



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MICROBIANA CON
ESTIÉRCOL DE GANADO VACUNO, MEDIANTE CELDAS DE
COMBUSTIBLE MICROBIANO, ESTACIÓN EXPERIMENTAL
TUNSHI ESPOCH”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: SHAWNY CAROLINA RÍOS LARA
TUTORA: DRA. MAGDY ECHEVERRÍA

Riobamba – Ecuador
2016

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El tribunal de trabajo de titulación certifica que: el trabajo de investigación: **GENERACIÓN DE BIOELECTRICIDAD MICROBIANA CON ESTIÉRCOL DE GANADO VACUNO, MEDIANTE CELDAS DE COMBUSTIBLE MICROBIANO, ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI ESPOCH**”, de responsabilidad de la señorita: Shawny Carolina Ríos Lara ha sido prolijamente revisada por los miembros del tribunal de trabajo de titulación. Quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dra. Magdy Echeverría DIRECTORA DE TESIS
Dr. Celso Recalde ASESOR DE TESIS
Dr. Robert Cazar PhD MIEMBRO DEL TRIBUNAL
DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH

Yo, Shawny Carolina Ríos Lara con Cedula No 060389353-8, 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.

Shawny Carolina Ríos Lara

DECLARACION DE AUTENTICIDAD

Yo, Shawny Carolina Ríos Lara, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba 11 de abril de 2016

Shawny Carolina Ríos Lara
060389353-8

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quien supo guiarme por el buen camino dándome fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se me presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi madre, por ser el pilar más importante por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones. Para mi padre, a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre. A mi familia quienes por ellos soy lo que soy, me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

Para mis maestros y amigos, quienes sin su ayuda nunca hubiera podido hacer esta tesis. A todos ellos se los agradezco desde el fondo de mi alma. Para todos ellos hago esta dedicatoria.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por su nivel académico desarrollado en los años de estudios, y especialmente al Centro de Energías Alternativas y ambiente (CEAA), a la Dra. Magdy Echeverría, Dr. Celso Recalde, por su contribución para desarrollar este trabajo fortalecido en amplios conocimientos de investigación.

Mi más sincero agradecimiento Ing. Anita Cunachi, Ing. Alex Guambo, por su incondicional apoyo y amistad durante el desarrollo del trabajo de investigación. A todos mis amigos por su valioso aporte y sincera amistad.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INDICE DE GRAFICOS.....	xi
INDICE DE FOTOGRAFIAS	xii
INDICE DE ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMEN	xvi
SUMARY	xvii
INTRODUCCION	1
CAPITULO I	
1 Marco teórico referencial	5
1.1 Bioenergía	5
1.1.1 <i>Bioenergética microbiana</i>	5
1.1.2 <i>Microorganismos Electrógenicos</i>	6
1.2 Principio de la celda de combustible microbiano:	7
1.2.1 <i>Ánodo:</i>	10
1.2.2 <i>Cátodo:</i>	12
1.2.3 <i>Membrana de intercambio de protones (PEM):</i>	12
1.3 Residuos Orgánicos Biodegradables para una CCMs:	13
1.4 Residuos Agroindustriales:	13
1.5 Aguas Residuales:	15
1.6 Sustratos:.....	16
1.7 Reproducción y crecimiento de las bacterias	17
1.7.1 <i>Abonos Orgánicos:</i>	18
1.7.2 <i>Escherichia coli O157:H7: Un organismo clave en el estiércol de vaca</i>	19
1.7.3 <i>Geobacter como modelo de electrogénesis:</i>	20
1.8 Efecto de las condiciones de sobre las Celdas de Combustible Microbiano (CCMs) 20	
1.9 Transferencia extracelular de electrones.....	21
1.9.1 <i>Transferencia de electrones desde el microorganismo al ánodo</i>	21
1.9.2 <i>Transferencia de electrones desde el cátodo al microorganismo</i>	22
1.10 Campos Magnéticos.....	22
CAPITULO II	

2	METODOLOGIA	24
2.1	Parte Experimental	24
2.1.1	<i>Lugar de estudio:</i>	24
2.2	Métodos:.....	25
2.2.1	<i>Muestreo de Biomasa:</i>	25
2.2.2	<i>Muestreo del agua de lavado:</i>	26
2.2.3	<i>Configuración de las Celdas de Combustible Microbiano (CCMs):</i>	27
2.2.4	<i>Pretratamiento De Las Membranas De Intercambio Catiónico:</i>	29
2.2.5	<i>Campos magnéticos:</i>	30
2.2.6	<i>Materiales Experimentales</i>	39
2.2.7	<i>Materiales De Laboratorio</i>	40
2.3	Planteamiento De La Hipótesis	41
2.3.1	<i>Hipótesis General:</i>	41
CAPITULO III		
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
3.1	Análisis, interpretación y discusión de resultados	43
3.1.1	<i>Análisis de pruebas de ensayo</i>	43
3.1.2	<i>Caracterización Física Química del Estiércol de Ganado Vacuno</i>	44
3.1.3	<i>Recuento Inicial Microbiológico:</i>	44
3.1.4	<i>Recuento final de las comunidades bacterianas</i>	47
3.1.5	<i>Producción de Bioelectricidad</i>	50
3.1.6	<i>Discusión de Resultados:</i>	56
3.2	Prueba De Hipótesis	57
3.2.1	<i>Hipótesis Estadística Causal Multivariada</i>	57
CONCLUSIONES		
		1
RECOMENDACIONES:.....		
		2
BIBLIOGRAFIA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Composición química del estiércol.....	19
Tabla 1-2 Composición química (%) estiércol de vaca.....	19
Tabla 2-1: Cantidad total de estiércol requerido para la instalación de las CCMs	25
Tabla 2-2 Diseño Experimental Global.....	31
Tabla 2-3: Materiales para el muestreo.....	40
Tabla 2-4: Materiales utilizados en el laboratorio.....	40
Tabla 3-1 Diseño experimental global	43
Tabla 3-2: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 24 horas	44
Tabla 3-3: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 24 horas	44
Tabla 3-4: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos) 24 horas	45
Tabla 3-5: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos) 24 horas.....	45
Tabla 3-6: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 72 horas	46
Tabla 3-7: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 72 horas	46
Tabla 3-8: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos) 72 horas	46
Tabla 3-9: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos) 72 horas.....	47
Tabla 3-10: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 24 horas	47
Tabla 3-11: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 24 horas	47
Tabla 3-12: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos) 24 horas	48
Tabla 3-13: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos) 24 horas	48
Tabla 3-14 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 72 horas	49
Tabla 3-15 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 72 horas	49
Tabla 3-16 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos) 72 horas	49
Tabla 3-17 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos) 72 horas	50

Tabla 3-18: Matriz de datos por día	51
Tabla 3-19 Análisis de Significancia De Efectos Inter-Sujetos	52
Tabla 3-20 Análisis de Resultados de Medias por día	52
Tabla 3-21 Análisis De Resultados Comparación de Medias Entre Los Tratamientos	53
Tabla 3-22 Análisis de Resultados de Medias por día y Tratamiento.....	53
Tabla 3-23: Valores Máximos Y mínimos Registrados En Cada Tratamiento.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:1: Principios De Funcionamiento De CCMs (No A Escala).	8
Figura 1:2: Tipos De CCMs Utilizados En Los Estudios	9
Figura 1:3: CCMs Utilizados Para La Operación Continua.....	10
Figura 2:4 Planos de las celdas de combustible microbiano cámara anódica	27
Figura 2:5 Planos de las celdas de combustible microbiano cámara del cátodo	28
Figura 2:6 Planos de las celdas de combustible microbiano vista superficial.....	28
Figura 2:20 Cultivo microbiano en cajas petri con	39

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 3-1 Análisis Electricidad Total Producida Durante 20 Días	57
--	----

