *cross-over* en zuurstofpermeatie is. Ook zouden er meer gereduceerde niches kunnen ontstaan onderaan de reactor waardoor acetaatvorming of zelfs waterstofgasvorming gecreëerd zou worden; deze zouden dan hogerop in de reactor omgezet kunnen worden in stroom. De onzekerheid bij het voorspellen neemt toe in elke fase. Deze cijfers zijn louter indicatief om na te gaan waarop verder onderzoek het best gefocust wordt.

**Tabel IV.2 De kostprijs (EUR m<sup>-3</sup> afvalwater) voor de zuivering van afvalwater voor de afzonderlijke aspecten bij de opeenvolgende fasen**

		2005	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
<b>Kosten</b>	Energiekost bij bedrijfsvoering	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
	Membraan	2,25	2,25	0,52	0,31	0,10
	Grafietkorrels	0,55	0,55	0,55	0,12	0,12
	Bouw van de reactor	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
	Katholiet / Pt-kathode	321	1,18	0,27	0,16	0,05
	Slibverwerking	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
<b>Baten</b>	Energieopbrengst	0,01	0,02	0,03	0,04	0,04
<b>Resultaat</b>		± 325	4,40	1,75	0,99	0,67

Het is duidelijk dat een aantal fasen moeten doorlopen worden vooraleer een microbiële brandstofcel competitief wordt ten opzichte van een aërobe waterzuivering dat afvalwater aan een standaardprijs van 0,50 - 0,70 EUR m<sup>-3</sup> kan zuiveren.

## Conclusie

De technologie blijft in een experimenteel stadium zolang er geen betere en goedkopere kathode ontwikkeld wordt. De uitgevoerde testen in dit eindwerk toonden evenwel aan dat microbiële brandstofcellen over interessante mogelijkheden beschikken. Gebruik van specifieke substraten zoals glucose en acetaat toonden aan dat de microbiologie niet de limiterende factor hoefde te zijn om tot een goede performantie te komen. De resultaten bij het afvalwater lagen een stuk lager, maar deze mindere performantie leek voornamelijk te wijten aan de aard van het substraat. Acetaat bleek een interessante component al kon deze gunstige invloed teniet gedaan worden door een hoge concentratie aan andere vluchtige vetzuren. Als de trend van verbeteringen aan microbiële brandstofcellen, zoals die zich de laatste vijf jaar voordeed, aanhoudt, belooft de microbiële brandstofcel een interessante en bruikbare technologie te worden.

DEEL V

REFERENTIES

- AIYUK, S. (2004). Development of a sustainable treatment technology for domestic sewage. Ph.D. thesis, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.
- ALLEN, R.M. en BENNETTO, H.P. (1993). Microbial fuel-cells - electricity production from carbohydrates, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 39, 27-40.
- ANGENENT, L.T., KARIM, K., AL-DAHMAN, M.H., WRENN, B.A. en DOMÍNUEZ-ESPINOSA R. (2004). Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends in Biotechnology*, 22, 477-485.
- BAEYENS, J., HOSTEN, L. en VAN VAERENBERGH, E. (1995). Afvalwaterzuivering. Stichting Leefmilieu, Diegem.
- BASURA, V.I., BEATTIE, P.D. en HOLDCROFT, S. (1998). Solid-state electrochemical oxygen reduction at Pt \_ Nafion® 117 and Pt \_ BAM3G™ 407 interfaces. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 458, 1-5.
- BOCKRIS, J.O.'M. (2002). The origin of ideas on a hydrogen economy and its solution to the decay of the environment. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 731-740.
- BOND, D.R., HOLMES, D.E., TENDER, L.M. en LOVLEY, D.R. (2002). Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 295, 483-485.
- BOND, D.R. en LOVLEY, D.R. (2003). Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 1548-1555.
- BOUCIQUÉ, R. en VAN DEN BERGE, G. (2000). Elektriciteit en magnetisme. Cursus, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.
- CARROLL, J.J., MATHER, A.E. (1989). The solubility of hydrogen sulphide in water from 0 to 90 °C and pressures to 1 MPa. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 53, 1163-1170.
- CHANG, I.S., JANG, J.K., GIL, G.C., KIM, M., KIM, H.J., CHO, B.W. en KIM, B.H. (2004). Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 607-613.
- CHANG, I.S., MOON, H., JANG, J.K. en KIM, B.H. (2005). Improvement of a microbial fuel cell performance as a BOD sensor using respiratory inhibitors. *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 1856-1859.
- CHILDERS, S.E., CIUFO, S. en LOVLEY, D.R. (2002). *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe(III) oxide by chemotaxis. *Nature*, 416, 767-769.
- CHOI, Y., SONG, J., JUNG, S. en KIM, S. (2001). Optimization of the performance of microbial fuel cells containing alkalophilic *Bacillus sp.* *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 863-869.

