



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

**“ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA
DE OXÍGENO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCIÓN
DE BIOELECTRICIDAD DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE
MICROBIANO”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCION DEL TITULO DE

INGENIERO EN BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

AUTORES: ALEX FERNANDO GUAMBO GALARZA

GABRIELA ELIZABETH ALLAUCA CAISAGUANO

TUTOR: Dr. CELSO RECALDE

Riobamba – Ecuador

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

El tribunal de tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO DE AGUAS RESIDUALES EN LA PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO”**, de responsabilidad de los señores egresados: Alex Fernando Guambo Galarza y la Srta. Gabriela Elizabeth Allauca Caisaguano ha sido prolijamente revisada por los miembros del tribunal de Tesis. Quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Nancy Veloz
**DECANA DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS**

Ing. Fernanda Rivera
**DIRECTORA DE ESCUELA
DE CIENCIAS QUIMICAS**

Dr. Celso Recalde
DIRECTOR DE TESIS

Ing. Paola Chiluiza
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Bertha Quintanilla
**COORDINADORA
SISIB-ESPOCH**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Alex Fernando Guambo Galarza, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Alex Fernando Guambo Galarza

Yo, Gabriela Elizabeth AllaucaCaisaguano, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Gabriela Elizabeth AllaucaCaisaguano

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Al Dr. Celso Recalde por brindar su apoyo, colaboración y dirección en esta propuesta de trabajo e investigación

A la Ing. Paola Chiluiza por su colaboración, asesoramiento y aporte en la elaboración del presente trabajo

A la Ing. Ana Cunachi Ms.c, por su asesoramiento y apertura en la utilización del Lab. Ciencias Biológicas – Fac. Recursos Naturales y por transmitirnos sus conocimientos en áreas como microbiología

Al Ing. Washington Logroño por su aporte y énfasis para el desarrollo de este plan investigativo

A todos nuestros amigos no solo por su apoyo, también por ser como una familia y haber compartido alegrías y tristezas a lo largo de la vida politécnica.

Alex

Gabriela

DEDICATORIA

A Dios por darme fuerza a encarar mis adversidades de la mejor manera

A mis abuelos quienes con esmero y lucha supieron inculcarme los valores más nobles y valientes ayudándome a elegir el sendero correcto

A mi madre por su ahínco en despertar en mí; retos que creía no lograrlos

A mis amigos por demostrarme y brindarme una amistad leal, y por su apoyo incondicional

A mis tíos y primos en especial a ti Mayra Guambo por tu afecto y cariño ¡Gracias Ñaña!

Alex

A mis padres por su inmenso amor, por sus consejos, por su ejemplo de lucha y perseverancia, por su comprensión, son mi pilar fundamental. Me han dado todo lo que soy, mis valores, mi constancia, mi carácter para lograr mis objetivos.

A mi hermanos Luis, Diana y Katherin, por ser fuente de motivación para seguir adelante, quienes me han acompañado en las distintas etapas de mi vida, tanto en los momentos tristes y felices.

A mis amigas y amigos por el apoyo brindado, por los todos los momentos compartidos, por no permitir que me desanime en momentos difíciles.

Gabriela

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	iv
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vi
INDICE DE ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	
1. MARCO TEÓRICO	
1.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación	5
1.1.1 <i>La tecnología de pila de combustible</i>	5
1.1.2 <i>Crecimiento y Reproducción</i>	7
1.1.3 <i>Investigación de Bacterias Generadoras de electricidad.</i>	8
1.1.4 <i>Celdas de combustible microbianas (CCMs)</i>	9
1.2 Antecedentes de investigación.....	9
1.3. Bases Teóricas	12
1.3.1 <i>Aguas Residuales Domésticas.</i>	12
1.3.2 <i>Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)</i>	13
1.3.3 <i>Suelos de páramo ecuatoriano.</i>	14
1.4 Celdas de combustible microbianas	14
1.4.1 <i>Principios de una celda de combustible microbiana</i>	14
1.5 Tipos de celdas de combustible microbianas.....	16
1.5.1 <i>Sistemas de un compartimento</i>	16
1.5.2 <i>Sistemas de dos compartimentos</i>	17

1.6	Microorganismos y sustratos utilizados en CCM	17
1.6.1	<i>Microorganismos en la cámara catódica</i>	18
1.6.2	<i>Microorganismos en la cámara catódica</i>	19
1.7	Sustratos	19
1.8	Efecto de las condiciones de sobre las CCM.....	21
1.8.1	<i>Temperatura</i>	21
1.8.2	<i>Concentración de la materia orgánica</i>	21
1.8.3	<i>Materiales para electrodos anódicos</i>	22
1.8.4	<i>Transporte de electrones</i>	22
1.9	Transferencia extracelular de electrones.....	23
1.9.1	<i>Transferencia de electrones desde el microorganismo al ánodo</i>	23
 CAPITULO II		
2 METODOLOGÍA		
2.1	Parte experimental.....	25
2.1.1	<i>Lugar de estudio</i>	25
2.2	Métodos.....	25
2.3	Técnicas.....	34
2.4	Lugar experimental	42
2.5	Planteamiento de hipótesis	44
2.5.1	<i>Hipótesis Textual</i>	44
 CAPITULO III		
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
3.1	Análisis, interpretación y discusión de resultados	46
3.1.1	<i>Análisis de pruebas de ensayo</i>	46
3.1.2	<i>Caracterización Física Química del Suelo “Pichan Central”</i>	47
3.1.3	<i>Caracterización de DBO de aguas residuales sintéticas</i>	48
3.1.4	<i>Recuento inicial microbiológico</i>	49
3.1.5	<i>Producción de bioelectricidad</i>	54
3.1.6	<i>Discusión de Resultados</i>	57

3.2. Prueba de Hipótesis	58
3.2.1 <i>Hipótesis Estadística Causal Bivariada</i>	58
2.3. Presentación de resultados	61
CONCLUSIONES	66
RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2- 1	VOLUMEN DE LA CELDA MÁS ESTABLE	35
Tabla 2- 2	RELACIÓN DE REFERENCIA DE MATERIALES UTILIZADOS	36
Tabla 2- 3	RELACIÓN DE MEDIDAS ENTRE ESCALAS DE MEDICIONES Y VOLUMEN PARA DBO	38
Tabla 2- 4	MATERIALES EN CAMPO	42
Tabla 2- 5	MATERIALES UTILIZADOS EN EL LABORATORIO	44
Tabla 3- 1	VALORACIÓN DE SUMINISTROS	46
Tabla 3- 2	PROYECCIONES UTILIZADAS PARA LA CONFIGURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	47
Tabla 3- 3	MARCA DE ARROZ UTILIZADO PARA LA INVESTIGACIÓN	48
Tabla 3- 4	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1 DESPUÉS DE 24 h.....	50
Tabla 3- 5	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2 DESPUÉS DE 24 h.....	50
Tabla 3- 6	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3 DESPUÉS DE 24 h.....	50
Tabla 3- 7	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 DESPUÉS DE 24 h.....	51
Tabla 3- 8	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1 DESPUÉS DE 72 h.....	51
Tabla 3- 9	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2 DESPUÉS DE 72 h.....	52
Tabla 3- 10	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3 DESPUÉS DE 72 h.....	52
Tabla 3- 11	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 DESPUÉS DE 72 h.....	52
Tabla 3- 12	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1 DESPUÉS DE 144 h.....	53
Tabla 3- 13	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2 DESPUÉS DE 144 h.....	53

Tabla 3- 14	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3 DESPUÉS DE 144 h.....	53
TABLA 3- 15	CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 DESPUÉS DE 144 h.....	54
Tabla 3- 16	VALORES PROMEDIOS /ANTES DEL SUMINISTRO DE LAS CELDAS.....	55
Tabla 3- 17	VALORES PROMEDIOS /DESPUÉS DEL SUMINISTRO DE LAS CELDAS.....	55
Tabla 3- 18	COMPARACIÓN MEDIAS-DESVIACIONES.....	60
Tabla 3- 19	VALORES DE PRODUCCIÓN DE ENERGÍA NETA DURANTE EL TRANSCURSO DEL EXPERIMENTO	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1-1 DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO.....	15
Figura 1- 2 CELDAS DE COMBUSTIBLES MICROBIANAS DE UN COMPARTIMENTO A, B Y C	17
Figura 2- 1 MODELOS TRIDIMENSIONALES EN AUTOCAD.....	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3- 1	DBO MUESTRA A1	48
Gráfico 3- 2	GRÁFICO 2. DBO MUESTRA G1	49
Gráfico 3- 3	ELECTRICIDAD TOTAL PRODUCIDA	56
Gráfico 3- 4	CELDA-CONCENTRACIONES- ENERGÍA	56

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 2- 1	SELECCIÓN DE SUELO DE PÁRAMO.....	26
Fotografía 2- 2	SELECCIÓN DEL LUGAR DEL MUESTREO.....	27
Fotografía 2- 3	CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO	30
Fotografía 2- 4	SISTEMA DE CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO	31
Fotografía 2- 5	MEZCLA DE CARBÓN Y SUELO	31
Fotografía 2- 6	CELDA SIN FIBRA	32
Fotografía 2- 7	CÁTODO CON FIBRA DE CARBONO.....	32
Fotografía 2- 8	CONEXIÓN TOTAL AL ORDENADOR	33
Fotografía 2- 9	LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL CC-QQ.....	34
Fotografía 2- 10	SELECCIÓN DEL SUELO	35
Fotografía 2- 11	INSTALACIÓN DE CELDA DE PRE PRUEBA.....	36
Fotografía 2- 12	SUMINISTRO DE LÍQUIDO A LA CELDA DA PRE PRUEBA	37
Fotografía 2- 13	TOMA DE LA MUESTRA PARA DILUCIONES.....	40
Fotografía 2- 14	CCM DE DONDE SE TOMÓ LAS MUESTRAS PARA LAS DILUCIONES.....	40
Fotografía 2- 15	DILUCIONES PARA EL CULTIVO	41
Fotografía 2- 16	CULTIVO MICROBIANO EN CAJAS PETRI CON DISTINTAS DILUCIONES.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Tipos de cultivo, puros y consorcios, y sustratos aplicados a celdas de combustible microbianas.	75
Anexo B. Principales variables consideradas en CCMs generadoras de potenciales representativos	76
Anexo C. Análisis de DBO5 para las muestras A1 y G1 relación 1:1 p/v y 1:2 p/v respectivamente	77
Anexo D. Análisis de DBO5 para las muestras A1 y G1 relación 1:3 p/v y 1:4 p/v respectivamente	77
Anexo E. Análisis de DBO5 para las muestras A1 y G1 relación 1:5 p/v y 1:8 p/v respectivamente	79
Anexo F. Tabla Análisis de DBO- lapso de 5 días de la muestra A1.....	80
Anexo G. Tabla Análisis de DBO- lapso de 5 días de la muestra G1	81
Anexo H. Tabla de conteo de UFCs.....	82
Anexo I. Tabla de Valoración de Intensidades CCMs	83
Anexo J. Grafica de Valoración de Intensidades CCMs.....	84
Anexo K. Tabla de valoración Coulomb vs Tiempo.....	85
Anexo L. Datos obtenidos por el Sensor Electrónico	86
Anexo M. Caracterización Fisicoquímica Suelo Pichan.....	87

INDICE DE ABREVIATURAS

MFC	Microbial Fuel Cell
CCM	Celdas de Combustible Microbiano
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
PEM	Membrana de Intercambio de Protones
M.S.N.M	metros sobre el nivel del mar
PLG	Pulgadas
Cm	centímetros
I	Intensidad de corriente
Mv	mili voltios
UTM	Universal Transverse Mercator
PPM	Partes por millón
Coulomb	Carga eléctrica
PH	Potencial Hidrogeno
Nafion	Polímero sintético
APHA	Asociación Americana de la Salud Pública

AWWA	American Water Works Association
WPCF 17ed	“Methods Standard”
MIP	Membrana de Intercambio de Protones
PH	Potencial de Hidrógeno
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
PTARs	Planta de tratamiento de aguas residuales
H⁺	Protones libres
e⁻	Electrones
Mn	Manganeso
Fe	Hierro
MIC	Membrana de Intercambio Catiónico
MIP	Membrana de Intercambio Protónico
Ltrs	Litros
Lbs	Libras
P/V	Relación peso-volumen
TR	Tiempos de retención

TS	Tiempos de Saturación
TSS	Tiempos de Sobresaturación
P	Densidad
Fe	Hierro
K	Potasio
Mg	Magnesio
Bi	Bismuto
M.O	Materia Orgánica
NH4	Amonio

RESUMEN

Se estudió la influencia de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en la producción de bioelectricidad dentro de una celda de combustible microbiano en el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Ciencias Químicas de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; para aprovechar la Demanda de Oxígeno de las Aguas Residuales en la generación de energía sustentable.

Se diseñó y se construyó cuatro celdas de combustible microbiano las cuales generan bioelectricidad. La celda se conforma de dos cámaras separadas por tejido de fibra de carbono y cada una posee 2,1 Kg de suelo y 60gr de carbón vegetal; el consorcio bacteriano se obtuvo del suelo de la comunidad Pichan-Central, las tres primeras celdas fueron objeto de experimentación mientras que la cuarta represento el grupo control. Se examinó la relación de materia orgánica del agua residual sintética con respecto a la producción de bioelectricidad entre las celdas; para lo cual se creó agua producto del lavado de arroz con las siguientes concentraciones: 8mg/L; 50mg/L; y 200 mg/L; que fueron suministradas a las celdas objetos de estudio, observando su comportamiento. Se realizó conexiones mediante cables a un dispositivo o sensor que midió directamente el voltaje producido y lo almacenó en un ordenador.

Conforme se realizaba el suministro la cantidad de bioelectricidad de las celdas aumentaba proporcionalmente a las concentraciones recibidas.

Por lo tanto se concluye que; utilizando agua residual con demanda bioquímica de oxígeno de 200mg/L se aumenta el rendimiento de una celda de combustible microbiano en un 80% de su capacidad promedio.

Por tal motivo se recomienda se implemente este tipo de tecnología en las comunidades que muestren un consorcio bacteriano rico en suelo con potencial oxidado - reductor asociados a los páramos aledaños de la provincia de Chimborazo ya que de esa manera se podría conseguir energía limpia, autosustentable y amigable con el ambiente.

ABSTRACT

The influence of Biochemical Oxygen Demand was studied in the production of bioelectricity within a cell of microbial fuel in the Biotechnology Lab at Chemistry Science School of Escuela Superior Politécnica of Chimborazo; in order to take advantage of Oxygen Demand of waste waters in the generation of sustainable energy. Four microbial fuel cells were designed and built which generate bioelectricity. The cell is formed by two cameras separated by carbon fiber fabric, each camera has 2,1 Kg of ground and 60 gr of charcoal; bacterial consortium was obtained from the ground in Pichan-Central community, the first three cells were subjected to experimentation while cell 4 represented the control group. The relation of organic synthetic waste water material was examined regarding to bioelectricity production between cells; in order to do so, some water coming from washed rice obtaining these concentrations: 8 mg/L; 50mg/L; and 200mg/L; same as were supplied to under study cells by analyzing their progress. Connections were made by cables to a device or sensor that directly measured the voltage produced and stored in a PC.

While the supplied was made, the amount of bioelectricity cells increased proportionally to the received concentrations. Therefore it is concluded that using waste water with biochemical oxygen demand of 200mg/L the performance of a fuel microbial cell is increased by an 80% of its average capacity. For this reason, it is recommended to implement this type of technology in the communities which has a rich bacterial consortium in the ground with potential oxide- reductive associated with the surrounding moorlands of Chimborazo Province. In this way clean, self-sustaining energy adapted to the environment could be gotten.

INTRODUCCIÓN

Situación Problemática

En los últimos años, las principales investigaciones se han centrado en las fuentes de energías alternativas y renovables para sustituir nuestra dependencia actual de los combustibles fósiles. En la actualidad todos los países y en especial los industrializados cada vez demandan más energía, conforme aumenta la población esto a su vez acarrea problemas de aumento de generación de desperdicios, residuos orgánicos, entre otros y conlleva a la sociedad a buscar soluciones no solo en el abasto de energía sino en el tratamiento de desechos y en especial de sus recursos hídricos.

“Existe un claro interés en investigar opciones, desarrollar tecnologías innovadoras, que incorpore otras fuentes de energía con eficiencia similar, capaz de competir con el petróleo motivadas en razones ambientales y económicas, favoreciendo la reducción de emisiones a la atmósfera”

Formulación del Problema

La Disposición de aguas residuales constituye uno de los grandes problemas ambientales de nuestra época no solo en países industrializados sino también en los países que han iniciado un proceso de industrialización debido a su alta carga orgánica constituyente; el hecho de realizar tratamientos significa una pérdida en su valor inicial; el buscar medidas o factores que involucren un valor agregado a este componente significa generar no solo energías renovables y alternas sino también un tratamiento autónomo y porque no autosustentable; relacionando parámetros como bioelectricidad y Demanda Bioquímica de Oxígeno en aguas residuales.

Justificación teórica

El agotamiento de los combustibles fósiles que son claves en el desarrollo de nuestras sociedades, hace imperativa la investigación, fomento y uso de nuevos combustibles; esto implica el desarrollo de nuevas tecnologías sustentables siendo por supuesto no perjudiciales para nuestro entorno o medio social.

El tratamiento de aguas en estos días ha sido un eje fundamental para cada ciudad en miras de un progreso sostenible y amigable con el ambiente; esta investigación no solo propone un tratamiento del mismo sino además un valor agregado siendo este la producción de bioelectricidad a medida que se consume cierta carga orgánica de un contaminante, se genera y se produce bioelectricidad. La tendencia actual de esta línea de trabajo se encamina al desarrollo de una tecnología que permita superar o minimizar limitaciones al momento de realizar análisis, tratamientos y disposición de aguas con ciertas concentraciones de materia orgánica presentes “DBO” estudiando la relación existente entre materia orgánica y bioelectricidad.

Con este trabajo se beneficiaran todos los investigadores que buscan opciones para reemplazar el uso de combustibles fósiles ya que es un camino que aún falta por recorrer y sacar el máximo provecho, además, la energía que se genera no es contaminante y puede ser autosustentable.

Justificación práctica

La MFC es un dispositivo con la que se puede generar energía eléctrica, ya que con el diseño y con los materiales utilizados no generan residuos peligrosos y tampoco impactos ambientales negativos y se aprovecha en su máximo los residuos orgánicos como fuente de nutrientes.