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 2-1 Ubicación geográfica de EETE.....	24
Fotografía 2-2 Establo Estación Experimental Tunshi ESPOCH	26
Fotografía 2-3 Recolección de muestras Estación	26
Fotografía 2-4 Pretratamiento de membranas de	29
Fotografía 2-5 Pretratamiento de la membrana de	30
Fotografía 2-6 Esterilización de membranas de fibra	30
Fotografía 2-7 Campos Magnéticos 0,07 Gauss	31
Fotografía 2-8 Campos Magnéticos 0,03 Gauss	32
Fotografía 2-9 Muestra Solida En La Cámara Anódica.....	33
Fotografía 2-10 Muestras Solida En La Cámara Anódica	33
Fotografía 2-11 Ensamblaje de la Celda de Combustible.....	34
Fotografía 2-12 Ensamblaje Total De La Celda.....	34
Fotografía 2-13 Tarjeta De Adquisición de Datos	35
Fotografía 2-14 Instalación Eléctrica de la Celda	35
Fotografía 2-15 Diluciones seriadas.....	37
Fotografía 2-16 Toma de muestras para diluciones	38
Fotografía 2-17 Diluciones para el cultivo.....	38

INDICE DE ANEXOS

Anexos A: Teslámetro

Anexos B: Dispositivo DAQ Multifunción USB-6008

Anexos C: Multímetro Digital Dt830b Silver

Anexos D Oficio Laboratorio De Ciencias Biológicas

Anexos E Recuento Microbiano

Anexos F Matriz De Datos Totales Horas

INDICE DE ABREVIATURAS

MFCs	Microbial Fuel Cell
CCMs	Celdas de Combustible Microbiano
DIET	Direct Interspecies Electron Transfer
M.O	Materia Orgánica
PEM	Membrana de Intercambio de Protones
M.S.N.M	Metros sobre el nivel del mar
mV	milivoltio
CCM	Celda con Campo Magnético
CSM	Celdas Sin Campo Magnético
PLG	Pulgadas
Cm	Centímetros
mm	Milímetros
I	Intensidad de corriente
Mv	Mili voltios
UTM	Universal Transverse Mercator
UFC	Unidades formadoras de colonias

Coulomb	Carga eléctrica
PH	Potencial Hidrogeno
Nafion	Polímero sintético
APHA	Asociación Americana de la Salud Pública
AWWA	American Water Word
Pt	Platino
Fe	Hierro
Cu	Cobre

RESUMEN

Se realizó el estudio de generación de bioelectricidad microbiana con estiércol de ganado vacuno, mediante celdas de combustible microbiano, con la finalidad de utilizar estos residuos aplicando campos magnéticos a la biomasa y obtener mayor producción de energía a escala de laboratorio. La investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Energías Alternativas y Ambiente (CEAA) de la Facultad de Ciencias – ESPOCH. Se diseñaron cuatro celdas de combustible microbiano con cuatro tratamientos diferentes. Cada celda se conformó por dos cámaras, un ánodo y cátodo separadas por una membrana de fibra de carbono, el ánodo posee 30 gr de estiércol diluido en 125 ml de agua residual del establo de la estación experimental Tunshi – ESPOCH; en las tres celdas se examinó el comportamiento de organismos unicelulares estimulados a campos electromagnéticos constantes (CMC) de baja intensidad. Los tratamientos 1 y 3 fueron sometidos a 0.3 Gauss durante 5 minutos y 20 días respectivamente, el 2 a 0,7 Gauss a 5 minutos, el 4 sin campos magnéticos (control). Se realizó conexiones mediante cables a un dispositivo o sensor que midió directamente el voltaje por minuto durante 20 días producido en milivoltios y se almacenó en un ordenador; Durante la experimentación, las celdas fueron suministradas con agua residual de estiércol de ganado vacuno y glucosa como fuente de alimentación para los microorganismos. Conforme se aplicó la primera dosis de glucosa los voltajes disminuyeron, no obstante con el agua residual el comportamiento fue de gran ayuda para que los microorganismos se estabilizarán mientras los voltajes aumentaban. Se concluye que el tratamiento 3 fue el que generó mayor producción de bioelectricidad en el día 3 con un voltaje de 323 milivoltios. . La influencia de campos magnéticos en los microorganismos afectó en su crecimiento de manera positiva y rápida. Los voltajes producidos con el estiércol de ganado vacuno fueron bajos en comparación con otro tipo de muestras de consorcios microbianos. Se recomienda a las futuras investigaciones analizar otros sustratos para potencializar la producción de bioelectricidad.

Palabras claves: <CÁMARA ÁNODO> <CÁMARA CÁTODO> <ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI-[ESPOCH]> <MICROORGANISMOS UNICELULARES> <PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD> <CAMPOS MAGNÉTICOS>

SUMMARY

A study of microbial electricity generation vaccane gained manure was carried out, by means of microbial fuel cells, for the purpose of using these residues applying magnetic fields to biomass and to obtain major energy production laboratory scale. The research was performed in the laboratories of the Center of Alternative Energy and Environment (CEAA), of the Faculty of Sciences Faculty - ESPOCH. Four cells microbial fuel with four different treatments were designed. Each cell is formed by two chambers, an anode and cathode separated by a membrane of carbon fiber, the anode has 30 grams of manure diluted in 125 ml of wastewater from the Experimental Stable Station Tunshi - ESPOCH; in the three cells were analyzed of unicellular organisms behavior stimulated constant electromagnetic fields (CMC) of low intensity. The treatments 1 and 3 were subjected to 0.3 Gauss for 5 minutes and 20 days, respectively, the 2 to 0.7 Gauss 5 minutes, 4 without magnetic fields (control). Connection were realized by means of cables to a device or sensor that the voltage came up straight per minute for 20 days produced in millivolts and stored in a computer; During the experiment, the cells were supplied with wastewater from cattle manure and glucose as the power source for microorganisms. The same way as the first glucose dose applied the voltages to itself; they diminished, nevertheless, with the waste water the behavior was of big help so that the microorganisms will become stable while the voltages were increasing. As the first dose of glucose decreased voltages, albeit with the residual water was applied behavior was of great help to stabilize the microorganisms while the voltages increased. It is concluded that treatment 3 was generated by increased production of bioelectricity on day 3 with a voltage of 323 millivolts. . The influence of magnetic fields affected to the positive an quick growth of the microorganisms. The voltages produced with cattle manure were low compared to other samples of microbial consortia. It is recommended that future investigations to analyze other substrates to promote the bioelectricity production.

Keywords: <ANODE CHAMBERS> < CATHODE CHAMBERS > < EXPERIMENTAL STATION TUNSHI-[ESPOCH]> <UNICELLULAR MICROORGANISMS> <BIOELECTRICITY PRODUCTION > < MAGNETIC FIELDS >

INTRODUCCION

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

Es un hecho bien conocido que ocho países tienen el 81% de todas las reservas mundiales de petróleo crudo, seis países tienen el 70% de todas las reservas de gas natural y ocho países tienen el 89% de todas las reservas de carbón. La situación del calentamiento global se ve agravada por el hecho de que la generación de energía está aumentando continuamente en todo el mundo. (Stambouli, A. B., & Traversa, E. 2002).

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

Entre una serie de tecnologías de energías renovables una alternativa menos conocida y explorada en nuestro país son las celdas de combustible, ingenios electroquímicos capaces de transformar en un etapa la energía química de los enlaces moleculares en energía eléctrica,

pudiendo alcanzar una eficiencia energética mucho mayor que cualquier máquina de generación termoeléctrica. (Boudghene y Traversa, 2002).

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

El enfoque principal de estudio de este proyecto, se encontró en diferentes investigaciones que la digestión anaerobia presenta mayor rendimiento cuando se lleva a cabo en biodigestores y se mantiene a temperaturas mesofílicas (entre 35 y 37 °C) debido a que es factible la estabilización de los residuos que alimentan el reactor. También durante la digestión anaerobia se produce biogás y a éstas temperaturas se genera mayor rendimiento del mismo (Padhiyar, 2006). Éste biogás también se emplea como energía alternativa y se obtienen excelentes resultados. Estos altos rendimientos sumados con los bajos costos que se generan debido a que su principal alimento son desechos agroindustriales o excremento de animales, lo hacen un proceso muy rentable (Ieropoulos, 2005).

ANTECEDENTES

El primer prototipo de pila de combustible microbiana CCMs similar a las configuraciones actuales fue lanzado por S. Suzuki en 1973. Al final de la década de los 70, se generó el primer modelo computacional de pila de combustible biológica (di Salvo et al., 1979).