- COONEY, M.J., ROSCHI, E., MARISON, I.W., COMNINELLIS, C. en VON STOCKAR, U. (1996). Physiologic studies with the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans*: Evaluation for use in a biofuel cell. *Enzyme and Microbial Technology*, 18, 358-365.
- DE SCHAMPELAIRE, L. (2005). Verwijdering van ammoniakale stikstof in microbiële brandstofcellen. Thesis, Faculteit Bio-Ingenieurswetenschappen. Universiteit Gent.
- DELANEY, G. M., BENNETTO, H. P., MASON, J. R., ROLLER, S. D., STIRLING, J. L. en THURSTON C. F. (1984). Electron-transfer coupling in microbial fuel-cells, 2; Performance of fuel-cells containing selected microorganism mediator substrate combinations. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology B-Biotechnology*, 34, 13-27.
- GIL, G.C., CHANG, I.S., KIM, B.H., KIM, M., JANG, J.K., PARK, H.S. en KIM, H.J. (2003). Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 327-334.
- GREENBAUM, E. (1988). Energetic efficiency of hydrogen photoevolution by algal water splitting. *Biophysical Journal*, 54, 365-368.
- GREENBERG, A. E., CLESCERI, L.S. en EATON, A.D. (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association Publications, Washington.
- GROSS, R., LEACH, M. en BAUEN, A. (2003). Progress in renewable energy. *Environment International*, 29, 105-122.
- HE, Z., MINTEER, S. en ANGENENT, L.T. (2005). Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology*, in press.
- HERNANDEZ, M.E. en NEWMAN, D.K. (2001). Extracellular electron transfer. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 1562-1571.
- ITER. (2001). ITER Safety and Environmental Characteristics. <http://www.iter.org> - Oktober 2004.
- JANG, J.K., PHAM, T.H., CHANG, I.S., KANG, K.H., MOON, H., CHO., K.S. en KIM, B.H. (2004). Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochemistry*, 39, 1007-1012.
- KAPPLER, A., BENZ, M., SCHINK, B. en BRUNE, A. (2004). Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, 47, 85-92.
- KARYAKIN, A.A., MOROZOV, S.V., KARYAKINA, E.E., ZORIN, N.A., PERELYGIN, V.V. en COSNIER, S. (2004). *Biochemical Society Transactions*, 33, 73-75.
- KATZ, E., FILANOVSKY, B. en WILLNER, I. (1999). A biofuel cell based on two immiscible solvents and glucose oxidase and microperoxidase-11 monolayer-functionalized electrodes. *New Journal of Chemistry*, 5, 481-487.

- KATZ, E., SHIPWAY, A.N. en WILLNER, I. (2003). Biofuel cells: Functional design and operation. *In*: VIELSTICH, W., GASTEIGER, H. en LAMM, A. (eds.), *Handbook of Fuel Cells - Fundamentals, Technology, Applications*. John Wiley & Sons, Chichester.
- KELLY, I. (2003). The design of a robotic predator: The SlugBot. *Robotica*, 21, 399-406.
- KIM, B.H., KIM, H.J., HYUN, M.S. en PARK, D.H. (1999). Direct electrode reaction of Fe (III) reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Journal Of Microbiology And Biotechnology*, 9, 127-131.
- KIM, B.H., PARK, H.S., KIM, H.J., KIM, G.T., CHANG, I.S., LEE, J. en PHUNG, N.T. (2004). Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63, 672-681.
- KIM, H.H., MANO, N., ZHANG, Y. en HELLER, A. (2003). A miniature membrane-less biofuel cell operating under physiological conditions at 0,5 V. *Journal of The Electrochemical Society*, 150, A209-A213.
- KIM, H.J., PARK, H.S., HYUN, M.S., CHANG, I.S., KIM, M. en KIM, B.H. (2002). A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 145-152.
- KIM, J.R., MIN, B. en LOGAN, B.E. (2005). Evaluation of procedures to acclimate a microbial fuel cell for electricity production, in press.
- LARMINIE, J. en DICKS, A. (2002). *Fuel cell systems explained*. John Wiley & sons, Chichester.
- LEVIN, D.B., PITT, L. en LOVE, M. (2004). Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 173-185.
- LETTINGA, G. (1995) Anaerobic-digestion and waste-water treatment systems. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 67, 3-28.
- LIU, H., CHENG, S. en LOGAN, B.E. (2005a). Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology*, 39, 658-662.
- LIU, H., GROT, S. en LOGAN, B.E. (2005b). Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. *Environmental Science and Technology*, in press.
- LIU, H. en LOGAN, B.E. (2004a). Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science and Technology*, 38, 4040-4046.
- LIU, H., RAMNARAYANAN, R. en LOGAN, B.E. (2004b). Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology*, 38, 2281-2285.