Uno de los beneficios de estas técnicas tiene el fin de evitar el largo tiempo de espera (cinco días) que requiere una determinación por el método convencional (DBO_5), si se estudia la relación entre producción de bioelectricidad a medida que se degrada la materia orgánica dentro de una celda de combustible microbiano MFC sabremos su valor en el momento que requiramos en cuestión hasta en segundos con el simple hecho de medir el voltaje de una celda que permitiera una estimación precisa aunque mucho más rápida de este parámetro de calidad de aguas.

La tecnología MFC es muy prometedora, por la estabilidad que representa y las características de rendimiento de combustible microbiana; la correlación entre DBO y la generación de carga generada por la celda de combustible microbiano medida en Coulomb (C), muestran una buena relación, siendo esta proporcional a la concentración de DBO de las aguas residuales.

En este caso, al utilizar técnicas innovadoras y sostenibles no solo minimizamos los márgenes de error en sus resultados sino que además proponemos un precedente para futuras investigaciones que involucren no solo el análisis de estas aguas sino ya directamente su tratamiento y depuración oportuna.

El presente trabajo de investigación ha contado con el auspicio del GRUPO DE ENERGÍAS ALTERNATIVAS (GEAA)-ESPOCH, el cual brindo la asistencia técnica con un grupo de profesionales de diferentes áreas como electrónicos, informáticos, biólogos, microbiólogos y ambientales.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la relación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de aguas residuales sintéticas con respecto a la producción de bioelectricidad de una celda de combustible microbiano

Objetivos Específicos

- Identificar las características físico-químicas del suelo del Páramo Pichan para producir bioelectricidad en una CCMs.
- Determinar el comportamiento de los voltajes generados por las CCMs en función del tiempo a partir del suministro de agua residual sintética hasta que se estabilice la celda.
- Establecer la relación existente entre la degradación de la materia orgánica con respecto a la cantidad de energía generada por las CCMs

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

El término bioenergía nombra a la energía renovable que se origina a partir de diversas fuentes biológicas, entre las que destacan: la biomasa sólida que involucra la materia no fósil proveniente de sistemas biológicos, de la agricultura y procesamiento de alimentos, así como el contenido orgánico biodegradable que se encuentra disuelto en los efluentes residuales municipales e industriales (Srebotnjak et al., 2011), la producción de biocombustibles líquidos; el biogás y los gases recuperables de los rellenos sanitarios; el biohidrógeno, y la bioelectrogénesis que se fundamenta en la generación directa de energía eléctrica o combustibles a través del uso de sistemas biológicos o partes de ellos (principalmente enzimas) en sistemas bio electroquímicos. En estos últimos se convierten sustratos orgánicos hasta electrones exocelulares y protones, los cuales pueden ser recuperados de forma directa para producir energía eléctrica; además de agua y dióxido de carbono (Panwar et al., 2011).

1.1.1 La tecnología de pila de combustible

Las pilas de combustible se han convertido en una tecnología de conversión de energía ampliamente estudiada debido a su alta eficiencia y simplicidad. La Celda de Combustible Microbiano (CCM) presenta varias configuraciones así como numerosas aplicaciones que son de interés para diversas industrias en especial los fabricantes de automóviles y otros tipos de energía portátil. Estas células de combustible pueden ser diseñados para funcionar a temperaturas que van desde 0 °C a aproximadamente 80 °C, tiene tiempos de arranque muy rápidos, y, si se protege de la intoxicación de otros agentes externos, pueden exhibir una larga vida útil (Gerteisen D.; et al., 2007)

Las células de combustible microbianas (CCM) se han diseñado para generar electricidad a partir de una gran variedad de fuentes de carbono utilizadas como donadores de electrones. Los principales esfuerzos en el desarrollo de MFC están orientados a mejorar la densidad de potencia (Borole et al., 2009) y a investigaciones de temas relacionados con las operaciones de escalado. El principal inconveniente de MFC es la relativamente baja densidad de potencia. Estas cuestiones se vuelven más pronunciadas con diseños que se escalan, para proporcionar mayor poder. Un ejemplo de ampliación cuestiones podrían incluir recorridos de difusión de larga distancia para los protones generados lejos de la Membrana de Intercambio de Protones y el cátodo de una MFC. Los primeros MFC consistieron en el diseño de células H, que involucrados dos vasos conectados por un canal y una membrana u otro separador que impidió que los electrolitos de ánodo y cátodo de la mezcla. Un separador de este tipo es a menudo necesario porque el ánodo y el cátodo son típicamente anaeróbica y aeróbica, respectivamente (Min et al., 2005).

Generalmente la expresión "bacteria" está ligada a infecciones, enfermedades y descomposición, sin embargo, se puede beneficiar de la respiración interna, base de la actividad metabólica, existe microorganismos de la especie *Geobacter* utilizado como socio en la indagación de variados estudios propicios. La especie de bacterias llamada *Geobacter* descuellan dos especies, el *metallireducens* y el *sulfurreducens*, ostentan características prominentes, que favorecen en variados trabajos para el ser humano (Muktak A.; et al., 2009).

Esta bacteria tiene la capacidad de trasladar electrones a moléculas como el Fe y Mn, óxidos de nitrógeno, sustancias de elevado peso molecular hechas de la degradación química y biológica de residuos de plantas y de animales, permite además el cambio de electrones directamente a los electrodos, creando corrientes eléctricas bajas, esta peculiaridad permite a la *Geobacter* realizar un papel sustancial en el ciclo natural de la materia orgánica y de los metales en los precipitaciones acuáticos y subsuelos, en la biorremediación del ambiente (Lin B.; et al., 2005)

La posibilidad de las variedades *Geobacter* para transferir electrones accede lograr electricidad originalmente de materia orgánica, o el uso de electrodos como donante de electrones para minimizar la presencia de contaminantes como nitrato, uranio y separadores clorados, dispuestos a realizar Pili, útiles en el avance de dispositivos en la industria de microelectrónica (Feng C.; et al., 2010).

La asimilación celular de la *Geobacter* es quimioorganótrofo anaerobio, utiliza compuestos orgánicos como origen de energía, para su evolución y desarrollo. En métodos redox de respiración anaerobia es significativo la representación de aceptantes de electrones como Nitratos, Sulfatos, Fumarato, Ferricianuro, Fe (III), oxígeno y electrodos (Jun S.; et al.,2009)

La bacteria *Geobacter* muestra una malla de citocromos tipo C multihemo, es una proteína que trabaja como elemento de transporte electrónico, enlaza entre si la membrana interna, el Periplasma y la membrana exterior, para trasladar los electrones desde una sustancia que es oxidada a otra que se reduce o recepta electrones, (Yia H.; et al., 2009).

Para conseguir los electrones el *Geobacter* esgrime la respiración e interiormente emplea el ciclo Krebs. La malla de Citocromos Tipo C procede como un capacitor acumulando energía para mantener la célula activa en su sondeo de distintos aceptores de electrones (Yia H.; et al., 2009).

1.1.2 Crecimiento y Reproducción

El crecimiento y propagación del Genero *Geobacter* ocurre cuando los sustentos son metabolizados y adheridos como unidad distinta de la célula. El tiempo que demanda una célula de *Geobacter* para duplicarse es alrededor de 19 ± 3.6 h en laboratorio. El desarrollo de esta población se acomoda de múltiples fases. La primera etapa las células se acopla a su nuevo ambiente, en la segunda entra a la fase exponencial, donde la cantidad se duplica, este fase es el más veloz de crecimiento. Cuando la cantidad de células que son derivadas es semejante al número de células que sucumben, se instituye un equilibrio dinámico donde el crecimiento bacteriano se interrumpe, esta etapa se designa fase estacionaria por el agotamiento de nutrientes. En la fase de muerte ocurre cuando la tasa de destrucción prevalece la tasa de crecimiento (Rich H.; et al., 2008).

Se halla que el crecimiento recomendable para esta especie se origina cuando el pH se localiza en un rango de 6,2-7,4 y la temperatura de 22 a 30 °C; no se da el crecimiento cuando el pH es menor a 5,8 ó preferente a 8,0 y la temperatura es menor a 10 °C ó hasta 36 °C para los siguientes estudios realizados con cepas del genero *Geobacter* (Stukalov O.; et al., 2008).

1.1.3 Investigación de Bacterias Generadoras de electricidad.

Grupo de científicos de Harvard lograron identificar la dieta más extraña que puede tener un ser vivo, se han encontrado con una bacteria capaz de alimentarse solamente de electricidad. Los investigadores, dirigidos por Peter Girguis, ya que siendo una bacteria de lo más común, *Rhodospseudomonas palustris*, que era capaz de emplear la conductividad natural del terreno en la que habita para extraer a distancia electrones de los minerales del subsuelo, sin moverse de la superficie, absorbía la luz solar necesaria para producir energía (Girguis P, 2014).

"Cuando pensamos en electricidad y organismos vivientes, asegura Girguis a la revista Science Daily, desde hace mucho tiempo hemos comprendido que todos los organismos utilizan de algún modo electrones, que constituyen la electricidad, para todo tipo de actividades. Lo que subyace a este estudio es un proceso llamado Transferencia Extracelular de Electrones (EET), que implica mover electrones dentro y fuera de las células. Y lo que hemos hecho es mostrar que estas bacterias son capaces de absorber electricidad e incorporarla directamente a su metabolismo".

En el entorno, los microbios se aprovechan el hierro para conseguir los electrones que necesitan para producir energía, pero los test de laboratorio indican que el hierro no es indispensable en este proceso. Empleando un electrodo a las colonias bacterianas del laboratorio, los investigadores observaron que las bacterias son capaces de obtener electrones de fuentes distintas al hierro, lo que explica que también en la naturaleza pueden utilizar otros minerales y metales ricos en electrones, así como los compuestos de azufre. (Nieves J, 2014).

Los investigadores fueron incluso capaces de identificar un gen que resulta crítico para la habilidad de absorber electrones. Al apagar ese gen, Girguis y sus colegas comprobaron que esa habilidad de las bacterias se reducía por lo menos en un tercio (Girguis P, 2014).

1.1.4 Celdas de combustible microbianas (CCMs)

Las Celdas de Combustible Microbianas como una alternativa para generar energía, exhiben ventajas operacionales y funcionales por encima de los dispositivos que encuentran disponibles hoy en día para generar energía eléctrica a partir de compuestos biodegradables, entre las que se pueden mencionar: i) las elevadas eficiencias obtenidas durante la conversión de la materia orgánica a electricidad (por encima de 90%), ii) los adecuados niveles de desempeño que los dispositivos pueden alcanzar a temperatura ambiente, a diferencia de los procesos bioenergéticos existentes, iii) los gases de escape no requieren de tratamientos adicionales, iv) en algunas aplicaciones no se requiere de aireación mecánica, v) poseen un amplio potencial de aplicación en los lugares donde no existe infraestructura eléctrica y mediante su uso es posible ampliar la cartera energética para satisfacer las demandas actuales de energía (Rabaey et al., 2005).

Sin embargo, las aplicaciones actuales de las CCMs en el mundo son limitadas a causa de su bajo nivel de densidad de potencia. Por tanto, para que puedan darse las aplicaciones prácticas a grandes escalas será necesario mejorar un gran número de factores limitantes, en relación a aspectos de diseño, investigación y desarrollo. (Benetton X.; et al., 2010).

1.2 Antecedentes de investigación

La tecnología de células de combustible microbianas se está convirtiendo en atractivo para los investigadores para la producción de energía renovable combinada y tratamiento de aguas residuales (Rodrigo et al.; 2007). Esta tecnología depende esencialmente de los procesos de oxidación y reducción que ocurren paralelamente en dos ambientes separados que puedan mantener diferente potencial redox, éste es el principio de una celda de combustible convencional. Investigadores diseñaron un reactor de MFC que se inició y opero en modo de lote alimentado con la adición de glucosa en el ánodo y NaHCO_3 en el cátodo (Logan et al. 2006).

El potencial del ánodo y el cátodo evolucionó a partir de su potencial inicial de 0 V a un valor negativo de -0,1 V y un valor positivo de 0,22 V, respectivamente, lo que indica el desarrollo de la actividad electroquímica en ambos electrodos. Desde entonces, sólo aguas residuales que contiene glucosa - sin lodos inoculado se alimenta directamente en

el ánodo, lo que resultó en un voltaje estable repetida de alrededor de 0,32 V. La presencia microbiana y adhesión a los electrodos sugiere la catálisis microbiana de la reacción de reducción de oxígeno (Allen y Bennetto, 1993).

Recientemente investigadores, han hecho grandes esfuerzo en el uso de la tecnología CCM a partir de suelos de páramos como indicadores biológicos argumentando la no intervención del hombre ni de cualquier otra especie destacando de esta forma la gran variedad y cantidad de materia orgánica a un nivel de 4000 msnm. Al tratarse de un suelo virgen, a través de un análisis físico químico se puede saber que la cantidad y la relación existente de nutrientes son los adecuados como precursores primordiales en la generación de bacterias electrogénicas como fuente de luz y degradadoras de materia orgánica significativa (Cheng et al., 2006).

Se realizaron varios estudios manejando reactores a escala de laboratorio para investigar la producción de energía a partir de materia orgánica en las aguas residuales artificial o real (Min et al., 2005; Liu et al 2004; He et al 2005). Se informó de un funcionamiento CCM exitoso y la generación de electricidad en condiciones termófilas (50 ° C). En este estudio, se investigó el efecto de la temperatura (15, 22 y 30 ° C) en el período de puesta en marcha en CCM. La generación de energía máxima y eficiencia de Coulomb se compararon a diferentes temperaturas durante las operaciones sucesivas. De igual manera se analizaron aguas residuales domésticas que se utilizaron como el inóculo y medio para el compartimiento de ánodo sin ninguna adición de solución de nutrientes o tampón. También se examinaron otros factores, tales como tampón de fosfato y adición de nutrientes y metales en la generación de energía (Jong et al., 2006).

La investigación obtuvo la conclusión que la temperatura influye en la duración de la fase de latencia durante el periodo en funcionamiento del equipo CCM, el cual funciona a temperatura ambiente (22 ° C) y puede producir energía después de una fase de latencia de 60 h. Los resultados sugieren trabajar a temperaturas moderadas (alrededor de 22 ° C) es posible que sea la operación práctica para el tratamiento de aguas residuales, aunque se produciría una fase de latencia largo durante el arranque. Mientras tanto una operación CCM a baja temperatura (15 ° C) no tuvo éxito y la salida de baja potencia se obtuvo incluso después de varias cargas. Las aguas residuales domésticas crudas podría apoyar con éxito el crecimiento y la producción de electricidad microbiana al ser usado como fuente de microorganismos y nutrientes de crecimiento. Del mismo modo, en un estudio

anterior, las aguas residuales porcina cruda se utilizó con éxito y sin ninguna adición de nutrientes y metales traza para la generación de energía en una sola cámara CCM (Min; et al., 2005). En otro estudio, el cambio de la temperatura de 32-20 ° C también disminuyó la potencia de salida por 9 % debido principalmente a potencial rebajado del electrodo de cátodo (Liu et al. 2005). La alta conductividad (fuerza iónica) del medio en CCM es muy crucial para alta generación de energía (Gil et al. 2003) Una observación similar descubrió que la CCM con fuerza iónica de 400 mM podría producir 1,8 veces más alta densidad de potencia (1330 mW/m²) que en la fuerza iónica del medio 100 mM, no obstante, la adición de nutrientes y metales al medio de ánodo no era útil para acrecentar la densidad de potencia en este estudio. Estos resultados sugieren que las aguas residuales en sí no puede ser un electrolito suficiente para obtener alta potencia en operación de campo (Liu et al., 2005).

En otros trabajos en las CCM se inoculó con lodo anaeróbico y aguas residuales utilizando electrodo de carbono, o un electrodo de carbono férrico recubierto, hubo un tiempo de 20 h de retardo en la fase seguido por un rápido aumento de la tensión de la célula durante las próximas 30h. El voltaje de la célula alcanzó un máximo de 70mV (4 mW/m²) con el voltaje de la celda disminuye gradualmente a medida que la materia orgánica en el agua residual se consumió, la respuesta electrogénica de lodos y aguas provenientes del lago del campus de la Universidad del Valle, con un pH entre 7,60 y 7,96 sin ninguna modificación del combustible microbiano por 34 días utilizando curvas de potencial de celda vs densidad de corriente obtenidas en una celda de combustible microbiana sedimentaria (SMFC), de una cámara, en condiciones que pueden considerarse anaeróbicas. El desempeño de esta SMFC dio como densidad de potencia máxima 0,018 [micró]W/[cm.sup.2] en el día 19 de la operación. Esta investigación llego a la conclusión de que lodos del lago de la Universidad del Valle usados en una CCM de una cámara expusieron una interesante actividad catalítica para la potencial oxidación de materia orgánica o inorgánica. Los lodos del lago muy posiblemente poseen una biota microbiana que involucra bacterias con gran actividad electrogénica, además de una alta concentración de nutrientes orgánicos e inorgánicos (Richter et al., 2008)

Se ha realizado investigaciones de “Producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: Andes- Amazonia, Ecuador” realizado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de

Ciencias por el Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), en el cual se generó bioelectricidad utilizando suelo de los Andes y de la Amazonía-Ecuador, que la que contrastó la producción de bioelectricidad utilizando residuos orgánicos como sustrato frutas y verduras, con suelos de la Comunidad Achuar Kaipach-AMAZONIA, y la Comunidad de Pichan Central-ANDES. Se armaron varias CCM con diferentes tamaños y concentraciones, en la cual se determinó que la prueba de Tukey mostro en el Caso de estudio Andes no existe diferencias significativas entre repeticiones de cada tamaño, de manera que la generación de electricidad es más estable. En el caso del estudio Amazonia mostro diferencias significativas entre repeticiones de cada tamaño, lo que indica que existe mucha inestabilidad en la generación de energía la cual no conviene ya que lo que se necesita es un rendimiento de energía constante (Logroño, 2014).

En otra investigación se implementó Celdas de Combustible Microbiano (CCMs) en la que se generó energía bioeléctrica, las celdas fueron nutridas con suelo de la Comunidad de Pichan Central de la provincia de Chimborazo y residuos orgánicos. La CCMs presentó una configuración con el compartimento anódico armado por la matriz orgánica y suelo donde se colocó el electrodo de fibra de carbono conectado a un circuito externo, continuamente se conformó el espacio correspondiente a la Membrana de Intercambio de Protones (MIP) con una nueva proporción de suelo y carbón activado sobre esta y se colocó el electrodo cátodo para formar el circuito de las CCMs. En el estudio se observó una correlación inversa del número de UFCs con la generación de bioelectricidad. (Ramírez. G.; Armas. P., 2014)

1.3. Bases Teóricas

1.3.1 Aguas Residuales Domésticas.

Son las aguas originadas en las viviendas o instalaciones comerciales y/o públicas. Están contaminadas con gérmenes patógenos, sólidos, detergentes, nitrógeno, fósforo, materia orgánica fácilmente biodegradable como proteínas, carbohidratos, lípidos y trazas de otros compuestos (Revelo et al., 2013).