En la década de los 80, el interés alrededor de las pilas de combustible microbianas creció de forma significativa y las bases reguladoras del consorcio microbiano como catalizador anódico empezaron a ser investigadas en trabajos llevados a cabo con cultivos puros, mediadores para la transferencia de electrones entre bacterias y electrodos y fuentes de carbono no complejas (Bennetto Delaney and Mason, 1985; Thurston et al.), 1985; Durante los años 90 la afección por una mejor comprensión de estos sistemas hizo proliferar la experimentación con distintas configuraciones de reactor y combinaciones de fuentes de carbono, y las eficiencias coulombicas conseguidas aumentaron de forma considerable (Cooney et al., 1996; Bennetto H.P., 1990).

En esta etapa, microorganismos capaces de transferir por sí mismos (sin mediadores) los electrones al electrodo como aceptor final fueron identificados, se exploraron distintas aplicaciones de las CCMs como biosensores y se generaron nuevos modelos del proceso. En esas dos décadas (80s y 90s) el trabajo de M.J. Allen and H.P. Bennetto es especialmente notable. Ellos empezaron a concebir los sistemas CCMs como una opción complementaria para la generación de electricidad, especialmente en países en desarrollo (Bennetto, 1993).

Desde el principio del siglo XXI, fuentes de carbono tan complejas como el agua residual o los purines se consideraron como posibles combustibles para estos sistemas y fueron testadas con éxito. Se demostró que es posible depurar el agua residual y extraer simultáneamente energía de la materia orgánica contaminante en ella (Scott and Murano, 2007).

A principios del 2014 en el Grupo de Energías Alternativas y ambiente (GEAA), se inician los primeros estudios de bioelectricidad con celdas de combustible microbiano utilizando residuos orgánicos como sustrato con suelos de la Comunidad Achuar Kaipach-AMAZONIA, y la Comunidad de Pichan Central-ANDES, (Vintimilla, Nelson, W. 2014). Investigaciones posteriores analizan la influencia de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de las Aguas Residuales en la generación de energía sustentable (Caisaguano, A. 2015).

Se ha presentado mucho interés en estudiar los posibles efectos de los campos electromagnéticos en sistemas biológicos complejos y sus aplicaciones en tratamientos, diagnósticos, monitoreo y control, (Sun, 2011), los campos magnéticos de bajas intensidades muestran diferencias significativas entre las muestras tratadas y el testigo cuando la energía inducida por los magnetos es mayor que la energía térmica del sistema en el momento del tratamiento. (Recalde, C.2013).

JUSTIFICACIÓN

La demanda mundial energética actual busca establecer nuevas fuentes de generación energética que mantengan un principio de sustentabilidad con el ambiente, por esta razón se desarrolla el interés de investigadores para incursionar en nuevas formas de obtención de energía eléctrica que produzcan un impacto social positivo en aquellas regiones sin acceso a la red eléctrica. En el Ecuador la oferta energética es dependiente de la explotación del petróleo, actualmente representa el 90% de la generación total de energía primaria. El crecimiento de fuente energética en base a la producción de gas natural fue de 9,6% y de

energías renovables un 9,5% (hidroenergía, leña y productos de caña), de acuerdo al balance energético de año 2013 en base al año 2012 (Carvajal y Orbe, 2013).

Por esta motivo, surgen diversas fuentes de energías alternativas y entre ellas se encuentra la generación de bioelectricidad microbiana a partir de desechos agrícolas tales como residuos agroindustriales y heces de animales de finca, entre las que sobresalen las de cerdo debido a que producen un mayor rendimiento que muchas otras por su gran cantidad de componentes orgánicos (Muñoz, 2009). Este estudio presenta grandes ventajas frente al típico proceso de obtención de electricidad, tales como su precio y su contribución al medio ambiente, aprovechando los desechos que no cumplen ninguna utilidad. (Montealegre, P. A., & Cortázar Gómez, J. E. 2013)

.

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Generar bioelectricidad microbiana con residuos de ganado vacuno, mediante celdas de combustible microbiano, Estación Experimental Tunshi ESPOCH

Objetivos específicos:

- Construir una celda de combustible microbiana para la generación de bioelectricidad a partir de residuos de ganado vacuno.
- Evaluar la influencia de campos magnéticos en la producción de bioelectricidad en una celda de combustible microbiana.
- Establecer un conteo microbiológico de microorganismos presentes en el estiércol de ganado vacuno en la generación de bioelectricidad, antes y después de la conformación de una Celda de Combustible Microbiano.

CAPITULO I

1 Marco teórico referencial

1.1 Bioenergía

Ésta se define como la manera de generar energía a partir de biomasa: "materia viva" o derivada de seres vivos. Incluye un rango amplio de productos, que se han dividido en tres tipos de combustible: los sólidos (leña, carbón, residuos agrícolas y pecuarios, y residuos municipales) que se gasifican para producir calor y electricidad, y los combustibles líquidos, que utilizan cultivos energéticos (caña de azúcar, oleaginosas, higuera, palma de aceite y coco) para generar etanol y biodiesel.

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 bioelectroquímicos. 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 Bioenergética microbiana

Es la Generación de energía eléctrica a partir de energía química proveniente de procesos biológicos generados por organismos vivos. Existen diversos microorganismos que pueden ser eficientes a la hora de realizar este proceso de conversión energética, pero algunos lo son más que otros. Los microorganismos más utilizados en los procesos de generación de energía eléctrica son las llamadas "bacterias electrogénicas" que suelen encontrarse en ambientes anaerobios como sedimentos de lagos o ríos (Esteve-Núñez, A. 2008).

La aceptación de la existencia de microorganismos electro activos, capaces de donar o aceptar electrones elementos conductores a través de unas proteínas denominadas citocromos C (Estévez-Canales et al., 2015), sugirió explorar nuevas reacciones entre las bacterias y su entorno más próximo,

dando lugar a un concepto fascinante como la transferencia directa de electrones entre especies (Direct Interspecies Electron Transfer, DIET por sus siglas en inglés). De la misma manera que ocurrió con *Geobacter*, el descubrimiento del DIET tuvo su origen en un estudio de la ecología microbiana de un sedimento. La DIET propone que los microorganismos son capaces de ceder y aceptar electrones, de forma directa, entre poblaciones, de forma similar a la que utilizan las bacterias electro activas con los electrodos en las MET.

Los estudios más recientes sitúan al fenómeno DIET dentro de los gránulos de los digestores anaerobios utilizados en tratamientos de agua. Además, recientemente se ha descrito que los microorganismos metanogénicos son capaces aceptar electrones directamente de otras bacterias, y no sólo de H₂, para producir metano (Rotaru et al., 2014).

1.1.2 Microorganismos Electrógenicos

Son capaces de transferir los electrones al ánodo en ausencia de mediadores redox artificiales (Lovley, 2006). De esta manera, se eliminan los problemas de toxicidad en los dispositivos electroquímicos y los medios utilizados quedan restringidos al combustible Orgánico que se desee utilizar y al microorganismo que actúe como catalizador biológico. Podemos distinguir dos tipos de bacterias electrogénicas, aquellas que producen sus propios mediadores redox, que son secretados al medio y reaccionan con el electrodo, y aquellas que interaccionan de forma directa con el electrodo sin mediador soluble alguno.

Aunque se ha probado la existencia de una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* electrogénica productora de fenazinas como mediadores redox, el principal representante de este grupo corresponde a las bacterias reductoras de Fe (III) del género *Shewanella*. Otras bacterias con robada actividad electrogénica son *Rhodospirillum rubrum*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium butyricum* y *Enterococcus gallinarum*, si bien no existe información sobre la forma en que transfieren los electrones al electrodo. Por último, estarían aquellas bacterias capaces de transferir los electrones por contacto directo con el ánodo, siendo el género *Geobacter* el modelo mejor estudiado dada la disponibilidad de cultivos puros y su dominancia dentro de las comunidades microbianas electrogénicas.