- LOGAN, B.E. (2004). Extracting hydrogen and electricity from renewable resources. *Environmental Science and Technology*, 38, 160A-167A.
- LOVLEY, D.R. (1985). Minimum threshold for hydrogen metabolism in methanogenic bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 49, 1530-1531.
- LOVLEY, D.R., COATEST, J.D., BLUNT-HARRIS, E.L., PHILLIPST, E.J.P. en WOODWARD, J.C. (1996). Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 382, 445-448.
- LOVLEY, D.R., WOODWARD, J.C. en CHAPELLE, F.H. (1994). Stimulated anoxic biodegradation of aromatic-hydrocarbons using Fe(III) ligands. *Nature*, 370, 128-131.
- MANO, N., MAO, F. en HELLER, A. (2002). A miniature biofuel cell operating in a physiological buffer. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 12962-12963.
- MCCARTY, P.L. (1971). Energetics and bacterial growth. *In: FAUST, S.J. en HUNTER, J.V. (Eds.), Organic Compounds in Aquatic Environments*. Marcell Dekker, New York.
- MCINERNEY, M.J. (1999). Anaerobic metabolism and its regulation. *In: REHM, H.J. en REED, G. (eds.), Biotechnology 11a (2<sup>nd</sup> edition)*. Wiley-VCH, Weinheim.
- Nationaal Instituut voor de Statistiek. (2005). <http://statbel.fgov.be> - November 2004.
- NEWMAN, D.K. en KOLTER, R. (2000). A role for excreted quinones in extracellular electron transfer. *Nature*, 403, 94-97.
- NIESSEN, J., SCHRÖDER, U., ROSENBAUM, M. en SCHOLZ, F. (2004b). Fluorinated polyanilines as superior materials for electrocatalytic anodes in bacterial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 6, 571-575.
- NIESSEN, J., SCHRÖDER, U. en SCHOLZ, F. (2004a). Exploiting complex carbohydrates for microbial electricity generation - a bacterial fuel cell operating on starch. *Electrochemistry Communications*, 6, 955-958.
- OH, S., MIN, B. en LOGAN, B.E. (2004). Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, 38, 4900-4904.
- OSSIEUR, W. (2004). Ontwikkeling van een microbiële brandstofcel voor continue stroomproductie. Thesis, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.
- PACALA, S. en SOCOLOW, R. (2004). Stabilization wedges: solving the climate problem for the next 50 years with current technologies. *Science*, 305, 968-969.

- PALMORE, G.T.R., BERTSCHY, H., BERGENS, S.H. en WHITESIDES, G.M. (1998). A methanol/dioxygen biofuel cell that uses NAD(+)-dependent dehydrogenases as catalysts: application of an electro-enzymatic method to regenerate nicotinamide adenine dinucleotide at low overpotentials. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 443, 55-161.
- PARK, D.H. en ZEIKUS, J.G. (2000). Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Applied Environmental Microbiology*, 66, 1292-1297.
- PARK, D.H. en ZEIKUS, J.G. (2002). Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens*. *Applied Environmental Microbiology*, 59, 58-61.
- PARK, D.H. en ZEIKUS, J.G. (2003). Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and Bioengineering*, 81, 348-355.
- PHUNG, N.T., LEE, J., KANG, K.H., CHANG, I.S., GADD, G.M. en KIM, B.H. (2004). Analysis of microbial diversity in oligotrophic microbial fuel cells using 16S rDNA sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 233, 77-82.
- RABAEY, K., BOON, N., HÖFTE, M. en VERSTRAETE, W. (2005a). Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environmental Science and Technology*, 39, 3401-3408.
- RABAEY, K., BOON, N., SICILIANO, S.D., VERHAEGHE, M. en VERSTRAETE, W. (2004). Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Applied Environmental Microbiology*, 70, 5373-5382.
- RABAEY, K., CLAUWAERT, P., AELTERMAN, P. en VERSTRAETE, W. (2005b). Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation, submitted.
- RABAEY, K., LISSENS, G., SICILIANO, S.D. en VERSTRAETE, W. (2003). A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters*, 25, 1531-1535.
- RABAEY, K., LISSENS, G. en VERSTRAETE, W. (2005c). Microbial fuel cells: performances and perspectives. *In*: LENS, P. N., WESTERMANN, P., HABERBAUER, M. en MORENO, A. (eds.), *Biofuels for fuel cells: biomass fermentation towards usage in fuel cells*. IWA publishing, London.
- RABAEY, K., OSSIEUR, W., VERHAEGHE, M. en VERSTRAETE, W. (2005d). Continuous microbial fuel cells convert carbohydrates to electricity. *Water Science and Technology*, in press.
- RABAEY, K. en VERSTRAETE, W. (2005e). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, in press.
- REIMERS, C.E., TENDER, L.M., FERTIG, S. en WANG, W. (2001). Harvesting energy from the marine sediment-water interface. *Environmental Science and Technology*, 35, 192-195.