Existen tres métodos principales para medir la cantidad de materia orgánica en el agua:

1. La medida de la demanda biológica de oxígeno,
2. La de la cantidad total de carbono
3. La de la demanda química de oxígeno.

Todos los métodos se basan en la valoración de la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar diferentes fracciones de la materia orgánica presente en el agua (Métadier, 2011).

1.3.2 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Es la cantidad de oxígeno necesaria para que una población microbiana heterogénea estabilice la materia orgánica biodegradable presente en una muestra de agua residual, representa una medida indirecta de la concentración de materia orgánica e inorgánica degradable o transformable biológicamente, en condiciones normales de laboratorio la DBO se cuantifica a 20°C durante un período de 5 días, con valores expresados en mg/l O₂ (Hayakawa A.; et al., 2006)

Principales aplicaciones

- Medición de la calidad de las aguas residuales y superficiales
- Establecimiento de límites de descarga
- Diseño de unidades de tratamiento biológico
- Evaluación de PTARs
- Los procesos de oxidación biológica

La DBO₅ suele emplearse para comprobar la carga orgánica de las aguas residuales municipales e industriales biodegradables, sin tratar y tratadas. La DQO se usa para comprobar la carga orgánica de aguas residuales que, o no son biodegradables o contienen compuestos que inhiben la actividad de los microorganismos. (Hayakawa A.; et al.,2006)

1.3.3 Suelos de páramo ecuatoriano.

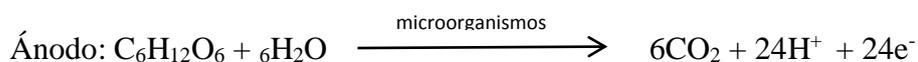
El páramo se halla desde los bosques andinos entre 3.000 y 3.500 m, y la demarcación menor de las nieves entre 4.800 y 5.000 m. (Cunalata, 2013), el suelo típicos de páramo presenta colores negros debido a la alta presencia de materia orgánica en porcentajes de 50 a 85%, por a la elevada humedad y al frío clima, la descomposición de materia orgánica es significativamente lenta, acumulando una gruesa capa de suelo orgánico. En general, los suelos de los páramos ecuatorianos se encuentran sobre depósitos volcánicos, los suelos volcánicos de los páramos comparten ciertas características físicas y químicas inseparables a esta asociación las cuales son densidad, consistencia untuosa, estabilidad estructural, deshidratación irreversible, alta fijación de fósforo, retención de humedad elevada, alta capacidad reguladora y pH elevado (Cunalata, 2013).

1.4 Celdas de combustible microbianas

1.4.1 Principios de una celda de combustible microbiana

La celda de combustible microbiana (CCM) forma un rumbo distinto de tecnología para obtener bioelectricidad iniciando de biomasa con microorganismos (Srebotnjak, 2011). La celda de combustible microbiano es un reactor bio-electroquímico que convierte la energía química acumulada en los conexiones químicos de la materia orgánica e inorgánica a bioelectricidad a través de las reacciones catalíticas de microorganismos bajo condiciones anóxicas.(Panwar N.; Kaushik S.; Kothari S., 2011)

La CCM está constituida de una cámara anódica y una cámara catódica apartadas por una membrana de intercambio protónico (MIP) (Ver Figura 1-1).Las bacterias en el ánodo oxidan la materia orgánica, generando protones (H⁺) y electrones (e⁻). La ecuación (1) representa una reacción típica con glucosa como sustrato:



De modo que el ánodo procede comoceptor de electrones externo para las bacterias, en consecuencia los electrones son transferidos al cátodo vía ánodo, a través de un circuito externo produciendo una corriente eléctrica (Gerteisen D.; Hakenjos A.; Schumacher J. O., 2007), con la reducción del oxígeno puro o del aire para formar agua

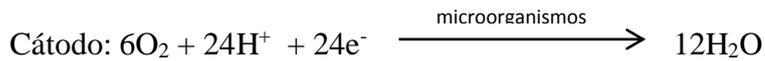
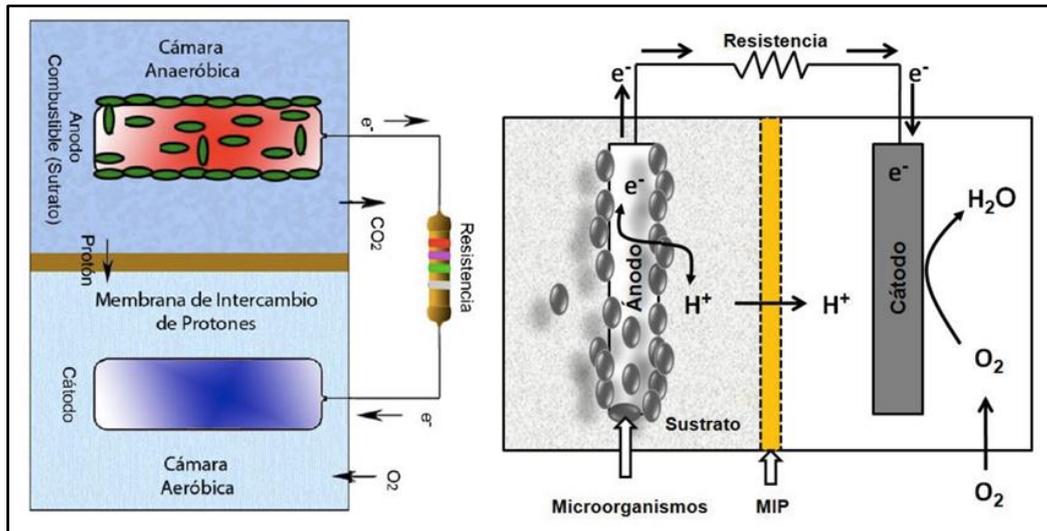


Figura 1- 1: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO



Fuente: (Du et al, 2007).

La cámara anaeróbica posee componentes orgánicos que al oxidarse, generan electrones, protones y CO₂. En cada cámara se coloca un electrodo, el ánodo en la cámara anaeróbica y el cátodo en la cámara aeróbica (Du et al., 2007), a medida que los electrones se liberan en la cámara anódica, éstos son atraídos por el ánodo y en consecuencia trasladados hacia el cátodo por un circuito externo, paralelamente, en la cámara anódica se crean protones que emigran a la cámara catódica por medio del separador donde se conciertan con el oxígeno del aire para tener como producto agua con los electrones que atraen solamente del cátodo (Li et al., 2011).

Según “Du et al.,2007” la celda puede ser fabricada en acrílico o en vidrio, para los electrodos materiales como cobre, platino, grafito u otros, el separador frena el paso de electrones de la cámara anódica a la catódica y permite pasar los protones, puede ser de varios tipos como membrana de intercambio de cationes (MIC), membrana de intercambio de aniones, membrana bipolar, membrana de microfiltración, membrana de ultrafiltración, puente salino, fibra de vidrio, membranas porosas y diferentes materiales para depurado (Li et al., 2011). El separador utilizado es la MIC y entre ellas es muy común la Nafion (Borole et al., 2010).La variante de la CCM de doble cámara se logra

eliminando la cámara catódica y mostrando el cátodo al aire, convirtiéndose de esta forma en una CCM de una cámara. (Du et al., 2007).

Se han desarrollado CCMs de biocátodo o de cátodo microbiano, que a diferencia de los cátodos abióticos los microorganismos son utilizados como biocatalizadores para admitir electrones a partir del cátodo y así suplir el uso de catalizadores químicos de alto precio (Huang et al., 2011). Los biocátodos son de dos tipos:

(1) Biocátodos aeróbicos los cuales usan oxígeno como el oxidante y microorganismos causantes de la oxidación de combinados metálicos de transición.

(2) Biocátodos anaeróbicos que utilizan distintos compuestos como aceptores terminales de electrones, estos biocátodos son de gran importancia por su costo accesible, son auto-regenerativos presentan alta sostenibilidad disminuyendo altos potenciales catódicos (Huang et al., 2011)

1.5 Tipos de celdas de combustible microbianas

1.5.1 Sistemas de un compartimento

Las Celdas de Combustible Microbiano de un compartimento proveen diseños simples así como ahorro en costos, al no requerir de una aireación forzada en una cámara catódica. Según (Liu y Logan, 2004) diseñaron una CCM de un compartimento el cual constaba de un ánodo y un cátodo situados en los extremos de una cámara cilíndrica de Plexiglás (Fig. 2A). Los electrodos del ánodo fueron de papel carbón sin catalizador, para la construcción del cátodo se experimentaron con dos tipos de electrodos, de tela de carbón flexible y una MIP (Nafion), se usó de platino para conectar el circuito externo. La Figura 1-2B muestra un sistema tubular de CCM, compuesto el ánodo de gránulos de grafito, una membrana MIC y una barra de grafito como cátodo. (Aelterman P, 2006). Otros investigadores construyeron una celda con un tubo cilíndrico de Plexiglás como se muestra en la Figura 1-2C, el ánodo estuvo constituido por gránulos de grafito y el cátodo de una tela de carbón flexible, donde los electrodos se conectaron a un alambre de cobre para cerrar el circuito externo. (Zhang. et al., 2008).

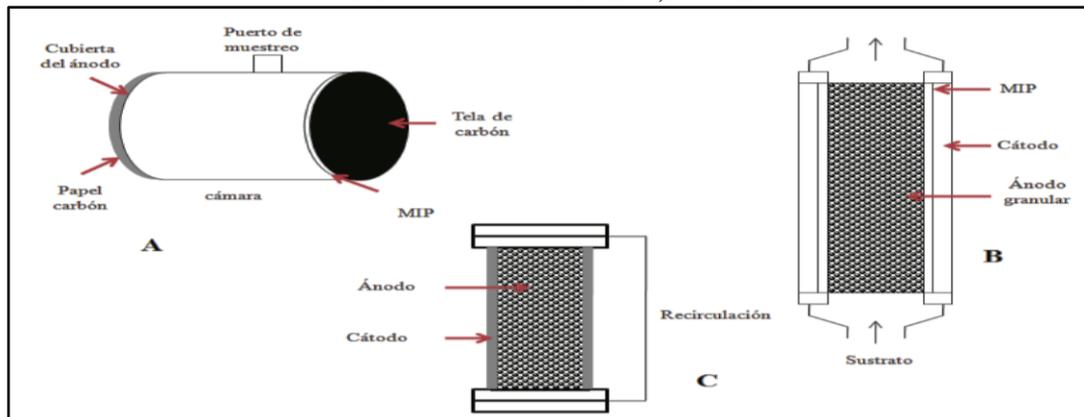
1.5.2 Sistemas de dos compartimentos

Una CCM de dos compartimentos está compuesta por una cámara anódica y una cámara catódica separadas por una MIP o un puente salino, el cual permiten el paso de los H^+ hacia la cámara catódica (Du Z.; et al., 2007).

Se ha realizado la construcción una CCM constituida de dos frascos de 300 mL de capacidad, conteniendo electrodos de papel carbón (Fig.1-2.A). Los frascos unidos mediante un puente de vidrio que contenía la MIP seguida por una abrazadera entre las terminales del tubo de vidrio (Fig. 1-2 B). (He Z.; et al., 2007).

Se ha utilizado CCM con un compartimento catódico montados en forma de U, pegando dos tubos hechos de MIP, en una base de plástico, el cátodo se colocó dentro de la cámara del ánodo, estando tanto el ánodo y el cátodo, llenados con carbón activado granular como se observa en la Figura 1-2.

Figura 1- 2: CELDAS DE COMBUSTIBLES MICROBIANAS DE UN COMPARTIMENTO A, B Y C



Fuente: (Zhao. S, et al, 2008)

1.6 Microorganismos y sustratos utilizados en CCM

En una celda de combustible microbiano CCM los microorganismos son preparados para utilizar al electrodo (ánodo) comoceptor final de electrones consecuencia del metabolismo de la materia orgánica. Se ha manejado con éxito en CCM cultivos puros de microorganismos (Ver anexo A) Se conoce la utilización de cultivos mixtos, que ofrecen una mayor capacidad metabólica a diferencia de los cultivos puros, y elevada poder para degradar sustratos orgánicos complejos, pero la competencia microbiana por espacio y

contacto de los microorganismos pueden ocupar espacio y desplazar a las cepas electroquímicamente activas. Entre los cultivos mixtos estudiados se han usado una gran variedad de sustancias y residuales como sustrato para las CCMs, (Ver anexo B), en la operación de CCM se tiene lodo anaerobio, agua residual, varios sedimentos marinos (Ver anexo A), de uno de ellos se aislaron dos cepas psicotolerantes de la familia Geobacteriaceae, consorcios microbianos de tipo metanogénico y sulfato reductor. (Holmes D.; et al., 2006)

1.6.1 Microorganismos en la cámara catódica

Rabaey y Verstraete (2005) exponen una investigación específica en relación a la producción de electricidad bacteriana en la cámara anódica e indican que los factores importantes que influyen son, las vías metabólicas por que rigen la efusión de electrones y protones, la atribución del sustrato y el potencial del ánodo. A grandes potenciales anódicos, las bacterias emplean la cadena respiratoria para un metabolismo oxidativo de esta manera transferir electrones al ánodo, sin embargo, si el potencial del ánodo baja los electrones probablemente se depositan sobre aceptores de electrones facultativos y en su desaparición, el resultado será la fermentación.

En cultivos mixtos en que los microorganismos fermentativos pueden tener baja capacidad o nula capacidad para trasladar electrones al ánodo, pero, su metabolismo ayuda a la obtención de energía en la CCM ya que aportan subproductos para utilizarlos como sustratos de otras poblaciones microbianas, estableciendo interacciones simbióticas (Richter et al., 2008).

Es preferible utilizar cultivos mixtos porque conciben elevados potenciales económico y poco exigente (Du et al., 2007). En los consorcios anódicos las bacterias más habituales conciernen a los géneros *Shewanella*, *Geobacter*, *Proteobacter* y *Pseudomonas*, subrayando especies de *S. putrefaciens*, *P. aeruginosa*, *G. sulfurreducens* y *G. metallireducens*. Fernando et al., 2013).

En lo que se refiere a energía producida por microorganismos, Debabov (2008) asevera que como resultado de los adelantes de los últimos 10 años, la consistencia de potencia de las CCMs aumentó en distintas escalas de magnitud, de 0,1 mW/m² a 4,3 W/m². Du et

al. (2007) analizan que los valores más elevados se lograron empleando ferricianida en la cámara catódica, de manera que las CCMs más eficientes no son activas a escala comercial por la contaminación que se puede ocasionar a este mediador. Los valores de densidad de potencia característicos publicados en la literatura se pueden observar en la tabla del Anexo. B, con el fin de incrementar estos valores investigadores demostraron hace poco que se puede utilizar la ingeniería metabólica para privarla síntesis de lactato, para incrementar la liberación de electrones (Yong et al., 2012).

1.6.2 Microorganismos en la cámara catódica

Los microorganismos en las CCMs son importante para la transferencia de electrones, que ocurre en la célula, de la célula hacia el electrodo y del electrodo a la célula; de modo que, aprender de sus interacciones, identificarlos y determinar su función en el proceso, contribuye al conocimiento básico y al mejoramiento del trabajo de la celda. Los microorganismos electrótrofos que tiene la capacidad de aceptar electrones de la superficie del cátodo directamente (Rittmann, 2006), sobresalen especies como *G. sulfurreducens* y *S. putrefaciens*, bacterias en biocátodos son Gram-negativas, pero algunas Gram-positivas, otras como *Acinetobacter calcoaceticus* suelta compuestos activos redox trasladando electrones al oxígeno catódico (Huang et al., 2011).

1.7 Sustratos

Es un constituyente importantes ya que constituye el combustible para generar energía, se han empleado una gran diversidad de sustratos, desde compuestos puros hasta combinaciones complicadas (Liu et al., 2009). Antes los primeros sustratos eran simples como glucosa y acetato se los usaba de forma general, hace poco las investigaciones se han centrado en el uso de sustratos poco convencionales con la finalidad de utilizar la biomasa que se encuentra en las aguas residuales de diverso tipo de esta forma depurarlas y obtener energía.

Los sustratos complejos para una CCM es de utilidad ya que se pueden degradar y/o biorremediar previamente de su descarga al ambiente, diferencia de los compuestos puros los sustratos complejos necesitan para su degradación una consorcio microbianovariado

y electroquímicamente activa (Pant et al.,2010), de esa forma los microorganismos se van adaptando dependiendo del tipo de sustrato, como modelos de sustratos se pueden investigar: aguas residuales de industrias alimentarias, de industrias farmacéuticas, residuos agrícolas y otros, se ha confirmado que las CCMs pueden trabajar como sustratos, no únicamente como material orgánico degradable, sino que también como material invulnerable a la biodegradación (Logan et al., 2006).

Hay que tener en cuenta diversos factores para optar por el sustrato a utilizar así como también el costo, los sustratos puros implican ser más costosos por los procesos de producción, mientras que los sustratos complejos son obtenidos de desecho industriales o doméstico que se hallan disponibles en forma cuantiosa, fácil de obtener y económicamente accesible. La concentración del sustrato es otro factor pues es responsable de las reacciones enzimáticas que suceden en el interior de la CCM, el incremento de la concentración del sustrato apresura la velocidad de reacción, el resultado mayor generación de energía, pero otros autores han identificado efectos contrarios y elevadas densidades de potencia a pequeñas concentraciones (Sharma, 2010). Existen dos motivos probables que explican esta conducta, primero, el incremento de productos de fermentación que originan una baja del pH en el sistema, que inhibe la actividad enzimática; segundo, ciertos combinados del sustrato orgánico son manejados para el crecimiento bacteriano mas no para la producción de electricidad (Sharma y Li, 2010).

La eficiencia de la celda de combustible microbiano paralelamente está afectada por contextos de trabajo, los gradientes de pH se provocan por la acidificación en la cámara anódica y la alcalinización en la cámara catódica, ya que en las reacciones anódicas se obtiene protones y en las reacciones del cátodo se utilizan protones, si en la cámara anódica la propagación y el traslado de los protones por medio de la MIP es lenta, provoca la disminución del pH causando la disminución radical de la actividad bacteriana lo que afecta la transferencia de protones hacia la cámara catódica (Huang et al., 2011), por otro lado, el caudal de protones y otros cationes alcalinos hacia el compartimiento catódico disminuye el oxígeno y provoca un aumento de pH. La reserva de protones en el cátodo es clave, determina la validez de reducción del oxígeno el cual influye en que un aumento del pH en la cámara catódica tiene la posibilidad de disminuir drásticamente en la generación de corriente, termodinámicamente, el cambio de una unidad de pH provoca

en el electrodo pérdida de potencial de 59 mV, para evadir estos cambios de pH se necesita de soluciones buffers de fosfato.