1.2 Principio de la celda de combustible microbiano:

Las Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) son una tecnología emergente que podrían contribuir a solucionar dos de los problemas más críticos que afronta la sociedad actual: la crisis energética y la disponibilidad de agua no contaminada. Una CCMs es un dispositivo que utiliza microorganismos para convertir la energía química presente en un sustrato en energía eléctrica, esto es posible cuando bajo ciertas condiciones algunos microorganismos transfieren los electrones producidos en su actividad metabólica a un electrodo (ánodo) en lugar de a un aceptor natural de electrones (como oxígeno). Este proceso contribuye a degradar la materia orgánica representada como sustrato o combustible (Pant et al., 2010) y ha sido estudiado ampliamente en CCMs de cátodo abiótico con la generación de energía eléctrica a pequeña escala (Du et al., 2007).

Las CCMs se distinguen de otros sistemas de generación de energía porque: operan eficientemente a temperatura ambiente e incluso a muy bajas temperaturas; producen menor cantidad de CO₂ que cualquier otra tecnología actual que utilice combustibles fósiles para generar energía, por lo que las pocas emisiones de este gas no requieren ningún tipo de tratamiento; no necesitan aporte de energía siempre que el cátodo abiótico sea aireado pasivamente o sea un biocátodo; en el futuro podrían ser utilizadas en lugares remotos donde haya demanda de consumos básicos de energía eléctrica. El potencial de estos dispositivos es enorme, en diversos trabajos se ha demostrado su efectividad (Rabaey et al., 2003, Du et al., 2007, Pant et al., 2010).

Al utilizar la materia orgánica de las aguas residuales como combustible simultáneamente con la producción de energía, se consigue una depuración de las aguas contaminadas. Adicionalmente, el estudio de biocátodos capaces de usar no solamente oxígeno sino también otros contaminantes como posibles aceptores de electrones, permite la remoción de nutrientes y la biorremediación conjuntamente con la generación de electricidad (Huang et al., 2011).

El principal inconveniente de CCMs 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 CCMs. Los primeros CCMs 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).

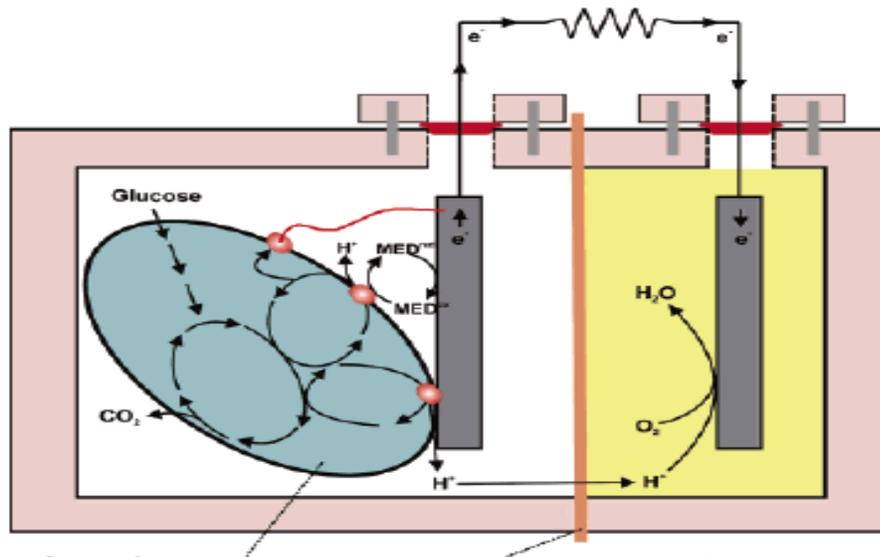


Figura 1:1: Principios De Funcionamiento De CCMs (No A Escala).
Fuente: Rabaey, K.; 2003

Una bacteria en el compartimiento anódico transfiere electrones obtenidos a partir de un donante de electrones (glucosa) al electrodo de ánodo. Esto ocurre ya sea por contacto directo, nanocables, o lanzaderas de electrones móviles (pequeñas esferas representan la membrana final de enlace asociado). Durante electrones protones de producción también se producen en exceso. Estos protones migran a través de la membrana de intercambio catiónico (PEM) a la cámara de cátodo. Los electrones fluyen desde el ánodo a través de una resistencia externa (o carga) al cátodo donde reaccionan con el aceptor final de electrones (oxígeno) y protones (Rabaey; 2005)

Muchas configuraciones diferentes son posibles para CCMs (Figura -1-2, Figura 1:3). Un ampliamente utilizados y el diseño de bajo costo es una cámara de CCMs construida en una forma tradicional de "H", que consiste por lo general de dos botellas conectadas por un tubo que contiene una separador que normalmente es una membrana de intercambio catiónico (PEM), tales como Nafion (Bond, D. R.; Holmes 2002)(Park, D. H.; Zeikus 1999) o Ultrex (Rabaey, K.;2003), o una llanura puente de sal (Min, B.; Cheng, 2005) (Figura 2A, f). La clave de este diseño es elegir una membrana que permite el paso de los protones entre el cámaras (PEM) pero de manera óptima no el sustrato o de electrones aceptor en la cámara de cátodo (normalmente oxígeno). En el H-

configuración, la membrana se sujeta en el medio de los tubos de conexión de la botella (Figura 2f). Sin embargo, el No es necesario propio tubo. Mientras las dos cámaras son mantenido separado, pueden ser presionadas arriba sobre cada lado de la membrana y se sujeta entre sí para formar una superficie grande (Figura 2b). Una forma barata de unirse a las botellas es utilizar un tubo de vidrio que se calienta y se dobla en forma de U, lleno con agar y la sal (para servir a la misma función que un catión membrana de intercambio), y se inserta a través de la tapa de cada botella (Figura 2a). El CCMs puente de sal, sin embargo, produce poca energía debido a la alta resistencia interna observó.

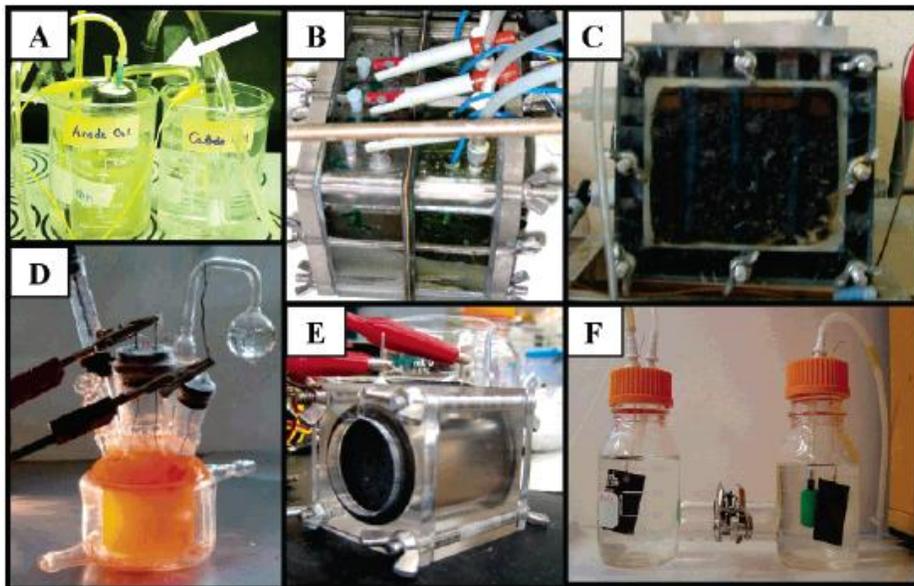


Figura -1-2: Tipos De CCMs Utilizados En Los Estudios
Fuente: Rabaey, K.; 2003

Los Tipos de CCMs utilizados en los estudios:

- (A) Del sistema que contiene un puente de sal (que se muestra por la flecha) (Min, B.; Cheng, 2005) construyen fácilmente
- (B) De cuatro tipo de lote CCMs donde las cámaras están separadas por la membrana (sin tubo) y mantienen unidos por pernos (Rabaey; 2005)
- (C) Igual a B pero con una ánodo continuo flujo continuo (matriz de grafito granulado) y cerca de la colocación del ánodo-cátodo (Rabaey; 2005)
- (D) Tipo de CCMs photo heterotrophic (Rosenbaum; 2005); (E) de una sola cámara, sistema de aire cátodo en un simple "tubo" acuerdo (30); (F) de dos cámaras sistema de tipo H que muestra ánodo y el cátodo cámaras equipadas para burbujeo de gas (Liu, H.; Logan 2004).