- ROLLER, S. D., BENNETTO, H. P., DELANEY, G. M., MASON, J. R., STIRLING, J. L. en C. F. THURSTON. (1984). Electron-transfer coupling in microbial fuel-cells, 1; Comparison of redox-mediator reduction rates and respiratory rates of bacteria. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology B- Biotechnology*, 34, 3-12.
- SCHLEGEL, H.G. (1981). *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme, Stuttgart-New York.
- SCHOLZ., F., en SCHRÖDER, U. (2003). Bacterial batteries. *Nature Biotechnology*, 21, 1151-1152.
- SCHRÖDER, U., NIESSEN, J. en SCHOLZ, F. (2003). A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude. *Angewandte Chemie-International Edition*, 42, 2880-2883.
- SERVICE, R.F. (2004). The hydrogen backlash. *Science*, 305, 958-961.
- STRAUB, K.L. en SCHINK, B. (2004). Ferrihydrite-dependent growth of *Sulfurospirillum deleyianum* through electron transfer via sulfur cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5744-5749.
- TAGUCHI, F., CHANG, J.D., TAKIGUCHI, S. en MORIMOTO, M. (1992). Efficient hydrogen-production from starch by a bacterium isolated from termites. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73, 244-245.
- TAMAGNINI, P., AXELSSON, R., LINDBERG, P., OXELFELT, F., WUNSCHIERS, R., LINDBLAD, P. (2002). Hydrogenases and hydrogen metabolism of cyanobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66, 1-20.
- TENDER, L.M., REIMERS, C.E., STECHER, H.A., HOLMES, D.E., BOND, D.R. LOWY, D.A., PILOBELLO, K., FERTIG, S.J. en LOVLEY, D.R. (2002). Harnessing microbially generated power on the seafloor. *Nature Biotechnology*, 20, 821-825.
- THAUER, R.K., JUNGERMANN, K. en DECKER, K. (1977). Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 41, 100-180.
- TSUCHIYA, H. en KOBAYASHI, O. (2004). Mass production cost of PEM fuel cell by learning curve. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 985-990.
- UOSAKI, K. en HILL, H.A.O. (1981). Absorption behavior of 4,4'-bipyridyl at a gold-water interface and its role in the electron-transfer reaction between cytochrome-c and a gold electrode. *Journal of electroanalytical chemistry*, 122, 321-326.
- VAN DER MEEREN, P. (2003). *Milieutechnologie: fysische en chemische processen; partim water*. Cursus, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.
- VAN GINKEL, S., OH, S.E. en LOGAN B.E. (2005). Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *International Journal of Hydrogen Energy*, in press.

VAN GINKEL, S., SUNG, S.W. en LAY, J.J. (2001). Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. *Environmental Science and Technology*, 35, 4726-4730.

VANDAMME, E. (2002). Algemene biochemie. Cursus, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.

VANDAMME, E. (2003). Algemene microbiologie. Cursus, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.

VANDEVIVERE, P. en VERSTRAETE, W. (2001). Environmental applications. *In*: RATLEDGE, C., KRISTIANSEN, B. (eds.), *Basic Biotechnology* (2<sup>nd</sup> edition). Cambridge University Press, Cambridge.

VERSTRAETE, W. (2003a). Biotechnological processes in environmental technology. Cursus, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen. Universiteit Gent.

VERSTRAETE, W. (2003b). Conferentie waterzuivering, hergebruik van afvalwater & slibverwerking. Diegem, 25-26 februari 2003.

WOODWARD, J.W., ORR, M., CORDRAY, K. en GREENBAUM, E. (2000). Enzymatic production of biohydrogen. *Nature*, 403, 1014-1015.

ZUMDAHL, S.S. (1998). *Chemical principles*. D.C. Heath and Company, Lexington.