Luego de identificar los factores que incurren en el desempeño de la CCM se traza el proyecto de un sistema para una aplicación práctica. He et al. (2013) lograron descontaminar aguas de un lago en China, usando una CCM como pre-tratamiento para lograr su biorremediación, logrando que la materia orgánica soluble se redujera y paralelamente se obtuvo una consistencia de potencia de 164 mW/m³, el sustrato relevante manejado por la CCM fueron las proteínas de las aguas del lago, esto es de gran interés para la investigaciones de purificación de agua ya que generalmente se realizan por métodos químicos, son energética y operacionalmente caros. Las CCMs brindan una alternativas para el tratamiento de aguas residuales ya que conjuntamente podrían usarse para descontaminar desechos industriales y crear energía eléctrica (Schröder, 2011).

1.8 Efecto de las condiciones de sobre las CCM

1.8.1 Temperatura

La actividad de los microorganismos en las CCM disminuye cuando la temperatura baja, las pérdidas de polarización por concentración aumentan al reducir la temperatura por ende disminuya la potencia de la celda, ya que los procesos por propagación también disminuyan al reducir la temperatura (Huang et al., 2011).

1.8.2 Concentración de la materia orgánica

Alta concentración de sustrato estimula una elevada generación de electricidad en un vasto rango de concentraciones. Park y Zeikus determinaron que aumentando la concentración de lactato hasta 200 mM se obtiene como resultado valores altos de energía en una CCM inoculada con *S. putrefaciens*. Investigadores Moon et al., (2006) indagaron el efecto de la concentración de sustrato en el rendimiento de una CCM, en este estudio se encontró además que la densidad de potencia se fue acrecentando con el aumento de la concentración del sustrato. Un trabajo reciente, se investigó que operando seis CCMs con agua residual diluida con agua desionizada derivado de la industria cervecera, con un

rango de concentraciones de 84 a 2240 mg DQO/L, se logró un aumento de la densidad de potencia de 29 a 205 mW/m², correspondientemente, pero la separación de DQO reveló directrices a un máximo relativo, extendió de 54 a 98% mientras la concentración del agua residual se modificó de 84 a 1 600 mg DQO/L y redujo a 87 % cuando la concentración de materia orgánica presentó un valor de 2240 mg DQO/L, No obstante, cuando se amplió la concentración de materia orgánica, la densidad de potencia bajó en casi 63% (Feng.; et al., 2008).

1.8.3 Materiales para electrodos anódicos

En general se ha visto que la configuración geométrica y el material de los electrodos anódicos impactan el metabolismo microbiano, desde la formación de la biopelícula, hasta la oxidación directa de la fuente de carbono, así como los mecanismos de transferencia de electrones. La superficie disponible del ánodo y la distribución de los electrodos, son factores que junto con la selección y diseño de materiales, afectan la resistencia de la celda y la densidad de potencia que se genera. Además, una adecuada selección de los electrodos en un sistema dado, puede disminuir los efectos de polarización e impactar en el desempeño global (Marinus et al., 2009, Dumas, Claire et al., 2008, Du et al., 2007).

Usualmente los diferentes tipos de materiales generan diferentes pérdidas y una de las más significativas para el desempeño global son las pérdidas debidas a la polarización por activación. Los electrodos que hasta ahora se han utilizado son de platino (Pt), Pt-negro, grafito y tela de carbón toray, acero inoxidable, principalmente. Los materiales con platino presentan una mayor actividad catalítica y permiten obtener mayor densidad de corriente, pero sus costos son muy elevados (Logan et al., 2006, Du et al., 2007). Diferentes grupos de investigación han utilizado la modificación de electrodos como estrategia para mejorar el costo y desempeño de las celdas de combustible microbianas (Watanabe, 2008).

1.8.4 Transporte de electrones

El centro de las celdas de combustible en general, es la generación electrónica o el suministro constante de electrones mediante una reacción llevada a cabo en uno de los

electrodos, en concreto el ánodo. En ese orden de ideas las celdas de combustible microbianas no son la excepción y cuya única diferencia respecto de otros dispositivos similares es la naturaleza de el catalizador de la reacción anteriormente mencionada, el cual generalmente consiste en una red cristalina conformada por algún metal o aleación en donde se favorece la oxidación de algún combustible, las CCM en cambio poseen una colonia de microorganismos que realizan una labor similar siempre que el combustible alimentado sea apto para efectuar sus funciones metabólicas, por lo que el electrodo constituye un receptor de aquel flujo de electrones generado en el proceso global de dicho metabolismo, lo cual añade cierta complejidad a estos dispositivos ya que es necesario añadir el factor biótico con todo lo que ello implica, a continuación se expondrá a grandes rasgos lo relacionado con este fenómeno de generación de electrones y su transferencia al electrodo (Lovley, 2011).

1.9 Transferencia extracelular de electrones

1.9.1 Transferencia de electrones desde el microorganismo al ánodo

En un bioánodo se encuentran presentes bacterias electroquímicamente activas que trasladan los electrones al ánodo por medio de membranas tales como los citocromos tipo *c*, denominados pili que son utilizados como nano conductores (Chang et al., 2006). Otras bacterias que no pueden transferir electrones por su naturaleza no conductiva de la membrana celular, demandan de mediadores de electrones exógenos o endógenos (Du et al., 2007), se reducen en la oxidación metabólica de materiales orgánicos y luego su forma reducida es re-oxidada al trasladarlos electrones para ánodo, el mismo que se mantiene a un alto potencial eléctrico, este es un proceso cíclico que permite una elevada velocidad de transferencia de electrones acrecentando la salida de energía (Du et al., 2007). Los mediadores tendrían poseer características: traspasar la membrana celular sin problema, llevar los electrones a partir de la cadena transportadora, tener una alta velocidad de reacción con el electrodo, buena solubilidad en el anolito, no biodegradables ni tóxicos para los microorganismos, económicos y poseer un potencial de reducción similar al componente biológico para conservar buena transferencia de electrones (Bullen et al., 2006). Lamentablemente, la poca inestabilidad de los mediadores sintéticos, su valor económico y alta concentración, puede llegar a ser tóxica para el microorganismo, resto restringe sus aplicaciones en las CCMs (Chang et al., 2006); de modo que, las CCMs

sin mediadores son favorables en el tratamiento de aguas residuales y producción de energía ya que se anula el costo del mediador. Al manejar un mix de microorganismos la presencia de mediadores endógenos es común, los cuales podrían ser metabolitos secundarios, en el caso de *Shewanella putrefaciens* y *Pseudomonas aeruginosa*, o metabolitos primarios vistos en *Escherichia coli* y en *Sulfurospirillum deleyianum*; (Rabaey y Verstraete, 2005).

1.9.2 Transferencia de electrones desde el cátodo al microorganismo

Los mecanismos de transferencia de electrones en los biocátodos son similares en los del bioánodo, donde los microorganismos suelen llevar a cabo reacciones de transferencia directa con una colaboración importante de citocromos tipo c e hidrogenasas, y además reacciones de transferencia indirecta con mediadores redox naturales como pirroloquinolinaquinona, los microorganismos capaces de admitir electrones solamente a partir de electrodos se denominan electrodo-oxidantes o electrótrofos (Lovley, 2011); en esta etapa, los electrones que recogen del cátodo son llevados selectivamente a aceptores finales con elevados potenciales redox, que captan del medio (Mook et al., 2013), como protones, CO₂, nitrato, fumarato, Cr (VI), U (VI), solventes clorinados, y otros (Lovley, 2011). Dicho mecanismo permite representar un amplio rango de aplicaciones primordialmente en biorremediación, ya a que la mayoría de los aceptores finales en su estado reducido logran ser amigables para el ambiente (Lovley, 2011).

CAPITULO II

2 METODOLOGÍA

2.1 Parte experimental

2.1.1 Lugar de estudio

El suelo de Paramo en si ha sido objeto de interés de estudio por su gran biodiversidad en bienes y servicios ambientales; tales como indicadores biológicos por su poca intervención agrícola y humana; consecuentemente posee una gran cantidad de carbono orgánico total y minerales, garantizando una actividad metabólica eficiente y acorde a nuestra investigación. De igual manera la zona fue objeto de análisis por el hecho de ser un sitio llano, además por encontrarse junto a una laguna natural, siendo este indicador de microfauna asociada a la producción de bioelectricidad. De hecho en la actualidad en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se han desarrollado temas de investigación que rodean este fin desde determinaciones de carbono orgánico, como indicadores de biodiversidad, hasta producción de bioelectricidad como tal.

Es motivo por el cual nos hemos enfocado en este sistema para objeto de estudio, el lugar analizado y previo estudios ya realizados elegimos el sector de la Comunidad Pichan-Central de la zona Andina de la Provincia de Tungurahua siendo sus coordenadas 763138E y 9833826N UTM y mediante una estación meteorológica portátil (Kestrel 1000) obtuvimos los siguientes datos del sector:

Velocidad del viento de 0,82 m/s siendo su mínimo y una velocidad máxima de 2,47 m/s, temperaturas que van desde 8°C a 11°C, presión atmosférica de 629,2 hPa, y una altitud de 3850 msnm.

2.2 Métodos

A. Muestreo de suelo

Es sin duda que las características físico – químicas del suelo mencionadas fue y será una de los factores claves para proceder a determinar el lugar correcto de muestreo para

desarrollar una investigación de este tipo siempre y cuando la intervención tanto humana como natural no lo diga lo contrario. Como reseña y en general; artículos destacan las propiedades del suelo de Paramo empezando desde que, su estructura y consistencia es suelta, 60% de porosidad, un pH de 5.8 y en especial y siendo fundamental para esta investigación su alto contenido de materia orgánica, fosforo y potasio (Logroño, 2014).

La asepsia para proceder a un muestreo de este índole o de cualquier otro es fundamental desde desinfectar el o los instrumentos que se van a utilizar para el muestreo hasta su recolección y transporte, es por eso que antes de muestrear se procuró desinfectar mediante alcohol antiséptico los barrenos que nos permitirían sacar el suelo proponiéndonos a no destruir ni deteriorar en lo más mínimo su cobertura o su corteza cabe recordar que los páramos están protegidos por su gran biodiversidad tanto de macro como microinvertebrados.

Una vez seleccionado el lugar exacto 763138E y 9833826N UTM se procedió a realizar puntos de muestreo utilizando la técnica de grillas de muestreo de una dimensión de 6X6 metros cuadrados orientados por la técnica y la disposición del lugar como se observa en la Fotografía 2-1.

Fotografía 2- 1: SELECCIÓN DE SUELO DE PÁRAMO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

La profundidad con la que se tomó la muestra fue de alrededor de 20-40cm (Fotografía 2-2) ya que mayor profundidad las capas que constituyen el suelo representan un

requerimiento nutricional para la biota cercana a su alrededor y esto se pudo constatar en su apariencia física como en su análisis físico-químico.

Fotografía 2- 2: SELECCIÓN DEL LUGAR DEL MUESTREO



Fuente: Allauca, G.,Guambo, A.2014

Se encontró una gran cantidad de cationes y esto es esencial para la capacidad oxidoreductiva para producir bioelectricidad (Ver anexo M)

Una vez tomada la cantidad requerida es necesario su homogenización y su traslado bajo en lo posible a la temperatura en la que se muestreo. Por lo cual fue necesario un cooler y mucho hielo.

B. Muestreo y preparación del agua residual sintética

El agua residual sintética fue producto del lavado de arroz de una cierta marca específica para controlar obviamente parámetros externos y no deseados; al utilizar un solo tipo nos ayuda a conocer la concentración con la que cuenta al ser lavado con una cierta cantidad de agua siendo también está de un solo tipo; de esta manera se manejó rangos de concentraciones que nos permitieran valorar de mejor manera el comportamiento dentro de una celda de combustible microbiano. Las celdas CCM trabajan con bacterias que se alimentan de los desechos contenidos en el líquido residual que entra por un lado, mantenerlo durante un tiempo y, producto del metabolismo de los microorganismos,

generar el flujo de electrones, que es capturado por la celda (Arias, X., 2014). El arroz posee propiedades beneficiosas como fuente energética, actúa como combustible para el cuerpo y ayuda en el funcionamiento normal del cerebro, su componente principal son los hidratos de carbono, los cuales son metabolizados y se convierten en energía utilizable funcional. (Arias, X., 2014), contiene vitaminas, minerales, es el cereal más rico en almidón, con un porcentaje del 70% aproximadamente, característica especial que fue clave para utilizarlo como fuente nutricional para las CCMs.

Estudios de grado como de Ramírez Et al. (2014) recalca que existe una mayor producción de bioelectricidad con respecto a la utilización de matrices que posean mayor cantidad de glucosa; recordando que el almidón presenta la misma ruta metabólica que la glucosa, motivo por el cual se eligió directamente sin recargo adicional de nutrientes el utilizar solo y específicamente agua residual de lavado de arroz. El término agua residual sintética viene al hecho de que se lo realizó en un laboratorio bajo criterios tanto de cantidad de agua utilizada para su lavado como así lo es la cantidad de arroz utilizada para la acción mencionada de esta manera obtener una concentración predeterminada y conocida al momento de su administración. Evitando factores intervinientes o no deseados que implicaría si se lo realizara a través de muestrear en una industria o en un hogar. A través de prueba y error realizamos lo siguiente:

➤ **Para obtener una concentración de 8 – 16 ppm de DBO**

Utilizamos 1 litro de agua en 14.175 gr de arroz. Restregamos aproximadamente por 5 minutos.

- De esta mezcla tomamos 25ml y aforamos a 100ml
- Mezclamos y tomamos 94ml para suministrar a la primera celda.

➤ **Para obtener una concentración de 50 – 100 ppm de DBO**

Utilizamos 1 litro de agua en 56.7 gr de arroz. Restregamos aproximadamente por 5 minutos.

- Se tomó de esta mezcla 25 ml y se aforo a 100 ml
- Mezclamos y tomamos 94ml para suministrar a la segunda celda.

➤ **Para obtener una concentración de 100 – 200 ppm de DBO**

Utilizamos 1 litro de agua en 226.8 gr de arroz. Restregamos aproximadamente por 5 minutos.

- Tomamos de la mezcla 100ml y aforamos a 500ml
- Mezclamos y tomamos 94ml para suministrar a la segunda celda.

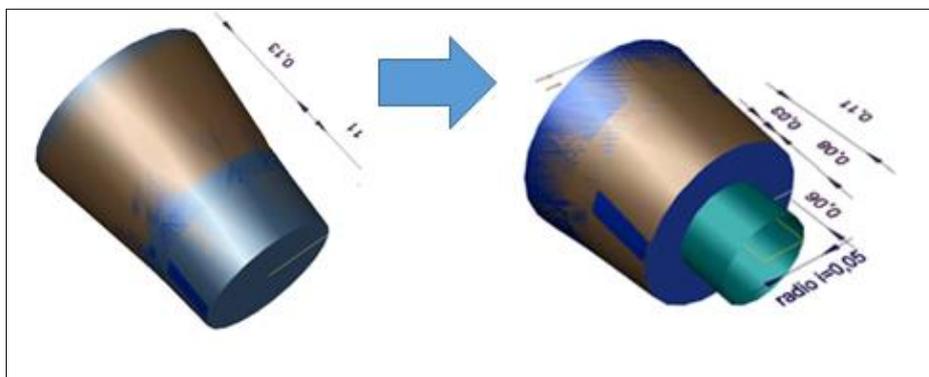
Se utilizó un total de 20 libras de arroz en un transcurso de dos semanas sin tomar en cuenta el tiempo en demora de las pruebas iniciales.

Los Análisis de prueba y error están sustentados en el informe de análisis de aguas realizado por el Laboratorio de Análisis Técnicos de la Facultad de Ciencias la cual trabaja con Normas y Métodos APHA, AWWA, WPCF 17ed los resultados obtenidos se puede ver en los Anexos C, D, E al final del documento.

C. Configuración de las CCMs

Para diseñar la configuración idónea y apta para la investigación se requirió de mucho ingenio pasando desde modelos tridimensionales en AUTOCAD (Ver Figura 2-1) hasta modelos simples en material de polietileno.

Figura 2- 1: MODELOS TRIDIMENSIONALES EN AUTOCAD



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Se optó por el modelo más sencillo envases de polietileno que permitían realizar los suministros requeridos y a la vez servir como CCMs, se tomó en cuenta el estudio de: “PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD MICROBIANA UTILIZANDO RESIDUOS ORGÁNICOS COMO SUSTRATO, PARA DOS CASOS DE ESTUDIO: ANDES-AMAZONIA” –ECUADOR, siendo el referente las celdas más estables de 12litros; sin embargo para la investigación se utilizó netamente el volumen real y útil que se mencionó anteriormente. Si bien es cierto que se trataba de 12 litros su configuración como tal; pero la capacidad como CCM total fue de 3455cm³ equivalente a 3,455 litros.

Se utilizó 3 recipientes con capacidades iguales a 3,5L para la experimentación correspondiente y un cuarto como grupo control para la comparación (Ver Fotografía 2-3), el compartimento que corresponde al cátodo permaneció en contacto con el aire y no cerrado como lo habían hecho otras investigaciones. La estructura consta de 2m de largo por un metro y medio de alto; las medidas difieren del lugar en donde se desea instalar cabe recalcar que esto funcionaria solo cuando la cámara de una CCM sea de configuración simple (Ver Fotografía. 2-4).

Fotografía 2- 3: CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Fotografía 2- 4: SISTEMA DE CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

La cantidad de suelo muestreado, recolectado y transportado presentó un peso de 16,8 Kg que fueron homogenizados a su llegada y mezclados con 120gr de carbón vegetal por celda como fuente directa de carbono, como se puede ver en la Fotografía 2-5

Fotografía 2- 5: MEZCLA DE CARBÓN Y SUELO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Cada contenedor poseía alrededor de 4,2 Kg de suelo y 120gr de carbón (Ver Fotografía 2-6)

Fotografía 2- 6: CELDA SIN FIBRA



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Se incorporó el tejido de fibra de carbono de espesor de 0,009 plg para el compartimento del ánodo y tejido de fibra de 0,015 plg para el compartimento del cátodo como se observa en la Fotografía. 2-7.

Fotografía 2- 7: CÁTODO CON FIBRA DE CARBONO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

D. Instalación de los sensores y transmisión de datos de las CCMs

Posteriormente cada conexión se determinaba por cada compartimento siendo dos conexiones por celda, formando de esta manera un circuito cerrado, fueron conectadas a un sensor (Arduino Mega 2560) y a la vez a un ordenador (Ver Fotografía. 2-8) para su registro inmediato de generación de bioelectricidad por cada celda con un tiempo de recepción de datos de 30 segundos.