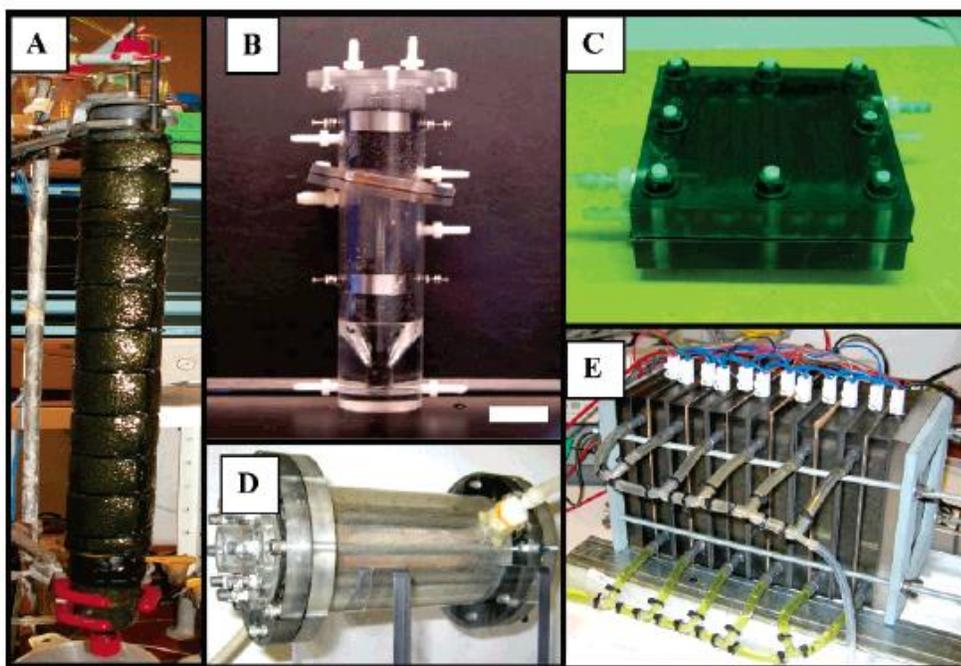


Figura 1.3: CCMs Utilizados Para La Operación Continua

Fuente: Rabaey, K.; 2003

En la figura 3 se describe lo siguiente:

(A) De flujo ascendente, el tipo MFC tubular interior con el ánodo y el cátodo de grafito como exterior (Rabaey; 2005);

(B) De flujo ascendente, el tipo CCMs tubular con ánodo y el cátodo a continuación por encima de, la membrana está inclinada (He, Z.; Minteer, 2005);

(C) Diseño de la placa plana en un canal se corta en los bloques de manera que el líquido puede fluir en un patrón de serpentina a través del electrodo (Min, B.; Cheng, 2005);

(D) Del sistema unicameral con un interior cátodo de aire concéntrico rodeado por una cámara que contiene barras de grafito como ánodo (Liu, H.; Ramnarayanan 2004); (E) apilados MFC, de los cuales 6 son separadas CCMs sumado a una cuadra del reactor (Aelterman, P.;2006).

1.2.1 *Ánodo:*

Los Materiales anódicos deben ser conductores, biocompatible, y estable químicamente en la solución del reactor. Ánodos metálicos que consta de malla de acero inoxidable no corrosivo se puede utilizar (Tanisho, S.; Kamiya, 1989), pero el cobre no es útil debido a la toxicidad de incluso traza cobre iones a las bacterias. El material de electrodo más versátil es carbono, disponible como placas

de grafito compacto, varillas, o gránulos, como material fibroso (fieltro, tela, papel, fibras, espuma), y carbono como vidriosa. Hay numerosos proveedores de carbono en todo el mundo, por ejemplo E_TEK y Electrosíntesis Co. Inc. (EE.UU.), GEE Graphite Limited, Dewsbury (Reino Unido).

Los materiales más simples para electrodos de ánodo son el grafito placas o varillas ya que son relativamente baratos, fáciles de manejar, y tener un área de superficie definida. Superficie mucho más grande zonas se consiguen con fieltro de grafito electrodos, que puede tener zonas de gran superficie (0,47 m²g⁻¹, serie GF, GEE Grafito limitado, Dewsbury, Reino Unido). Sin embargo, no toda el área de superficie indicada será necesariamente, a disposición de las bacterias.

La fibra de carbono, papel, espuma y tela (Toray) han sido ampliamente utilizados como electrodos. Se ha demostrado que la corriente aumenta con la superficie total interna en el orden de carbono > espuma de carbono > grafito (Chaudhuri, S. K.; Lovley, 2003). Sustancialmente mayor áreas de superficie se logran ya sea mediante el uso de un material compacto como el carbono vítreo reticulado (RVC; Materiales y ERG Aerospace Corp., Oakland, CA) (He, Z.; Minter 2005) (Kim, N.; Choi, 2000) que está disponible con diferentes tamaños de poro, o mediante el uso de capas de carbono packed gránulos (Le Carbone, Grimbergen, Bélgica) o perlas (Sell, D.; Kraemer 1989). En ambos casos se mantiene una alta porosidad es importante evitar la obstrucción.

El efecto a largo plazo del crecimiento del biofilm o partículas en el flujo en cualquiera de las superficies anteriores no ha sido examinado adecuadamente Para aumentar el rendimiento del ánodo, químico de las diferentes estrategias físicas se han seguido. Park et al. (Park, D. H.; Zeikus 2003) incorporado Mn (IV) y Fe (III) y se utiliza unido covalentemente rojo neutro para mediar en la transferencia de electrones hacia el ánodo. Materiales electrocatalíticos tales como polianilina compuestos de Pt.

Dirigir el flujo de agua a través del material del ánodo puede ser usado para aumentar la potencia. (Cheng et al. 2006) encontraron que el flujo de dirigido a través de tela de carbono hacia el ánodo, y la disminución de distancia entre electrodos de 2 a 1 cm, mayor poder densidades (normalizado a la superficie proyectada del cátodo) 811 hasta 1.540 mW / m² en una CCMs. El aumento aire cátodo se pensaba que era debido a la difusión de oxígeno en el restringido ánodo de cámara, aunque el flujo advertido podría tener ayudado con el transporte de protones hacia el cátodo también. El aumento de las densidades de potencia se han logrado utilizando RVC en un MFC de flujo

ascendente tipo UASB (He, Z.; Minteer 2001) o en un reactor de ánodo granular (Rabaey; 2005) con cátodos ferricianuro. El flujo a través de un ánodo tiene también se han utilizado en los reactores usando mediadores exógenos.

1.2.2 Cátodo:

Debido a su buen desempeño, ferricianuro ($K_3 [Fe (CN) 6]$) es muy popular como un electrón experimental acceptor en las células de combustible microbianas (Park, D. H.; Zeikus, 2001). La mayor ventaja de ferricianuro es el bajo sobre potencial utilizando una al carbono cátodo, lo que resulta en un cátodo de trabajo cerca de su potencial de circuito abierto. La mayor desventaja, sin embargo, es la oxidación por el oxígeno insuficiente, lo que requiere la catolito para ser sustituido regularmente (Rabaey; 2005). Además, la larga rendimiento a largo plazo del sistema puede verse afectada por difusión de ferricianuro a través de la PEM y en la cámara de ánodo.

El oxígeno es el acceptor de electrones más adecuado para CCMs debido a su alto potencial de oxidación, la disponibilidad, bajo costo, la sostenibilidad y la falta de unos residuos químicos producto (agua se forma como el único producto final). La elección del material de cátodo afecta en gran medida el rendimiento, y es variada basada en la aplicación. Para las células de combustible de sedimentos, llano electrodos de disco de grafito sumergido en el agua de mar por encima de la sedimentos se han utilizado (Tender, L. M.; Reimers 2002).

Debido a la cinética muy lenta de la reducción de oxígeno en el carbono normal, y la resultante sobre potencial grande, el uso de tales cátodos restringe. El uso de este no catalizada material a sistemas que pueden tolerar bajo rendimiento. En el agua de mar, la reducción de oxígeno sobre el carbono cátodos se ha demostrado que ser apoyado por microbios (Rhoads, A.; Beyenal, 2005; Shantaram, A.; 2005). Tal reducción microbiana asistida también ha sido observado para cátodos de acero inoxidable que reduce rápidamente oxígeno cuando ayudado por una biopelícula bacteriana.

1.2.3 Membrana de intercambio de protones (PEM):

Los materiales con los que se deben construir las membranas deben tener, alta selectividad de protones, estabilidad y firmeza, para obtener el mejor funcionamiento en una CCMs. La PEM ayuda a canalizar los protones en una sola dirección desde el ánodo hacia el cátodo, y la PEM más utilizada es el Nafon® 117 que tiene una alta puntuación para la selectividad de protones pero tiene

una estabilidad muy baja. Otra opción utilizada como PEM es el Ultrex que tiene una baja puntuación para la selectividad de protones pero tiene una estabilidad muy alta. La diferencia entre las dos opciones tiene que ver directamente con la eficiencia energética y el costo (Logan and J. Regan 2006)

1.3 Residuos Orgánicos Biodegradables para una CCMs:

Este tipo de residuos son empleados para generar energías renovables, desechos provenientes de procesos naturales o industriales que contienen fracciones degradativas de sus productos. El mayor porcentaje proviene de la madera, oleaginosas o agro combustibles, entre otros, los cuales se han convertido en la actualidad fuente de energía siendo aprovechados a escala local.

La bioenergía se ha convertido en una fuente sostenible de producción energética en varias comunidades como una alternativa en conservación del ambiente, originando tecnologías prometedoras pero desafiantes basándose en la espontaneidad de convertir la biomasa en electricidad. La utilización de biomasa para generar electricidad mediante CCMs podría ser una alternativa energética en el futuro. Aunque la corriente y potencia generadas son bajas comparando con otras fuentes convencionales, su interés radica en identificar la población microbiana presente en las CCMs, por ello se han realizado estudios con el fin de identificar la diversidad genética de estas comunidades microbianas cultivables secuenciando el gen 16S rRNA para su identificación. Sin embargo se ha indagado los principales sustratos a base de aguas residuales y biomasa lignocelulótica probando su rendimiento, limitaciones y los mejores nutrientes utilizados para maximizar su desempeño y potenciar esta aplicación creando sistemas sostenibles y sustentables.

Para las CCMs es imprescindible el aporte del sustrato como fuente de nutrición para la comunidad bacteriana, por esta razón se implementan en plantas de tratamientos de aguas residuales utilizando sustratos como el estiércol de animales, lodos de ríos, entre otros. Siendo su objetivo la remoción de contaminantes utilizando CCMs con diseños de cámara doble y cámara simple, generando simultáneamente electricidad.

1.4 Residuos Agroindustriales:

Entre los diferentes enfoques que existen para definir a la “agroindustria”. Se dice que es una “actividad que integra la producción primaria agrícola, pecuaria o forestal, el proceso de beneficio o transformación, así como la comercialización del producto, sin dejar de lado los aspectos de administración, mercadotecnia y financiamiento”. Dicho en otros términos, es una actividad económica que combina el proceso productivo agrícola con el industrial para generar alimentos o materias primas semielaboradas destinadas al mercado. También se dice que constituye una parte del sector industrial que se dedica a producir y/o transformar, almacenar y comercializar productos provenientes del campo. Entre los productos que se industrializan están: frutas, verduras, raíces, semillas, hojas, tubérculos y vainas; algunos se comercializan en fresco y otros son transformados en néctares, jugos, mermeladas, ensaladas, harinas, aceites, vinos, concentrados en polvo y conservas, por mencionar algunos. La tendencia mundial es el notable crecimiento en la generación de residuos, derivado del incremento en la generación de productos comercializables.

A partir del marco de referencia anterior, se puede entonces decir que los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social. El problema al que se enfrentan los residuos agroindustriales es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos, que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final. Aún en nuestros días, esta problemática prevalece a nivel mundial.

Con cierta frecuencia al hablar sobre el tema utilizamos en forma indistinta los términos: subproductos, residuos y desechos, sin importar que existe una diferencia conceptual entre ellos. Un “subproducto” es un producto secundario, bien conocido, generalmente útil, comercializable y por lo tanto con valor agregado, que resulta de un proceso industrial. El término “residuos”, se aplica a aquellos que pueden tener o no un valor comercial, porque son poco comunes o porque se generan en bajas cantidades, sin embargo, algunos de sus constituyentes aún en baja proporción, le pueden conferir algún interés para su utilización. Desde este punto de vista, los términos “subproducto” y “residuo” podrían utilizarse como

sinónimos, no así el término “desecho”, que está referido a aquellos materiales que no tienen algún valor comercial, ni poseen atributos de interés para ser utilizados en algún proceso, por lo que se consideran como basura y se les debe dar una disposición final.

En general, las características de los residuos agroindustriales son muy variadas, dependen de la materia prima y del proceso que los generó, no obstante, comparten una característica principal que es el contenido de materia orgánica, constituida por diferentes porcentajes de celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina. Por ser la materia orgánica su principal componente en la práctica se les denomina “residuos orgánicos”, dentro de este rubro se incluyen otros residuos, como los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, la hojarasca de parques y jardines, así como los residuos domésticos y residuos sólidos municipales. (Saval, S. 2012).

1.5 Aguas Residuales:

De manera general en los últimos años se utiliza glucosa y acetato para la generación de energía en sistemas bioelectroquímicos, de manera que nos permite en la actualidad implementar sustratos complejos y amigables con el ambiente mediante métodos de depuración como la biorremediación de aguas residuales para remoción de su carga orgánica presente. Este sustrato es económicamente aplicable, abundante y de fácil obtención contribuyendo un desarrollo prometedor para el tratamiento de aguas residuales industriales o domésticas. (Revelo et al., 2013). Para la Industria de fabricación de colorantes y textiles es un reto en la conservación del ambiente se considera la presencia de compuestos azoicos en efluentes provenientes de estas industrias a nivel mundial.

La investigación científica se ha enfocado a una producción más limpia en procesos finales industriales aplicando tecnologías alternativas, como es el desarrollo de CCMs para disminuir la contaminación causada por la liberación de sustancias como aminas aromáticas químicamente perjudiciales para la salud y el ambiente. Sin embargo aplicando esta tecnología se busca generar simultáneamente energía eléctrica, se ha considerado la mezcla de agua residual doméstica e industrial con la finalidad de mejorar el desempeño de las CCMs y se recomienda probar con otros compuestos complejos como lixiviados.

Según se aplicó CCMs para el tratamiento de aguas residuales en el Campus Juriquilla de la UNAM, se realizó pruebas cinéticas de electricidad en diferentes distancias de electrodos

determinando el voltaje producido en tres CCMs con diferentes volúmenes (40, 80 y 120 mL) en condiciones similares siendo su alimentación de 100 mL de acetato de sodio en agua residual; como resultado no se mantuvo efecto negativo alguno por la distancia de los electrones (CCMs 120 mL se alcanzó un voltaje de 660 mV, CCMs 40 y 80 mL se obtuvo 532 mV a 540 mV). Sin embargo la potencia volumétrica se relaciona directamente con la distancia de los electrodos, lo cual se debe optimizar el diseño de las CCMs en razón de potencia.

1.6 Sustratos:

El sustrato es uno de los aspectos más importantes de la CCMs porque constituye el combustible a partir del cual se genera la energía. En la literatura científica se encuentran diversos trabajos en los que se emplea una gran variedad de sustratos, desde compuestos puros hasta mezclas complejas (Liu et al., 2009; Cha et al., 2010). En los primeros años, sustratos simples como glucosa y acetato eran de uso general, pero en los últimos años las investigaciones se centran en la utilización de sustratos menos convencionales con el fin de utilizar la biomasa presente en aguas residuales de diverso tipo y adicionalmente depurarlas y generar energía.