Fotografía 2- 8: CONEXIÓN TOTAL AL ORDENADOR



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Las primeras 72 horas no se procedió a suministrar esperando su adaptación a su nuevo medio y expectativas en la generación de bioelectricidad sin ningún requerimiento nutricional. Cabe destacar que el suelo en sí; una vez ya conformado el sistema CCM poseía de una cierta cantidad de energía el cual nos ayudó a tener y registrar una respuesta antes-después; asumiendo la capacidad oxido-reductiva como tal del suelo de páramo. De esta manera se estudió de mejor manera el comportamiento del suelo con respecto al suministro del agua residual sintética producto del lavado de arroz. La instalación total se ejecutó en el Laboratorio de Biotecnología 2do Piso Facultad de Ciencias (Ver Fotografía. 2-9) para controlar variables como temperatura y PH tratándose ya de un ambiente cerrado y aséptico; siendo este de 5,6 Lac y una temperatura de 25-28°C

Fotografía 2- 9: LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL CC-QQ



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Para el manejo y análisis de datos se utilizó el Software IBM SPSS Statistics 22 e InfoStat (Ver Anexo L); con la finalidad de obtener una base de datos óptima y reflejar el funcionamiento de los dispositivos electrónicos en resultados finales.

Además se tomó datos de forma manual comenzando por la mañana; y en la tarde luego del suministro cada 5 minutos; utilizando un multímetro para realizar las mediciones en milivoltios de cada CCMs en funcionamiento.

2.3 Técnicas

2.3.1 Análisis Pruebas Ensayo-Suelo

Para realizar una correcta experimentación en relación agua y suelo (p/v) para determinar su comportamiento en degradación y producción de bioelectricidad a su vez. Hubo la necesidad de ejecutar una evaluación diagnóstica a considerar los siguientes procedimientos:

- Se procedió a seleccionar el suelo más adecuado en características, morfología y tipología para nuestra experimentación que sea acorde con el tipo a utilizar en la investigación formal. (Ver fotografía. 2-10)

Fotografía 2- 10: SELECCIÓN DEL SUELO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Se seleccionó suelo orgánico de tipo volcánico para guardar similitud con los suelos de paramo

- Al conocer densidades tabuladas para cada tipo de suelo, se seleccionó para éste caso, suelo orgánico que al igual que el de tipo volcánico “Suelos de Paramos” presenta una densidad (ρ) que varía de 1,35 a 1,36 gr/cm³

Tomando en cuenta volúmenes de la Tabla 2-1 y Tabla 2-2 del estudio de la producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: ANDES- AMAZONIA, ECUADOR (Logroño, 2014).

Tabla 2- 1: VOLUMEN DE LA CELDA MÁS ESTABLE

Tacho volumétrico	Volumen útil
12L	3,455 L

Fuente: (Logroño, 2014).

Si: $\rho = \frac{m}{V}$

$m = \rho \cdot V$

$m = 1350 \text{ g/L} \cdot 3,455 \text{ L}$

$m = 4664,25 \text{ g}$

$m = 4,66 \text{ Kg}$

Tabla 2- 2: RELACIÓN DE REFERENCIA DE MATERIALES UTILIZADOS

CCM	REPETICION	SUELO (Kg)	RESIDUOS ORGANICOS (Kg)	CARBÓN (g)
12L	1	2,1 por capa	0,9	120

Fuente: (Logroño, 2014).

Para las pruebas de ensayo se tuvieron los siguientes datos:

Volumen propuesto para la celda = 250cm³

Por consiguiente:

m= 337,5 g

Dividido en 2 capas:

1era. Capa de suelo = 168,7g

2da. Capa de suelo= 168,7g

➤ Se procedió a la instalación respectiva (Ver Fotografía. 2-11)

Fotografía 2- 11: INSTALACIÓN DE CELDA DE PRE PRUEBA



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

➤ Los suministros de líquido se lo realizó de manera progresiva en la cual el líquido residual cubría toda el área infiltrándose de forma descendente hasta la base como se observa en la Fotografía. 2-11. Y Fotografía. 2-12.

Fotografía 2- 12: SUMINISTRO DE LÍQUIDO A LA CELDA DA PRE PRUEBA



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Se lo efectuó cada 5 días basándose en el método estándar de DBO5 que requiere para su análisis cuando se utilice propiamente agua residual, se consideró además realizar los suministros cada 24 horas para observar su comportamiento para mejorar pronto y eficazmente la reducción en materia orgánica ya en funcionamiento en una CCMs.

De esta manera se efectuó las evaluaciones de:

- TR tiempos de retención del agua en recorrer todo el sistema CCM
- Volúmenes de agua adecuada hasta la saturación y sobresaturación total dentro de una CCMs
- TS (Tiempos de saturación) y TSS (Tiempos de sobresaturación) con la que el sistema llegaba a su punto máximo y crítico de funcionamiento. (Ver sección resultados Tabla 3-1 y Tabla 3-2).

Los tiempos fueron tomados gradualmente a través de un cronometro común, la relación v/p fue registrada a medida que el catéter se vaciaba hasta llegar a su punto límite; este volumen se registró manualmente, no se manifestó ningún inconveniente con factores externos como clima, temperatura, pH, ni internos como arrastre de suelo o agua en la CCMs.

De igual manera hubo la necesidad de acortar el tiempo de suministro de 120 a 24 horas; es así que se procedió a continuar con las pruebas ensayo pero esta vez incorporando la provisión diariamente por el transcurso de 10 días

2.3.2 Análisis de DBO

Se utilizó una muestra total de 20 lbs de arroz tanto para las pruebas preliminares como para el suministro correspondiente en funcionamiento a una CCMs, los análisis de aguas se lo llevo a cabo en las instalaciones del laboratorio de análisis técnicos de la facultad de Ciencias como trabajo de Tesis de grado. Se realizó el análisis a través de dos técnicas: Determinación respirométrica DBO y Botellas y cabezales

2.3.2.1 Determinación respirométrica DBO

El sistema sensor VELP SCIENTIFICA, SENSOR SYSTEM6 constaba de 6 puntos de medición que permitía un análisis cómodo y exacto de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) mediante el principio respirométrico, está adaptado a los volúmenes de prueba dependiendo del campo de medición en la Tabla 2-3 se detalla las escala de medición en ppm con relación al volumen.

Tabla 2- 3: RELACIÓN DE MEDIDAS ENTRE ESCALAS DE MEDICIONES Y VOLUMEN PARA DBO

Escalas de Mediciones (ppm)	Volúmenes (ml)
0-1000	100
0-600	400

Fuente: Lab Análisis de Aguas. ESPOCH. (2014).

Durante la determinación DBO las bacterias consumen el oxígeno disuelto en la prueba de agua residual, el oxígeno consumido, es reemplazado por el oxígeno, que se encuentra en la cámara de aire de la botella de prueba, produciendo un descenso de la presión la cual es proporcional al valor de DBO que es registrado por el sensor DBO, el valor de DBO se visualizó directamente en mg/l en la pantalla, sin tener que convertirlos con complicados factores, como valores de DBO en mg/l, de esta manera obtuvo una serie de mediciones. Generalmente los análisis regulares de DBO se extienden a un período de 5 días, como se puede ver en anexos F y G, pero se obtuvo además valores momentáneos (cada 24 horas).

2.3.2.2 Botellas y cabezales

Aparte del sistema en sí de medición DBO para la determinación y memorización de valores DBO, se usó el sistema Oxi700 Orbeco-Hellige, el cual contiene botellas de prueba y cabezales de medición con un sistema inductivo de agitar resistente al desgaste. Este Test contiene tabletas de nutrientes Fe, K, Mg, Bi, y un buffer de pH 7 que causan un consumo definido de Oxígeno. De esta forma se colocó una tableta en el frasco de BOD, y se arrancó el proceso de medición.

2.3.2.3 Cálculos utilizados:

$$DBO_x = DBO_{inicial} * e^{-kt}$$

Fuente:McKinney Test DBO (1962)

Dónde:

DBO_x = Demanda Bioquímica de Oxígeno de acuerdo al día que se requiere conocer

$DBO_{inicial}$ = Demanda Bioquímica de Oxígeno del día inicial

e= exponencial

K= constante

T= Tiempo o día a calcular

2.3.3 Análisis Microbiológico

El análisis microbiológico de un cierto cultivo requiere ser efectuado en condiciones idóneas considerando factores ambientales, como factores físicos-químicos, se consideró estudios anteriores llevados a cabo del mismo suelo, en la misma zona de muestreo.

2.3.3.1 Diluciones Seriadas para el aislamiento respectivo

Se tomó 10 gr de suelo de cada celda (Ver Fotografía. 2-14) una vez ya configurado su funcionamiento y se mezcló con 90 ml de agua de solución salina (Ver Fotografía. 2-13)

Fotografía 2- 13: TOMA DE LA MUESTRA PARA DILUCIONES



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Fotografía 2- 14: CCM DE DONDE SE TOMÓ LAS MUESTRAS PARA LAS DILUCIONES



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Se realizó cultivos del agua que se suministró para determinar la presencia de microorganismos que causen algún sinergismo, mutualismo o comensalismo, tomando 10ml de agua residual sintética se mezcló con 90ml de solución salina por cada muestra, en total cinco, cuatro de las celdas y una adicional del agua residual procediendo a hacer las diluciones respectivas, el medio de cultivo fue en agar nutritivo enriquecido con glucosa. Durante los primeros 2 días se realizaron diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-6} para todos los casos. (Ver Fotografía 2-15)

Fotografía 2- 15: DILUCIONES PARA EL CULTIVO



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Fotografía 2- 16: CULTIVO MICROBIANO EN CAJAS PETRI CON DISTINTAS DILUCIONES



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

A partir del día tres en donde se obtuvo un registro de conteo de 24 y 72 horas se optó que para el agua sintética se necesitaba o era imprescindible realizar diluciones de más alto nivel y así se llevó a cabo diluciones de 10^{-9} por la cantidad de bacterias presentes en el medio, en la segunda semana tomando en cuenta las cantidades de colonias en el medio por celda sembrada, considerando aumentar diluciones para el caso de la celda 1, la celda 2 y la celda 3 que casualmente generaban mayor cantidad de energía con respecto a la celda cuatro siendo esta última grupo control o celda en la que no se suministraba ni agua ni ningún otro nutriente en especial, las diluciones fueron conteos desde 10^{-6} hasta 10^{-9} , mientras que para el agua de arroz en su última prueba aumento su dilución a 10^{-10} para un mejor conteo de las colonias microbianas. Las siembras correspondientes fueron

incubadas a una temperatura de 25-35°C (Ver fotografía. 2-16), con un conteo realizado cada 24 y 72 horas respectivamente.

2.4 Lugar experimental

El proyecto de titulación e investigación en cuestión; se lo desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias- ESPOCH de la ciudad de Riobamba. En las instalaciones del edificio central de la Facultad 2do piso en las instalaciones del Centro de Investigaciones.

2.4.2 Materiales experimentales

En la Tabla 2-4 se describe materiales y cantidades utilizados durante todas las etapas de la investigación.

Tabla 2- 4: MATERIALES EN CAMPO

ETAPAS DE LA INVESTIGACION	EQUIPOS Y MATERIALES	CANTIDAD
Muestreo, Recolección y Transporte de la muestra de suelo de paramo	Cordeles	20 metros
	Cinta métrica	1
	Clavos	4
	Estacas	20
	Fundas Ziploc plásticas	10
	Balanza de resorte	1
	Barreno	2
	Cooler	1
	Hielo	2 bolsas
	Guantes de látex	2 pares
	Estación meteorológica portátil	1
GPS	1	
Muestreo y preparación del agua residual sintética	Arroz	20 lbs
	Recipientes para el lavado	2
	Balanza Analítica	1
	Botellas de plástico	3
	Agua	20 ltrs
	Alcohol	1
	Marcadores	2
Sensor SYSTEM 6	1	

	Test Tabletas DBO	4
Configuración de las CCMs	Recipientes de polietileno (3.5ltrs de capacidad) con entradas y salidas	4
	Tejido de fibra de carbono de 0.009 plg de espesor	1,2 m ²
	Tejido de fibra de carbono de 0.015 plg de espesor	1,2 m ²
	Cable de cobre delgada de 0.6 m	6
	Lagartos de conexión	8
	Tijeras, estiletes	2
	Estructura metálica de 2m X 1.5 de alto con anillos de ajuste metálico	1
	Pernos con rosca de 3 ^{1/2} plg	8
Instalación de sensores y transmisión	Arduino Mega 2560	1
	Cable USB Explorer	1
	Multímetro Digital SDA-201	1
	Computador portátil	1
Análisis microbiológico	Cámara de flujo Laminar	1
	Agitadores Mecánicos	1
	Balanza Analítica	1
	Autoclave	1
	Incubadora	1

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

2.4.3 Materiales de laboratorio

Los materiales de laboratorio, entre reactivos y sustancias se detallan en la Tabla 2-5 por el análisis microbiológico efectuado en el transcurso del experimento:

Tabla 2- 5: MATERIALES UTILIZADOS EN EL LABORATORIO

MATERIALES	REACTIVOS	SUSTANCIAS	EQUIPOS
Cajas Petri Frascos Pirex de 500ml Frascos Pirex de 150 ml Tubos ensayo con tapas de 20ml Gradilla Micropipeteador de 100µl Micropipeteador de 1000µl Puntas volumétricas para micropipeteador Pipetas de 10ml Peras de succión Cucharas plásticas Algodón Mechero Dispersores Marcadores Cinta masking	Agar nutritivo Glucosa K ₂ HPO ₄ NaCl MgCl	Agua salina al 0.5% Agua destilada Nistatina	Cámara de flujo laminar Balanza Analítica Agitador magnético Autoclave Incubadora

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

2.5 Planteamiento de hipótesis

2.5.1 Hipótesis Textual

“La concentración de la materia orgánica sí influye de manera significativa en la generación de bioelectricidad”

2.5.2 Hipótesis Estadística Causal Bivariada

Relación entre una variable independiente (Carga Orgánica) con respecto a una variable dependiente (cantidad de energía producida)

Por consecuencia:

$$H_0: \delta CMO = \delta Cep$$

$$H_a: \delta CMO \neq \delta Cep$$

Donde:

δCMO = Concentración de la materia orgánica presente en las aguas residuales

δCep = Valores de la cantidad de energía producida

Variables dependientes: Cantidad de energía producida

Variables independientes: Concentración de la materia orgánica presente en las aguas residuales

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis, interpretación y discusión de resultados

3.1.1 Análisis de pruebas de ensayo

En la Tabla 3-1 se aprecia los suministros realizados cada quinto día por el transcurso de 25 días y posterior a éste se efectuó un suministro atípico a los 14 días comprobando de esa manera la capacidad de retención del agua en el suelo utilizado como pre ensayo. Se detalla el total suministrado por periodo, de igual manera los volúmenes saturación (VS), volúmenes de sobresaturación, y tiempos totales de suministro en la cual el agua incorporada afectaría a todo el sistema CCMs.

Tabla 3- 1: VALORACIÓN DE SUMINISTROS

Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25	Atípico (Después de 14 días)
Total suministrado					
100 ml	75ml	78,5 ml	71 ml	86 ml	109 ml
Volumen de saturación					
60 ml	50 ml	50 ml	34 ml	50.5 ml	71 ml
Volumen de Sobresaturación					
N.P	63 ml	54,5 ml	63 ml	72,5 ml	N.P
Volumen total descendido					
N.P	12,8 ml	24 ml	11,1 ml	15,5 ml	No representativo
Tiempo total por suministro					
N.A	1 hora 20 minutos	1 hora	1 hora 12 minutos	1 hora 12 minutos	1 hora 20 minutos

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tomando en cuenta los datos obtenidos en el pre ensayo para conocer el volumen necesario de saturación del suelo, se efectuó una relación directa conociendo la cantidad de agua residual sintética necesaria para el suministro en las celdas

Tabla 3- 2: PROYECCIONES UTILIZADAS PARA LA CONFIGURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Volumen experimental pre ensayo (ml)	VPS (ml)	VPSS (ml)	TPS(minutos)
250	12,043	7,543	4,37
VIPT (ml)	94	N.A	4,37
3455			

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Donde:

VPS= Volumen Promedio de Saturación

VPSS= Volumen Promedio de Sobresaturación

TPS= Tiempo promedio de suministro

VIPT= Volumen de interés de proyecto de tesis

La Tabla 3-2 señala los valores promedio obtenidos en el pre ensayo así como las proyecciones de interés de la investigación. De esta manera se conoció que a cada celda se tenía que incorporar 94ml de agua residual sintética para su intervención directa cada 24 horas.

3.1.2. Caracterización Física Química del Suelo “Pichan Central”

La caracterización física química del suelo objeto de nuestro estudio; se encargó del análisis el Departamento de Suelos de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo representando un análisis de Materia Orgánica, PH y los cationes correspondientes que fueron interpretados en conjunto. Es así que se obtuvo

un 2% de M.O en profundidades en donde ya casi desaparecería en otros suelos, según el caso, Un NH_4 bajo que indica que si no lo fuera este pudiera competir con otros cationes tornando precario el desarrollo vegetal, limitando la acción del grupo de bacterias; Valores altos de fósforo garantizó una buena asimilación, concordando en similaridad con la capacidad de intercambio catiónico del potasio.