Los compuestos puros se pueden degradar de manera más simple lo que permite obtener mayor generación de energía e hidrógeno (Pant et al., 2010), además a nivel experimental es recomendable su uso porque se facilita la evaluación de condiciones operacionales de la CCM tales como, la eficiencia coulombica, la densidad de potencia y la resistencia interna. Algunas investigaciones han empleado por ejemplo, acetato (Huang et al., 2010; Ieropoulos et al., 2010; Nam et al., 2010) debido a su inactividad hacia los procesos microbianos (fermentación y metanogénesis), glucosa (Li et al., 2010; Sharmay Li, 2010;), sacarosa (Ieropoulos et al., 2005), almidón (Shimoyama et al., 2008), lactato (Feng et al., 2010), ácido tereftálico (Song et al., 2009), tintes sintéticos (Ali, 2010), indol (Luo et al., 2010), lactosa, maltosa, xilosa, formiato, propionato, ácido succínico, etanol (Liu et al., 2010), entre otros.

Sin embargo, el uso de sustratos complejos en una CCMs es de gran interés porque, además de ser fuentes de energía, estos se pueden degradar y/o biorremediar antes de su descarga al medio ambiente. A diferencia de los compuestos puros los sustratos complejos requieren para su degradación una comunidad microbiana diversa y electroquímicamente activa (Pant et al., 2010), cuyas poblaciones se van seleccionando dependiendo del tipo de sustrato.

Como ejemplos de este tipo de sustratos se pueden explorar: aguas residuales provenientes del procesamiento de frutas y vegetales, suero de queso, melazas de destilerías, aguas residuales de biorrefinerías, aguas residuales de industrias farmacéuticas con contaminantes recalcitrantes, residuos agrícolas, entre otros. Además, se ha demostrado que las CCMs pueden utilizar como sustratos no sólo material orgánico degradable, sino también material resistente a la biodegradación (Logan et al., 2006).

Son diversos los factores a tener en cuenta para seleccionar el sustrato a utilizar en la CCMs, entre ellos el costo. Los sustratos puros resultan más costosos por las implicaciones de los procesos de obtención, en cambio, los sustratos complejos tales como los mencionados anteriormente son productos de desecho industrial o doméstico disponibles en forma abundante, de fácil consecución y por lo tanto económicos. Otro factor que normalmente incide sobre la generación de energía es la concentración del sustrato, esta dependencia es característica de las reacciones enzimáticas que ocurren en la CCMs.

Un incremento en la concentración del sustrato acelera la velocidad de reacción, lo que normalmente conduce a una mayor generación de energía; sin embargo, algunos autores han encontrado efectos contrarios y altas densidades de potencia a bajas concentraciones (Sharma y Li, 2010). Hay dos posibles razones que explican este comportamiento, primero, un incremento de los productos de fermentación que ocasionan una disminución del pH en el sistema, lo cual inhibe la actividad enzimática; segundo, algunos compuestos del sustrato orgánico son utilizados para el crecimiento bacteriano y no para la generación de electricidad (Sharma y Li, 2010)

1.7 Reproducción y crecimiento de las bacterias

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 acuáticas 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).

1.7.1 Abonos Orgánicos:

El estiércol es la principal fuente de abono orgánico y su apropiado manejo es una excelente alternativa para ofrecer nutrientes a las plantas y a la vez mejorar las características físicas y químicas del suelo. De todos los forrajes que consumen los animales (ovinos, vacunos, camélidos y cuyes), sólo una quinta parte es utilizada en su mantenimiento o incremento de peso y producción, el resto es eliminado en el estiércol y la orina.

Uno de los principales problemas de las explotaciones ganaderas es el manejo que se le pueda dar a la gran cantidad de desechos generados en forma de excretas, lo cual tradicionalmente se ha limitado al simple lavado de los corrales utilizando grandes cantidades de agua, que finalmente se depositan en fuentes causando contaminación. Estos desechos son altamente contaminantes debido a que contienen materia Orgánica, microorganismos y nutrimentos, lo que con lleva entre otros procesos. La disminución del oxígeno disponible y al aumento de contenidos de amonio en el agua con la muerte de la vida acuática y además, amenaza la vida terrestre al consumirse el agua por personas, animales y plantas.

Estiércol no es sólo materia fecal. Son subproductos de la producción ganadera que incluyen excremento animal, material de cama, agua de lavado, alimento salpicado, limpiadores y pelos. Su Composición varía entre límites muy grandes, dependiendo de la edad, clase y características de los animales, cantidad y digestibilidad del forraje, alimentos concentrados consumidos por el ganado, cantidad y tipo de cama, duración, forma de almacenamiento y método de manejo del estiércol.

Tabla 1-1: Composición química del estiércol

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ESTIÉRCOL (O GUANO)

ESPECIE ANIMAL	MATERIA SECA %	N %	P ² O ⁵ %	K ² O %	CaO %	MgO %	SO ⁴ %
Vacunos (f)	6	0,29	0,17	0,10	0,35	0,13	0,04
Vacunos (s)	16	0,58	0,01	0,49	0,01	0,04	0,13
Ovejas (f)	13	0,55	0,01	0,15	0,46	0,15	0,16
Ovejas (s)	35	1,95	0,31	1,26	1,16	0,34	0,34
Caballos (s)	24	1,55	0,35	1,50	0,45	0,24	0,06
Caballos (f)	10	0,55	0,01	0,35	0,15	0,12	0,02
Cerdos (s)	18	0,60	0,61	0,26	0,09	0,10	0,04
Camélidos (s)	37	3,6	1,12	1,20	s.i.	s.i.	s.i.
Cuyes (f)	14	0,60	0,03	0,18	0,55	0,18	0,10
Gallina (s)	47	6,11	5,21	3,20	s.i.	s.i.	s.i. (f)

(f) Fresco, (s) seco, (s.i.) sin información.

Fuente SEPAR, 2004. Boletín Estiércoles

La variación en la composición del estiércol depende de la especie animal, de su alimentación, contenido de materia seca (estado fresco o secado) y de cómo se le haya manejado.

Tabla 1-2 Composición química (%) estiércol de vaca

Materia Orgánica	Nitrógeno (N)	Fosforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Humedad
36,1	1,51	1,2	1,51	3,21	25,5

Realizado por: Ríos L, S. 2016

1.7.2 *Escherichia coli* O157:H7: Un organismo clave en el estiércol de vaca

E. coli O157:H7 es la sepa predominante de un grupo de *E. coli* que producen toxinas. El *E. coli* común es un habitante ubicado en el intestino. Las formas toxigénicas, como son *E. coli* O157:H7 han sido un problema creciente desde su primera identificación en 1982 (Buchanan and Doyle, 1997; Feng, 1997). Aunque el número de casos registrados son mucho menores que los de *Salmonella*, el *E. coli* O157:H7 es más peligroso, produciendo la condición fatal Síndrome Hemolítico Urémico (Hemolytic uremic syndrome, HUS), la cual resulta en un completo paro renal.

Las vacas lecheras han designados como fuentes presuntas de *E. coli* O157:H7 que pueden transmitir a cultivos hortícolas a través de aerosoles, agua de superficie y abonos incompletamente transformados de estiércol (Cliver, 1997; Hancock et. al., 1997; Zhao et. al., 1995). Se ha demostrado que *E. coli* O157:H7 ha sobrevivido en el estiércol seco por más de sesenta días bajo un gama de condiciones ambientales y se ha encontrado en los efluentes de granjas vaqueras y de engorda cuyo proceso de descomposición al abono resulta incompleto. Esta persistencia en suelos enriquecidos con estiércol no ha sido bien caracterizada y es un tema de investigación actual en UC Davis. En el caso de esta sepa toxigénica y otros relacionados, se desconoce en gran parte su persistencia en suelos, su transferencia a y colonización posible en los tejidos vegetales.

1.7.3 Geobacter como modelo de electrogénesis:

Este tipo de bacterias habita de forma natural en el sub-suelo y durante millones de años han utilizado los óxidos de hierro insolubles como aceptores de electrones para la oxidación de la materia orgánica. Los mecanismos responsables de establecer una comunicación redox entre la bacteria y la superficie de los óxidos de hierro han contribuido a “dar forma” a la corteza terrestre, y comprenderlos constituye uno de los retos actuales en el campo de la microbiología ambiental.