3.1.3 Caracterización de DBO de aguas residuales sintéticas

Se identificaron dos tipos de muestra de marcas comerciales diferentes de arroz con el objetivo de tener una gama de concentraciones distintas, se procedió a dar la siguiente simbología. (Ver Tabla 3-3)

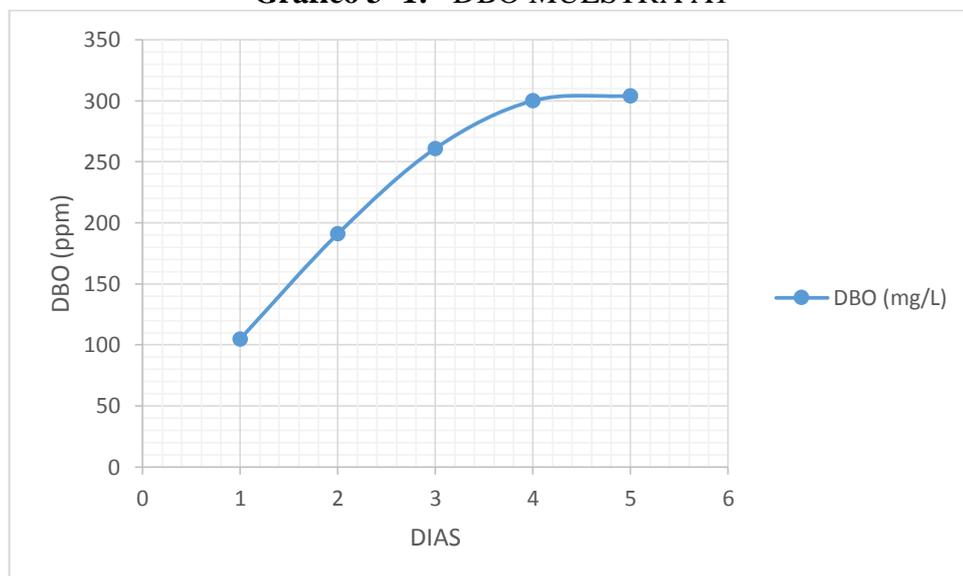
Tabla 3- 3: MARCA DE ARROZ UTILIZADO PARA LA INVESTIGACIÓN

SIMBOLO	MARCA DE ARROZ
A1	“El costeñito”
G1	“Conejo Viejo”

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Los resultados de la demanda bioquímica de oxígeno que representa la marca A1 se muestra en el Gráfico 3-1

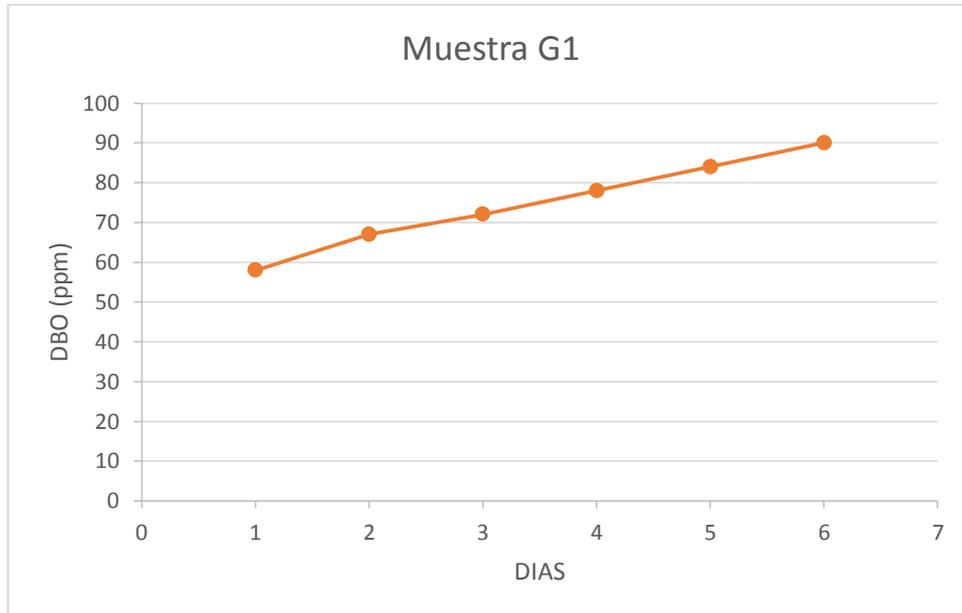
Gráfico 3- 1: DBO MUESTRA A1



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

La muestra A1 presenta concentraciones diarias durante cinco días con un valor inicial de 105 ppm y una concentración 304 ppm que representa el valor de la DBO5.

Gráfico 3- 2: GRÁFICO 2. DBO MUESTRA G1



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

El Gráfico 3-2 representa a la muestra G1 con concentraciones iniciales de 58 a 90 ppm. La muestra G1 presentó rangos bajos de DBO; se suministró en las celdas 1 y 2 mientras que la muestra A1 presentó rangos de DBO altos; se eligió como objeto de suministro en la celda 3.

3.1.4 Recuento inicial microbiológico

El conteo microbiológico inicial estaba sujeto al número de colonias presentes desde las diluciones seriadas hasta 10^{-6} para cada una de las celdas como se puede observar en las Tablas 3-4, 3-5, 3-6; y 3-7. Los resultados que se muestran difieren de la cantidad de poblaciones presentes y contables para todos los casos, este conteo inicial es producto del

cultivo realizado con la muestra del suelo; sin haber suministrado de agua residual sintética.

Tabla 3- 4: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1 ANTES DEL SUMINISTRO

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	21	color crema, redondas, pequeñas de un ϕ de 5mm
10 ⁻²	36	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	5	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	2	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁵	33	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁶	5	color crema, redonda, pequeñas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 5: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2 ANTES DEL SUMINISTRO

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	10	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻²	17	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻³	5	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	5	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	3	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁶	5	color crema, redondas, pequeñas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 6: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3 ANTES DEL SUMINISTRO

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	4	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	5	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	1	color crema, redondas, pequeña

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 7: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 ANTES DEL SUMINISTRO

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	82	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻²	49	color crema, redondas, pequeña de menor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻³	10	color crema, redondas, pequeñas de un ϕ de 5mm
10 ⁻⁴	5	color crema, redondas, muy pequeña
10 ⁻⁵	3	color crema, redonda, de tamaño variado

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Los microorganismos durante las 24 h no asimilan el agua residual sintética presente en el nuevo ambiente, contenida en la celda de combustible microbiano

3.1.4.1 *Conteo a las 72 horas*

En las Tablas 3-8, 3-9, 3-10, 3-11 representa el conteo de las UFC después de un lapso de 72 horas de haber realizado los suministros de agua residual sintética

Tabla 3- 8: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1 DESPUÉS DE 72 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	82	color crema, redonda, tamaño grande y unidas
10 ⁻²	49	color crema, redonda, tamaño grande y unidas
10 ⁻³	10	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁴	5	color crema, redonda, de tamaño variado una muy grande
10 ⁻⁵	3	color crema, redonda, de tamaño variado dos muy grandes
10 ⁻⁶	5	color crema, redonda, de tamaño variado una muy grande

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

Tabla 3- 9: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2 DESPUÉS DE 72 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	10	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻²	17	Están muy unidas
10 ⁻³	5	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	2	color crema, redondas, dos se ven claramente, las demás están unidas
10 ⁻⁵	4	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	10	color crema, redondas, pequeña pero de mayor tamaño que la dilución anterior

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 10: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3 DESPUÉS DE 72 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	190	color crema, redondas, pequeñas y están unidas
10 ⁻⁵	75	color crema, redonda, de tamaño variado y están unidas
10 ⁻⁶	71	color crema y amarillo, redondas, pequeñas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 11: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 DESPUÉS DE 72 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	3	color crema y amarillo, redondas, de tamaño variado
10 ⁻²	2	color crema, redondas, pequeñas, 4 amarillas
10 ⁻³	5	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	1	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁵	33	color crema, redondas, pequeñas y están unidas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

En cada una de las Tablas (Ver tablas 3-8, 3-9, 3-10, 3-11) se observa que la cantidad de colonias aumentan debido a que los microorganismos ya se adaptaron; no obstante así a las 24 horas; y empiezan a adaptarse al nuevo sustrato; consecuentemente la cantidad de energía aumentaba en el momento; excepto la Celda 4 considerada grupo control.

3.1.4.2 Conteo a las 144 horas

En las Tablas 3-12, 3-13, 3-14, y 3-15 representa un conteo de las colonias bacterianas transcurridas 144 horas para conocer si la población microbiana aumenta o disminuye, pero la población microbiana en cada una de las celdas crecen rápidamente, pero en la celda tres (C3) las UFC son incontables, se asume a la fase exponencial en la cual en condiciones adecuadas la población se duplica. (Ver Anexo H)

Tabla 3- 12: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C1
DESPUÉS DE 144 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	?	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁵	240	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁶	120	color crema, redondas, pequeñas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 13: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C2
DESPUÉS DE 144 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁷	120	color crema, redondas, pequeñas y están muy unidas
10 ⁻⁸	68	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁹	27	color crema, redondas, pequeñas y están muy unidas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Tabla 3- 14: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C3
DESPUÉS DE 144 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁵	?	no hay como contar, son muchos son muy pequeñas y están muy unidas
10 ⁻⁶	300	no hay como contar, son muchos son muy pequeñas y están muy unidas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

TABLA 3- 15: CONTEO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA CELDA C4 DESPUÉS DE 144 h

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10⁻⁷	?	no hay como contar, son muchos son muy pequeñas y están muy unidas
10⁻⁸	180	no hay como contar, son muchos son muy pequeñas y están muy unidas

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

La población microbiana del suelo de páramo luego de entrar en contacto con el nuevo ambiente y el agua residual sintética disminuye el crecimiento de colonias bacterianas debido a la fase de latencia, luego de 72 h la cantidad de colonias muestra un incremento notorio (Ver Tablas 3-6, 3-14) entrando a la fase exponencial, conforme transcurría el tiempo aumentaba; de manera que se tuvo que aumentar diluciones para algunos casos como lo fueron: Celda 2; diluciones: 10⁻⁷; 10⁻⁸; y 10⁻⁹ y únicamente realizar un conteo a partir de las diluciones de 10⁻⁴; 10⁻⁵; y 10⁻⁶ para la celda 3 (Ver Tabla 3-10). Para la celda 1 y 4 aún se podía apreciar en diluciones menores (Ver Tablas 3-7, 3-11) se observa que la cantidad de energía es proporcional a las unidades formadoras de colonias; ya que en los cultivos de la celda 3 (Tabla 3-6) las colonias fueron incontables y la cantidad de bioelectricidad fue mayor respecto a las otras, por tal motivo se asume que el suelo posee buena capacidad oxido reductiva.

3.1.5 Producción de bioelectricidad

Se realizó un registro manual por medio de un multímetro, de la energía generada en cada una de las celdas para respaldar los datos obtenidos a partir del sensor utilizado; la tabla 3-16 muestra los datos de máximos, promedios y mínimos con relación a las concentraciones antes del suministro de agua residual sintética.

Tabla 3- 16: VALORES PROMEDIOS /ANTES DEL SUMINISTRO DE LAS CELDAS

VALORES – ANTES DEL SUMINISTRO	10 PPM	75 PPM	175 PPM	GRUPO CONTROL
	C1 (mv)	C2 (mv)	C3 (mv)	C4
PROMEDIOS	29,3	99,2	122,4	22,5
MAXIMOS	29,3	99,2	122,4	22,5
MINIMOS	29,3	99,2	122,4	22,5

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

La Tabla 3-17 muestra los datos obtenidos por el multímetro de máximos, promedios y mínimos con relación a las concentraciones después del suministro de agua residual sintética.

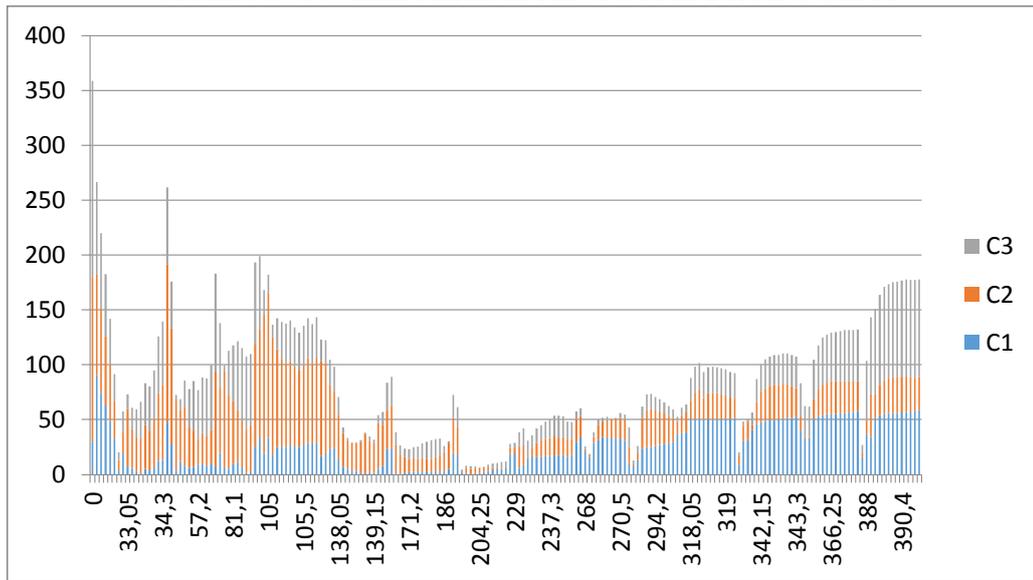
Tabla 3- 17: VALORES PROMEDIOS /DESPUÉS DEL SUMINISTRO DE LAS CELDAS

VALORES - DESPUES	10 PPM	75 PPM	175 PPM	GRUPO CONTROL
	C1 (mv)	C2 (mv)	C3 (mv)	C4
PROMEDIOS	25,7	33,16	27,9	24,64
MAXIMOS	90,7	149,5	179,6	95,7
MINIMOS	0,3	0,2	0,3	2,1

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

Los datos máximos y mínimos apreciamos una relación directa con la concentración del contaminante; es decir a mayor carga de contaminante mayor generación de electricidad momentánea y directa como se observa en el Grafico 3-3.

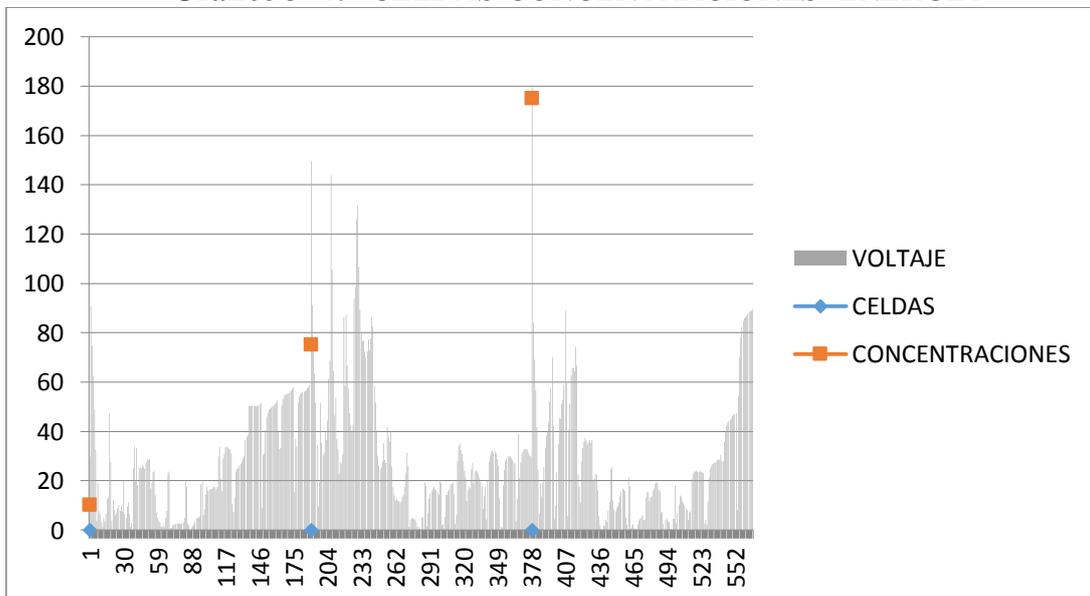
Gráfico 3- 3: ELECTRICIDAD TOTAL PRODUCIDA



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

El Gráfico 3-3, representa la cantidad de energía en relación a la concentración de la DBO contenida en las diferentes celdas, en un período de tiempo; se observa que en la celda tres (C3), la misma que recibía la concentración mayor de DBO presenta picos por encima de la celda uno (C1) y dos (C2) donde se suministraron cargas de aguas inferiores.

Gráfico 3- 4: CELDAS-CONCENTRACIONES- ENERGÍA



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

El Gráfico 3-4, representa el voltaje en relación a las celdas, las cuales tienen diferentes concentraciones, la cantidad de energía fluctúa y aumenta con relación al tiempo,

Es así que en las investigaciones realizadas por Logroño. G (2014), y Ramírez. G., & Armas. P. (2014), en donde utilizaron sustratos orgánicos como requerimiento nutricional obtuvieron mayores cantidades de voltaje promedio que abarcaban desde 474mV hasta 110,2mV respectivamente, mientras que el registro promedio más alto es 28 mV; debido a que la configuración CCMs en este caso fue distinta

3.1.6 Discusión de Resultados

Tres concentraciones diferentes fueron probadas; después de suministrar la muestra el agua residual sintética era sustituida por una nueva cada 24 horas, la energía eléctrica aumentaba muy rápidamente y alcanzó el valor máximo proporcional a la concentración más alta; los valores máximos se mantuvieron por un lapso de 90 minutos. Durante el tiempo de la investigación las fases de crecimiento microbiano son evidentes, la adaptación cuando las colonias microbianas disminuyeron su crecimiento, la fase exponencial cuando duplicaron el número aprovechando los nutrientes suministrados, siendo incontables las colonias, y la fase estacionaria en el cual se mantuvo estable la cantidad de colonias.

La presente investigación no está centrada en producir mayor cantidad de energía; sin embargo; sí al aprovechamiento de cargas orgánicas presentes en las aguas potencialmente contaminantes para que sean tratadas. Cuando las concentraciones de la muestra de DBO fue superior a 200ppm; la corriente máxima mostró casi el mismo valor de 179 mV; valores inferiores a 10 ppm, la corriente fue menor pero proporcional a la concentración dada. A las 144 horas aumentó significativamente la cantidad de energía con respecto a la energía obtenida en las primeras horas de la instalación, una de las opciones hipotéticas puede ser debido a que correspondería a un periodo de adaptación de los microorganismos en su nuevo ambiente.

En publicaciones como Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell; realizado por Kim. B., et al. (2003); Suministraron agua de la

misma manera con un tiempo de respuesta por concentraciones mínimas de 30 minutos y concentraciones mayores en 20 horas; existiendo una relación con nuestra investigación por el uso de iguales concentraciones como suministros; sin embargo los tiempos de respuesta de nuestras celdas fueron inmediatas alcanzando sus valores máximos en 62 minutos para una concentración alta de igual manera de 200ppm. Los datos difieren a razón probablemente a que el consorcio bacteriano fue diferente en ambas investigaciones; de esta manera se aprovecha las propiedades degradativas de las CCMs. Kim. B., et al. (2003) determinó la carga en coulomb, la cual estudia la interacción entre cuerpos cargados eléctricamente, midiendo un valor de 27 C en cinco años, mientras que con nuestra investigación se obtuvo 0,018 C en dos semanas (Ver anexo K), este flujo puede ser aprovechado utilizando capacitores eléctricos, en cuanto mayor sea el campo mayor será la corriente captada.

Al relacionar las concentraciones de DBO; una concentración de suministro alta con una baja; decimos que el rendimiento de una CCMs se aumenta en un 80% de su capacidad inicial; es decir una DBO de 200 mg/L generará mayor bioelectricidad en un tiempo de respuesta de 62 minutos.

3.2. Prueba de Hipótesis

3.2.1 Hipótesis Estadística Causal Bivariada

Relación entre una variable independiente (Materia Orgánica) con respecto a una variable dependiente (cantidad de energía producida)

$$H_0: \delta CMO = \delta C_{ep}$$

$$H_a: \delta CMO \neq \delta C_{ep}$$

La hipótesis planteada nula nos menciona que las varianzas de los niveles totales de concentración son iguales a los niveles de producción de bioelectricidad; mientras que la hipótesis alterna nos dice todo lo contrario. De esa manera sabremos estadísticamente si existe una correlación entre las variables planteadas.

3.2.1.1 Análisis de normalidad

El análisis de normalidad nos permitió escoger el test que nos ayudaría a la interpretación de resultados

Ho: Los datos siguen distribución normal

H1: Los datos no siguen distribución normal

Nivel de significancia “ α ”= 0.05

A través del análisis del test de normalidad de shapiro nos proyectó un p-value de 2.2e-16; siendo inferior al nivel de significancia de 0,05; es decir rechazamos la hipótesis nula Ho y aceptamos la H1; indicándonos que los datos de las celdas no siguen una distribución normal al 95 % de confiabilidad.

3.2.1.2 Análisis de homocedasticidad

El análisis de homocedasticidad corrobora con el análisis de normalidad para de esa manera optar por elegir un test ideal y acorde para la interpretación de nuestra comprobación de hipótesis

Mediante el test de Bartlett a un nivel de significancia de 0,05%; el resultado nos dio el siguiente: p-value = 8.069e-06; de igual manera el valor es inferior al de significancia dándonos como resultado que el test a elegir sería un test no paramétrico por el hecho de cómo se distribuyen los datos.

3.2.1.3 Prueba de Kruskal- Wallis

Este test nos sirve para la comprobación de dos variables directas que en este caso sería la concentración de la materia orgánica con respecto a la cantidad de energía producida siempre y cuando se trate de un test no paramétrico.

Ho: $\delta CMO = \delta Cep$ Los niveles de concentración no son diferentes a la producción de bioelectricidad total

Ha: $\delta\text{CMO} \neq \delta\text{Cep}$ Los niveles de concentración son diferentes a la producción de bioelectricidad total

Nivel de significancia “ α ”= 0.05

Confiabilidad=95%

El p-value = 0.02002 mediante el test de Kruskal nos dice que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna; indicándonos que los niveles de concentración si afecta directamente a la producción de bioelectricidad total.

3.2.1.4 Comparación entre variables

La tabla 3-18 muestra los valores de las medias y desviaciones en cada celda.

Tabla 3- 18: COMPARACIÓN MEDIAS-DESVIACIONES

Celdas	Medias	Desviaciones	Coefficiente de Correlación
C1	25,7	19,84	0,89853739
C2	33,2	27,91	
C3	27,3	26,46	

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

3.2.1.5 Comparación entre medias

Al aplicar un test de “Tukey Contrasts” para la representación de contrastes entre celdas obtuvimos lo siguiente:

C1 C2 C3

"a" "b" "ab"

Como se aprecia las 3 celdas representan diferencias entre ellas; siendo la celda tres “C3” una representación de las otras dos; la celda 3 recibía una concentración mayor a las

antecesoras; demostrándose una vez más el comportamiento proporcional hacia las concentraciones de los suministros recibidos.

2.3. Presentación de resultados

Para determinar la cantidad de energía eléctrica generada (Voltaje) en las celdas de combustible microbiano se tabuló y analizo los datos de la Tabla 3-19. En cuestión la intensidad está planteada en un antes y en un después del suministro (Ver Anexo I y J)

Tabla 3- 19: VALORES DE PRODUCCIÓN DE ENERGÍA NETA DURANTE EL TRANSCURSO DEL EXPERIMENTO

TIEMPO Horas	C1 (mv)	C2 (mv)	C3 (mv)	C4 (mv)
0	29,8	149,5	179,6	22,9
9,05	90,7	91,4	84,5	80,8
9,1	74,6	76,3	69,1	66,1
9,15	62,6	63,4	56,8	53,3
9,2	48,7	51,5	41,6	37,5
10	32,7	34,3	24,5	19,9
24	3,8	9,6	6,8	3,6
33	19,2	19,4	19,1	19
33,05	7,6	51,7	13,7	12,5
33,1	6,3	35,4	19,1	20,8
33,15	3,3	30,5	25,5	25,4
33,25	1,3	31,3	33,5	35,7
33,3	5	39,9	38,5	40
33,4	3,5	36,5	40,2	42,9
33,5	6,5	44,5	43,6	45,3
34	12,6	61,2	52,1	54,8
34,3	13,2	68,7	57,6	61,2
48	47,4	144	70,2	75,4
49	27,6	105,6	42,4	46,7
55	3,8	64,5	4,3	3,2
57	12,3	46,5	10	8,6
57,05	8,2	53,8	23,4	26,8
57,1	6	37	34,7	39
57,15	7	32,8	45,4	51,4
57,2	8,9	22,7	45,1	48
57,3	10,1	27,6	51	56,5
57,4	7,8	27	52,6	57

58,3	10	30,7	59	64
72	7,6	86,4	89	95,7
73	19,8	58,6	59,6	67
81	6,5	87,4	5,6	2,1
81,05	5,1	66,8	40,8	56,8
81,1	9,6	57,1	51,1	63,2
81,15	11,2	47,6	62,5	76,7
81,2	6,8	42,5	65,7	78,8
81,3	1,4	40	65,8	81,8
81,4	2,9	42,7	64,3	81,3
96	25,3	93,8	74,2	82,5
97	33,8	98,7	66,7	77,6
103	19,7	126,1	22,5	28,2
105	33,2	131,6	17,4	25,2
105,05	18,3	106,7	11,3	28,4
105,1	25,1	89,3	27,8	44,3
105,15	25,4	80,1	33,3	49,4
105,2	25,1	76,7	35,8	52,1
105,25	26,3	76,8	37,4	53,4
105,3	25,6	72,4	36,2	52,2
105,4	24,9	69,7	34,8	52,2
105,5	27,4	72,5	35,6	54,9
106	28,8	77,2	36,5	56,2
106,15	28,6	72,9	35,4	54,7
106,3	29	77,7	36,5	57,2
120	16,8	86,1	20,3	15,1
130	19,2	82,4	20,7	17,3
136	23,5	58,2	22,7	20,7
138	24	51,6	22,4	21,5
138,05	14	40,4	16,1	3,5
138,1	7,2	30,2	5,7	8,8
138,15	4,9	26,2	1,9	15,8
138,2	3,8	24,9	0,4	19,4
138,25	3,1	25,7	0,3	20,4
138,4	1,5	27,8	2	18,7
138,5	1,4	35,3	1,5	20,7
139	2,2	28,6	4,1	17,1
139,15	1,4	27,2	3,3	16
153	4,9	41,7	7,7	3,1
163	7,8	37,6	11,4	6,4
169	23,2	35,8	24,5	21,2
171	23,8	39,7	25,5	21,6
171,05	0,9	25,6	11,9	5,7
171,1	0,9	17,5	8,2	11,1

171,15	1,9	14,1	7,6	14,9
171,2	2	12,2	9	15,6
171,25	2,4	12,8	9,7	15,6
171,3	2,6	11,8	11,3	15,5
171,4	2,9	11,7	13,6	14,3
171,5	2,6	11,3	15,8	12,6
172	2,7	11,5	16,9	11,5
172,15	2,6	13,3	16,5	10,8
172,3	2,8	14,4	15,7	10,3
186	3,2	17,5	5,1	5,8
196	5	23,3	2,1	7,8
202	19,8	31,3	21,3	18,3
204	17,4	26	17,8	14,3
204,05	2,7	1,4	0,6	8,6
204,1	1,9	4,3	1,7	12,1
204,15	0,3	4,7	2,5	14,7
204,2	1,1	5,1	1,1	14,9
204,25	1,6	4,3	0,5	14,9
204,3	2,1	4,4	0,4	15,1
204,4	3,4	3,3	2,5	14,5
204,5	4,7	1,3	4	15,2
205	4,7	1,1	4,5	44,7
205,15	5,3	0,6	5,3	14,3
205,3	5,6	0,2	6	14,1
219	18,6	5,3	4,1	19,9
229	19,4	5,3	4,2	20,5
235	6,1	19,3	13,2	4,6
237	8,6	17,7	15,5	6,9
237,05	14,4	1,5	15,1	19,7
237,1	17,4	6,9	11,6	23,8
237,15	16	12,7	13,1	24,2
237,2	16,4	14,7	13,6	26,1
237,25	16,7	15,7	15,8	25,2
237,3	16,6	16,8	16,8	25,5
237,4	17	17,6	18,9	24,5
237,5	17,5	16,4	19,5	24,9
238	17,6	16,4	19	24,1
238,15	16,4	15,6	16,4	22,6
238,3	17,7	14,5	15,8	22,7
252	29,9	20,3	7,1	33,8
262	33,9	19	7,3	37,8
268	20,9	2	2,4	21,7
270	15,7	2,4	0,3	16,6
270,05	29	5,4	4,2	30,8

270,1	31,2	14,3	4,7	33,2
270,15	34	14,2	3,5	35,8
270,2	33,7	15,7	3,3	36,4
270,3	33,5	16,5	0,5	35,7
270,4	32,9	18,5	0,5	35,7
270,5	32,9	18,5	4,5	35,3
271	31	19,3	4,5	35,1
285	10,5	14,4	18,2	4,3
292	7,4	2,5	2,9	3,1
294	13,2	6	6,9	4,6
294,05	23,7	27,8	10,3	4,9
294,1	24,8	34,1	14,1	4,9
294,15	25	35,1	13,6	3,3
294,2	26,1	32,5	11,9	4,9
294,25	26,7	30,8	11	5,1
294,3	27,8	27,9	9,9	5,2
295	28,9	24,3	8,9	5,3
295,15	30	21,3	8,1	5,4
309	36,6	12	4,1	15,6
316	37,8	16,3	7	15,2
318	38,7	17,7	7,6	14,7
318,05	50,3	16,8	20,7	14,7
318,1	50,4	24,6	23	14,6
318,15	50,5	27,2	23,8	14,6
318,2	50,4	19,1	23,7	14,5
318,25	50,3	23,7	23,9	14,5
318,3	50,3	24,3	23,8	14,4
318,4	50,2	23,7	23,6	14,3
318,5	50,4	22,6	23,9	14,3
319	50,6	21,4	23,6	14,3
319,15	50,9	19,4	23,3	14,3
319,3	51,6	17,7	23,2	14,4
333	9	8,6	2,7	22,3
340	30,4	13,9	4,1	20,6
342	31,2	17,6	2,1	20,7
342,05	40,6	4,4	11,6	20,3
342,1	45,9	20	21,4	20,6
342,15	47,8	27,6	25,1	20,4
342,2	48,8	30,2	26,1	20,4
342,25	49,2	31,5	26,7	20,2
342,3	49,7	32,2	27,2	20,2
342,4	50,3	31,4	27,3	20
342,5	50,6	31,9	27,9	19,8
343	51,1	31	28,2	19,8

343,15	51,7	28,7	28,7	19,6
343,3	52,6	26,1	28,5	19,7
357	40	12,9	30,4	13,3
364	32,9	1,4	27,9	16
366	33,2	0,9	27,8	15,9
366,05	50,6	18,2	35,9	15,8
366,1	53,1	24,5	40	15,7
366,15	54,3	28	42,4	15,7
366,2	54,9	29	43,6	15,6
366,25	55,2	29,7	44,2	15,6
366,3	55,3	29,8	44,7	15,6
366,4	55,5	29,8	45,4	15,6
366,5	56,1	29,2	46,3	15,7
367	56,5	28,4	46,7	15,6
367,15	57,1	27,4	47	15,6
367,3	57,9	27	47,5	15,6
381	15,6	3,5	8	19,4
388	36,9	12,6	54,3	3,5
390	34,2	39	70	4,2
390,05	51,6	21,2	78,1	4,3
390,1	54,1	27,5	82,2	4,2
390,15	55,3	31	84,6	4,2
390,2	55,8	32	85,8	4,1
390,25	56,1	32,8	86,4	4,1
390,3	56,2	32,9	86,9	4,1
390,4	56,4	32,9	87,6	4,1
390,5	57	32,3	88,5	4,2
391	57,4	31,1	88,9	4,1
391,15	58	30,1	89	4,1
391,3	58,8	29,7	89,5	4,1

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

En la Tabla 3-19 se muestran todos los valores obtenidos con el sensor de voltaje electrónico cada 5 minutos después de suministrar la carga orgánica para cada celda.

CONCLUSIONES

- El sector de muestreo de la zona de Paramo Pichan-Central constituye un suelo idóneo para retener sales fertilizantes; representado así en sus características Físico-químicas; es así que el porcentaje de materia orgánica (M.O) se encuentra presente aún en profundidades de 40cm, siendo este del 2%
- La construcción y diseño de las CCMs resulto ser un sistema simple pero con un gran potencial; utilizando agua residual sintética como suministro para generar energía alternativa; acorde a las capacidades económicas y tecnológicas del medio.
- Se construyeron tres celdas de combustible microbiano, suministrando a cada una concentraciones diferentes de carga orgánica, midiendo su comportamiento cada 5 minutos; el tiempo de respuesta de cada celda estaba sujeta a la carga orgánica proporcionada. La CCM3 presentaba un promedio de generación máximo antes de los 62 min, mientras que la CCM1 difería en generar su máximo en 78 min promedio.
- En momentos de suministro los parámetros electroquímicos presentaban picos altos en intervalos de tiempo pequeños; sugiriendo que los resultados pueden ser utilizados como biosensores en el comportamiento de la DBO para este rango de concentraciones.

RECOMENDACIONES

- Buscar alternativas al momento de utilizar sensores para captación y almacenamiento de datos; que no ocasionen pérdida de registro e interpretación
- Controlar las variables necesarias para un desempeño eficiente de las celdas; como son temperatura, PH, Humedad, configuración y separación de los compartimentos anódicos.
- Caracterizar las poblaciones microbianas a partir de técnicas moleculares; obteniendo un consorcio o inóculo puro y de mejor desempeño, identificando específicamente a las bacterias que cumplen este rol.
- Las celdas trabajan mejor con aguas residuales con buena carga orgánica, la cual se recomienda adecuarlo para utilizarlo como sensor de DBO

BIBLIOGRAFÍA

AELTERMAN, Peter., etal. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*. Alemania. Vol. 40. 2006, pp.3388 – 3394.

ABREVAYA, Ximena., etal. Archaea-based microbial fuel cell operating at high ionic strength conditions, *Extremophiles*. Argentina. Vol.15. 2011, pp. 633-642.

ARMAS C., Patricia A., & RAMÍREZ Y., Geovany G. Generación de electricidad microbiana con Diferentes matrices orgánicas mediante celdas de combustibles. (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2014, pp. 20-47

BENETTON, Xochitl., etal. Electrochemical evaluation of Ti/TiO₂-polyaniline anodes for microbial fuel cells using hypersaline microbial consortia for synthetic-wastewater treatment. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*. Francia. Vol. 13. 2010, pp. 1-6.

BOROLE, Abhijeet., & etal. Improving power production from acetate-fed microbial fuel cells via enrichment of exoelectrogenic organisms in continuous flow systems. *Biochemical Engineering Journal*. Estados Unidos. Vol. 6. 2009, pp. 71-80.

BUITRÓN G., PÉREZ J. Combustible microbiano. 2.ed. Santo Domingo-República Dominicana. Seventh. 2011, pp. 136-143
http://www.uasd.edu.do/files/anuario_vipg_2012_full.pdf
2014/12/23

BULLEN, R., & etal. Walsh, Biofuel cells and their development. *Biosensors and Bioelectronics*. Inglaterra. Vol. 21, No. 11. 2006, pp. 2015-2045.

CUNALATA Cristian., etal. Determinación de carbono orgánico total presente en el suelo y la biomasa de los páramos de las comunidades de Chimborazo y Shobol Llinllin

en Ecuador. Boletín del Grupo Español del Carbón. Ecuador. Vol.1. No.27. Marzo 2013, pp. 10-13

CHENG, Shaoan., etal. Increased Power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. Env. Sci. Technol. Estados Unidos. Vol. 40. No. 7 2006, pp. 2426-2432.

DU, Z., etal. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. Biotechnology Advances. Vol. 25. No. 5. 2007, pp. 464-482.

ECUADOR. Constitución Política del Ecuador; T. U. Título VII (régimen del buen vivir). Capítulo segundo (Biodiversidad y recursos naturales).Sección séptima (Biosfera, ecología urbana y energías alternativas). Quito-Ecuador. 2013, pp. 159

FENG, Chunhua., etal.A dual-chamber microbial fuel cell with conductive film-modified anode and cathode and its application for the neutral electro-Fenton process. Journal of Power Sources. China. Vol.6. 2010, pp. 2048-2054.

FENG, Yujie., etal. Brewery wastewater treatment using aircathode microbial fuel cells. Environmental Biotechnology. China. Vol. 78. No. 5. 2008, pp. 873 – 880.

FITZGERALD, Lisa., etal.Shewanella frigidimarina microbial fuel cells and the influence of divalent cations on current output. Biosensors and Bioelectronics. Estados Unidos. Vol. 40. No.1. 2013, pp.102-109.

GONZÁLEZ, Irene. Fuentes alternativas para sustituir a los combustibles fósiles. España. 2010.

<http://blogbis-cmc.blogspot.com/2010/03/615-que-fuentes-alternativas-podrian.html>

2014/12/18

GERTEISEN, Dietmar., etal. AC impedance modelling study on porous electrodes of proton exchange membrane fuel cells using an agglomerate model. Journal of Power Sources. Alemania. Vo. 1. 2007, pp. 346 – 356.

HE, Z., et al. Increased power production from a sediment microbial fuel cell with a rotating cathode. *Biosensors and Bioelectronics*. Vol. 22. 2007, pp. 3252-3255.

HOLMES, Dawn., et al. Microarray and genetic analysis of electron transfer to electrodes in *Geobacter sulfurreducens*. *Environmental Microbiology*. Chile. Vol. 8, No. 10. 2006, pp. 1805-1815.

HAYAKAWA, Atsush., et al. Evaluating stream water quality through land use analysis in two grassland catchments: impact of wetlands on stream nitrogen concentration. *Ecological Engineering*. Japón. Vol.35. No. 2. 2006, pp. 617–627.

HUANG, Yuelong., et al. Performance of microbial fuel cells with and without Nafion solution as cathode binding agent. *Bioelectrochemistry*. Estados Unidos. Vol. 79, No. 2. 2010, pp. 261–264.

JONG, Bor. Enrichment, performance, and microbial diversity of a thermophilic mediatorless microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol. Malasia*. Vol.40. 2006, pp. 6449-6454.

JUN, Sun., et al. Genome-scale constrainbased modeling of *Geobacter Metallireducens*. *Applied and environmental microbiology*. Estados Unidos. Vol.3. No. 15. 2009, pp. 1-44.

LI, Jie., et al. Electricity generation by two types of microbial fuel cells using nitrobenzene as the anodic or cathodic reactants. *Bioresource Technology*. Japón. Vol. 101. No. 11. 2010, pp. 4013-4020.

LIN.Bin., et al. *Geobacteraceae* Community Composition Is Related to Hydrochemistry and Biodegradation in an Iron-Reducing Aquifer Polluted by a Neighboring Landfill. *Applied And Environmental Microbiology*. Bélgica. Vol. 71, No. 10. 2005, pp. 5983-5991.

LOGAN, B., & REGAN, J. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells, *Trends in Microbiology*. Vol. 14, No. 12. December 2006, pp. 512-518.

LOVLEY, Derek. The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Estados Unidos. Vol.19. No.6. 2008, pp. 564-571.

LOVLEY, Derek. Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. *Environmental Microbiology Reports*. Estados Unidos. Vo. 3, No. 1. February 2011, pp. 27-35.

LOGROÑO V., Washington N. Producción de Bioelectricidad Microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: Andes- Amazonia. (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2014, pp.22-140

LIU, Zhang. Study of operational performance and electrical response on mediator-less microbial fuel cells fed with carbon- and protein-rich substrates. *Biochemical Engineering Journal*. Suecia. Vol.45, No.3. 2009, pp. 185–191.

MÉTADIER, M., & BERTRAND, J. Assessing dry weather flow contribution in TSS and COD storm event loads in combined sewer systems. *Water Science and Technology*. Vol. 63. No. 12. 2011, pp. 2983-2991.

MARINUS, Martín., etal. Anode Biofilm Transcriptomics Reveals Outer Surface Components Essential for High Density Current Production in *Geobacter sulfurreducens* Fuel Cells. *PLoS ONE*. Estados Unidos. Vol. 4. 2009, pp. 5628.

MIN. Booki., etal. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Research*. Estados Unidos. Vol. 39. No. 9. 2005, pp. 1675 – 1686

MUKTAK, Akujkar., et al. The genome sequence of *Geobacter metallireducens*: features of metabolism, physiology and regulation common and dissimilar to *Geobacter sulfurreducens*. Lawrence Berkeley National Laboratory. Estados Unidos. Vol. 39. 2009, pp. 1677-1685.

NIEVES, José. Bacteria que come electricidad. España. 2014
<http://www.abc.es/ciencia/20140312/abci-descubren-bacteria-come-electricidad-201403121021.html>
2014/12/18

PAGE, Sheng., et al. Test method and equivalent circuit modeling of a PEM fuel cell in a passive state. IEE Transactions on Energy Conversion. China. Vol. 22. 2007, pp. 764-773.

PANT, Deepak., et al. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. Bioresource Technology. Vol. 101. No. 6. 2010, pp. 1533-1543.

PANWAR, N., et al. Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. India. Vol.15. No. 2. 2011, pp. 1513-1524.

PARK, Hyun., & ZEIKUS, Zeikus. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation, Biotechnology and Bioengineering. Estados Unidos. Vol. 81, No. 3. 2003, pp. 348–355.

POGGI, Héctor. Celdas de combustible microbiana. 2. ed. Canadá. Chapter. 2010, pp. 123-129.
<http://www.viviendasustentable.com.mx/archivos/celdas.pdf>
2014/11/23

PRASAD. Divya., et al. Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. Biosensors and Bioelectronics. Vol. 22. 2007, pp. 2604-2610.

RABAEY, Korneel. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. Trends in Biotechnology. Bélgica. Vol. 23, No. 6. 2005, pp. 291-298.

REVELO, Dolly., etal. Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica. La Serena. Colombia. Vol. 24, No.6. Junio 2013, Colombia, pp. 17-28.

RICHTER, Hanno., etal. Electricity Generation by Geobacter sulfurreducens. Attached to Gold Electrodes. Estados Unidos. Vol.24. No. 8. 2008, pp. 4376-4382.

ROSENBAUM, Miriam., etal. Cathodes as electron donors for microbial metabolism. Which extracellular electron transfer mechanisms are involved. Bioresource Technology. Estados Unidos. Vol. 102. No. 1. 2011, pp. 224-233.

SHARMA, Yogesh ., & LI, Baikun. Optimizing energy harvest in wastewater treatment by combining anaerobic hydrogen producing biofermentor (HPB) and microbial fuel cell (MFC), International Journal of Hydrogen Energy. Estados Unidos. Vol. 35, No. 8. 2010, pp. 3789-3797.

SCHRÖDER, Uwe. Discover the possibilities: microbial bioelectrochemical systems and the revival of a 100-year-old discovery. Journal of Solid State Electrochemistry. Alemania. Vol. 15. No. 8. 2011, pp. 1481-1486.

SREBOTNJAK, Tanja., & HARDI, Peter. Prospects for sustainable bioenergy production in selected former communist countries. Ecological Indicators. Bulgaria. Vol.11. No. 5. 2011. pp. 1009-1019.

STUKALOV, Oleg., etal. Use of Atomic Force Microscopy and Transmission Electron Microscopy for Correlative Studies of Bacterial Capsules. Applied and Environmental Microbiology. Canadá. Vol. 74, No. 17. 2008, pp. 5457-5465.

WATANABE, Kazuya. Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy. Journal of Bioscience and Bioengineering. Tokyo. Vol. 106. 2008, pp. 528-536.

YIA, Hana., etal. Selection of a variant of a variant of *Geobacter sulfurreducens* with enhanced capacity for current production in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, Estados Unidos. Vol. 24, No. 12. 2009, pp.3498-3503.

ZHANG, Kun., etal. Continuous electricity production from leachate in a novel upflow air-cathode membrane-free microbial fuel cell. *Bioprocess Biosyst. Eng. China*. Vol. 36. 2008, pp. 399-405.

ANEXOS

ANEXO A. TIPOS DE CULTIVO, PUROS Y CONSORCIOS, Y SUSTRATOS APLICADOS A CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANAS.

Microorganismos	Sustratos
<i>Rhodoferrax ferrireducens</i>	Glucosa, xilosa
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Acetato
<i>Geobacter metallireducens</i>	Acetato
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Lactato, piruvato
<i>Clostridium butyricum</i>	Glucosa, lactato
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa, sacarosa
<i>Bacillus subtilis</i>	Glucosa
<i>Bacillus sp.</i>	Glucosa
<i>Bacillus licheniformis</i> y <i>thermoglucosidasius</i>	Glucosa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Glucosa
Lodo anaerobio	Sacarosa, agua residual
Agua residual	Glucosa
Sedimento marino	Acetato
Inóculo metanogénico	Mezcla de ácidos orgánicos y Solventes
Inóculo sulfato reductor	Mezcla de ácidos orgánicos y Solventes

Fuente: (Solorza, 2010)

**ANEXO B. PRINCIPALES VARIABLES CONSIDERADAS EN CCMS
GENERADORAS DE POTENCIALES REPRESENTATIVOS**

Características de la CCm	Bacterias	Sustrato	Tipo de electrodo	DP (mW/m²)
Cámara doble MIP Nafion 117	Lodo anaeróbico	Acetato	Papel carbón (ánodo), platino (cátodo)	7200
Cámara sencilla sin membrana	Mezcla de bacterias	Acetato, aguas residuales	Fibra de carbono	6860
Cámara doble MIP Ultrex	Lodo metanogénico anaerobio, granular	Glucosa	Varilla de grafito, 5 mm de diámetro	4310
Cámara doble MIP Nafion 117	<i>Geobacter sulfurreducens</i> KN400	Acetato	Varilla de 7.1x10 ⁶ m ² (ánodo), tela de grafito 6.4516 cm ² (cátodo)	3900
Cámara sencilla MIP Nafion 115	Lodo de digestor anaeróbico	Glucosa y acetato	Filtro de carbono suspendido en varilla de grafito	3650
Cámara doble MIP Ultrex	Cultivo mixto	Glucosa	Grafito plano, 50 cm ²	3600

Fuente:(Yong et al., 2012)

ANEXO C. ANÁLISIS DE DBO5 PARA LAS MUESTRAS A1 Y G1 RELACIÓN
1:1 P/V Y 1:2 P/V RESPECTIVAMENTE

ESPOCH

LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS
FACULTAD DE CIENCIAS

Casilla 06-01-4703 Telefax: 2998 200 ext 332 Riobamba - Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS DE AGUAS

Análisis solicitado por: Sr. Alex Guambo
Fecha de Análisis: 23 de septiembre del 2014
Fecha de Entrega de Resultados: 29 de septiembre del 2014
Tipo de muestras: Agua Residual Lavado de arroz
Localidad: Riobamba

Trabajo de Tesis de Grado

Código
LAT/0301-14

Muestra A1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	1520

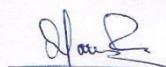
Muestra G1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	3195

*Métodos Normalizados. APHA, AWWA, WPCF 17 ed.

Observaciones:

Atentamente.



Dra. Gina Álvarez R.
RESP. LAB. ANÁLISIS TÉCNICOS

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.

ANEXO D. ANÁLISIS DE DBO5 PARA LAS MUESTRAS A1 Y G1 RELACIÓN
1:3 P/V Y 1:4 P/V RESPECTIVAMENTE

ESPOCH

LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS
FACULTAD DE CIENCIAS

Casilla 06-01-4703 Telefax: 2998 200 ext 332 Riobamba - Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS DE AGUAS

Análisis solicitado por: Sr. Alex Guambo
Fecha de Análisis: 29 de septiembre del 2014
Fecha de Entrega de Resultados: 6 de octubre del 2014
Tipo de muestras: Agua Residual Lavado de arroz
Localidad: Riobamba

Trabajo de Tesis de Grado

Código:
LAT/0330-14

Muestra A1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	836

Muestra G1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	360

*Métodos Normalizados. APHA, AWWA, WPCF 17 ed.

Observaciones:

Atentamente.



Dra. Gina Álvarez R.
RESP. LAB. ANÁLISIS TÉCNICOS

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.

ANEXO E. ANÁLISIS DE DBO5 PARA LAS MUESTRAS A1 Y G1 RELACIÓN
1:5 P/V Y 1:8 P/V RESPECTIVAMENTE

ESPOCH

LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS
FACULTAD DE CIENCIAS

Casilla 06-01-4703

Telefax: 2998 200 ext 332

Riobamba - Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS DE AGUAS

Análisis solicitado por: Sr. Alex Guambo

Fecha de Análisis: 7 de octubre del 2014

Fecha de Entrega de Resultados: 13 de octubre del 2014

Tipo de muestras: Agua Residual Lavado de arroz

Localidad: Riobamba

Trabajo de Tesis de Grado

Código:
LAT/0332-14

Muestra A1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	160

Muestra G1

Determinaciones	Unidades	*Método	Resultados
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	70

*Métodos Normalizados. APHA, AWWA, WPCF 17 ed.

Observaciones:

Atentamente.



Dra. Gina Álvarez R.
RESP. LAB. ANÁLISIS TÉCNICOS

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.

**ANEXO F. TABLA ANÁLISIS DE DBO- LAPSO DE 5 DÍAS DE LA MUESTRA
A1**

DIA	DBO (mg/L)
1	105
2	191
3	261
4	300
5	304

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014).

ANEXO G. TABLA ANÁLISIS DE DBO- LAPSO DE 5 DÍAS DE LA MUESTRA G1

DIA	DBO (mg/L)
1	58
2	67
3	72
4	78
5	84

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

ANEXO H. TABLA DE CONTEO DE UFCs

UFC iniciales	UFC finales
	
	
	
	
	

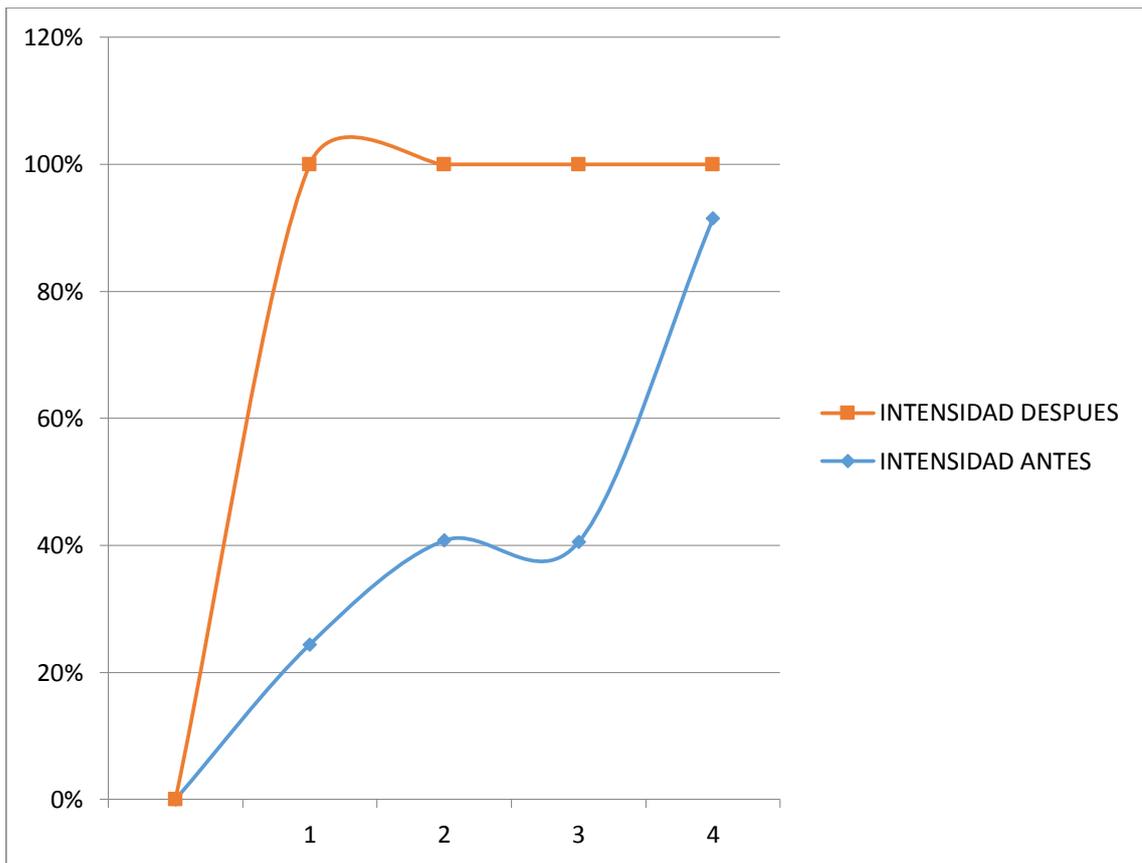
Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

ANEXO I. TABLA DE VALORACIÓN DE INTENSIDADES CCMS

CELDAS	INTENSIDAD ANTES	INTENSIDAD DESPUES
1	2,5478E-07	7,88696E-07
2	1,77E-08	2,57143E-08
3	4,3714E-08	6,41429E-08
4	2,32E-09	2,16495E-10

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

ANEXO J. GRAFICA DE VALORACIÓN DE INTENSIDADES CCMS



Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

ANEXO 1. TABLA DE VALORACIÓN COULOMB VS TIEMPO

TIEMPO segundos	Q1-C1	Q2-C2	Q3-C3
3600	0,00193649	4,0744E-05	0,0000711
12600	0,00224588	8,3569E-05	0,00014049
18000	0,00263495	0,00011547	0,00022622
20400	0,00276364	0,00013667	0,00027625
25800	0,00397811	0,00021311	0,00033948
30300	0,00414985	0,00023688	0,00034578
35700	0,00425358	0,00025058	0,00036966
41100	0,00439616	0,00025327	0,00037476
46500	0,00518033	0,00026631	0,00040555
50100	0,00619068	0,00027615	0,00040968
54600	0,00723253	0,00029963	0,00042732
60000	0,00960554	0,00032072	0,00047229
65400	0,01190342	0,00034658	0,00052115
70800	0,01449243	0,00037296	0,00060595
76200	0,01712498	0,0004022	0,00077207

Fuente: Allauca, G., Guambo, A. (2014)

ANEXO L. DATOS OBTENIDOS POR EL SENSOR ELECTRÓNICO

connection information 2		06/06/2014 01:01:27 p. m.	15	0	112.625	17
C:/Program files (x86)/National Instruments/LabVIEW 2012/		06/06/2014 01:07:00 p. m.	15	0	112.625	17
VISA resource name		06/06/2014 01:12:39 p. m.	15	0	112.625	17
COM3		06/06/2014 01:19:21 p. m.	15	0	112.625	17
Fecha:		06/06/2014 01:23:58 p. m.	15	0	112.625	17
05/5142.28		06/06/2014 01:29:37 p. m.	15	0	15.00714285	4
06/06/2014		06/06/2014 01:35:09 p. m.	18	0	4	17
Interaccion		06/06/2014 01:43:35 p. m.	15	0	4	17.0157142857
20430		06/06/2014 01:49:11 p. m.	18	0	4	18
Nro datos T		06/06/2014 01:51:38 p. m.	18	0	4	18
17		06/06/2014 01:57:18 p. m.	18	0	4	18
Lectura del Serial:		06/06/2014 02:02:55 p. m.	18	0	4	18
Numero:		06/06/2014 02:08:20 p. m.	15	0	4	18
0		06/06/2014 02:13:59 p. m.	18	0	4	18
		06/06/2014 02:19:02 p. m.	18	0	4	18

ANEXO M. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA SUELO PICHAN



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
 FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
 DEPARTAMENTO DE SUELOS



Nombre del Propietario: Alex Guambo

Remite:

Ubicación:

Pichán Central
 Nombre de la granja

Parroquia

Quero
 Cantón

Fecha de ingreso: 24/11/2014
 Fecha de salida: 02/12/2014
 Chimborazo
 Provincia

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELO

Identificación Suelo	pH	% M.O	mg/L			Meq/100g	
			NH4	P	K		
	5,4 L.Ac	2,0 B	9,1 B	40,3 A	0,98 A		

CODIGO	
N: Neutro	A: alto
S: sulfámico	M: medio
L.Ac: Lig. ácido	B: bajo



DIRECTOR DPTO. DE SUELOS
 Ing. José Arceles

Dirección: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur km1 1/2, Facultad de Recursos Naturales, Teléfono 2998220 Extensión 418
 Apoyando a la producción sana, rentable y amigable con la naturaleza

ING. Elizabeth Pachacama

TECNICO DE LABORATORIO