1.8 Efecto de las condiciones de sobre las Celdas de Combustible Microbiano (CCMs)

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).

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 CCMs 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.

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 CCMs 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 convendrían 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, esto 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 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).

1.10 Campos Magnéticos

Las variables más importantes en cualquier proceso biotecnológico y que requieren ser controladas para el buen desempeño de los organismos implicados son, entre otras, temperatura, pH, concentración de nutrientes, presión, luminosidad, grado de agitación y concentración de O₂. Además, cualquier cuerpo sobre la faz de la tierra, está sometido al efecto de otras variables menos tangibles, pero igualmente importantes, como los campos electromagnéticos (Polk y Postow, 1986; Ueno y Harada, 1982).

El efecto que los campos electromagnéticos ejercen sobre el crecimiento celular ha sido estudiado desde el punto de vista biofísico, pero su aplicación a la biotecnología no se ha estudiado de forma profunda; sólo en la última década algunos estudios se han dedicado a microorganismos de interés biotecnológico (Hirano *et al.*, 1998; Jung y Sofer, 1997; Phillip *et al.* 1997; Ruzic *et al.* 1998; Goldsworthy *et al.*, 1999).

Los campos electromagnéticos afectan la dirección de la migración (Blakemore y Frankel, 1981; Farina *et al.*, 1982, 1983; Mottas y Lins, 1986; Adamkiewicz *et al.*, 1987) y alteran el crecimiento y la reproducción de los microorganismos (Jennison, 1937; Kimball, 1938; Moore, 1979), causan cambios en la síntesis de ADN (Liboff *et al.*, 1984), en la orientación de biomoléculas y biomembranas (Maret y Dransfeld, 1977) y alteran el flujo de iones a través de la membrana plasmática (Conti *et al.* 1985; Collis y Segal, 1988), generando como resultado neto una modificación en la velocidad de reproducción celular (Gerencser *et al.*, 1962; Pothakamury *et al.*, 1993a; Goldsworthy *et al.*, 1999).

El efecto que generan los campos magnéticos sobre el crecimiento celular se puede clasificar (Pothakamury *et al.*, 1993b) en inhibitorio, estimulador o no observable. Los efectos de estimulación o inhibición de los campos magnéticos se han atribuido a cambios en la orientación de las biomoléculas (proteínas), cambios en las biomembranas (lipídicas y plasmáticas), alteraciones del flujo de iones a través de la membrana plasmática y/o cambios en la estructura de las biomoléculas (Pothakamury *et al.*, 1993).

Con base en el conocimiento del efecto que los campos magnéticos ejercen sobre los microorganismos, resulta de interés desarrollar sistemas que, haciendo uso de los campos electromagnéticos, estimulen el crecimiento de microorganismos de importancia industrial, lo que podría redundar en la disminución de los tiempos de fermentación, aumento en los rendimientos y disminución de costos en procesos como la producción de cerveza, vino, pan, derivados lácteos, productos farmacéuticos, enzimas, entre muchos otros.

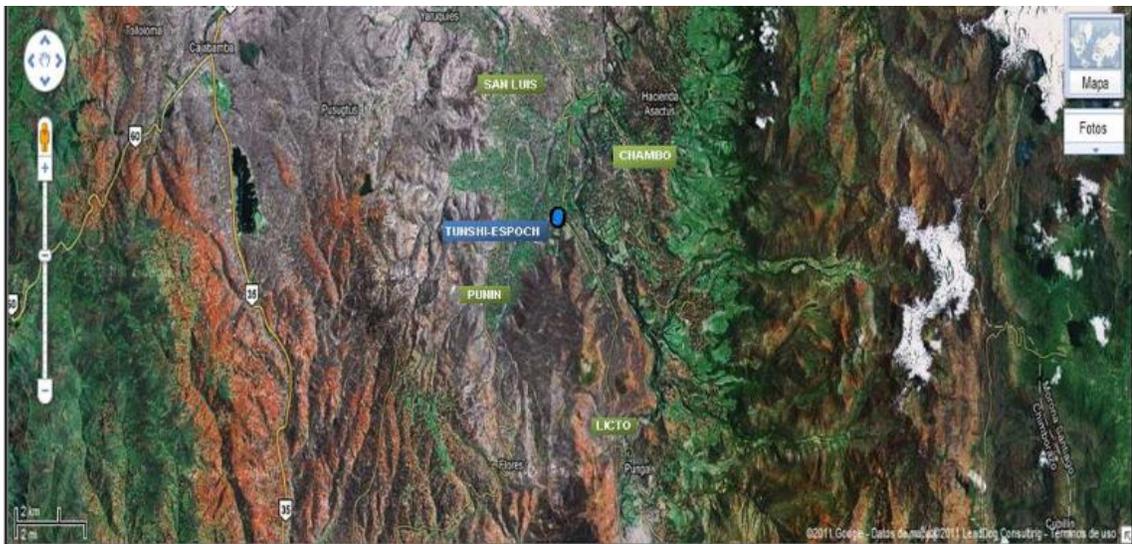
CAPITULO II

2 METODOLOGIA

2.1 Parte Experimental

2.1.1 Lugar de estudio:

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación de Energías Alternativas (CEAA – ESPOCH), las muestras de estiércol se obtuvieron en la Estación Experimental Tunshi ESPOCH, ubicada a 12 Km de la ciudad de Riobamba, localizada en las coordenadas (17 K 721148 7763130).



Fotografía 2-1 Ubicación geográfica de EETE

Fuente: Google Maps Diciembre 2015

2.2 Métodos:

2.2.1 Muestreo de Biomasa:

Seleccionado el lugar exacto, se procedió a realizar puntos de muestreo aleatorio, como se muestra en la Fotografía 2-2.

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 los recipientes con alcohol aséptico. Se utilizó frascos estériles para la recolección de las muestras de estiércol sólido, y el agua de lavado de estiércol siguiendo los métodos de asepsia establecidos para este fin. (Zheng, X., & Nirmalakhandan, N. 2010).

Una vez tomada la cantidad requerida es necesario su homogenización y su traslado en lo posible a la temperatura en la que se muestreo. Todas las muestras fueron almacenadas a una temperatura de 4 grados centígrados hasta su utilización. (Rügnitz Tito et al., 2009)

Tabla 2-1: Cantidad total de estiércol requerido para la instalación de las CCMs

Caso de estudio				CCMs		
0,3 G Tratamiento o 1	0,7G Tratamiento o 2	CCM Tratamiento o 3	CSM tratamiento 4	RECIPIENTES ESTÉRILES	REPETICIÓN	CANTIDAD TOTAL DE BIOMASA
				20ML	4	225 gr
				2000 ML	1	
				50 ML	1	
					total	225 gr

Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-2 Establo Estación Experimental Tunshi ESPOCH
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-3 Recolección de muestras Estación Experimental Tunshi Espoch
Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.2 Muestreo del agua de lavado:

El agua residual fue producto del lavado del estiércol encontrado en la acequia del establo; Se realizó un muestreo simple para la toma de la misma, se obtuvo un volumen de 2 litros (Fotografía 2-3). Las celdas CCMs trabajan con bacterias que se alimentan de los desechos contenidos en el líquido residual, el producto del metabolismo de los microorganismos es generar el flujo de electrones, que es capturado por la celda la cual va a producir bioelectricidad. (Zheng, X., 2010).

2.2.3 Configuración de las Celdas de Combustible Microbiano (CCMs):

Para diseñar la configuración apropiada y apta para la investigación se requirió a partir de estudios mencionados en el marco teórico acerca de este método de obtención de electricidad. La celda diseñada y construida consta de una cabina cuadrada fabricada con capas de acrílico de 2 mm de espesor, un volumen aproximado de 120 ml, debido a que se trataba de una prueba a escala de laboratorio de mucho ingenio pasando desde modelos tridimensionales en AUTOCAD (Figura 2:1, Figura 2:2, Figura 2:3) hasta modelos simples en material de acrílico. (Chang, I. S. 2011).

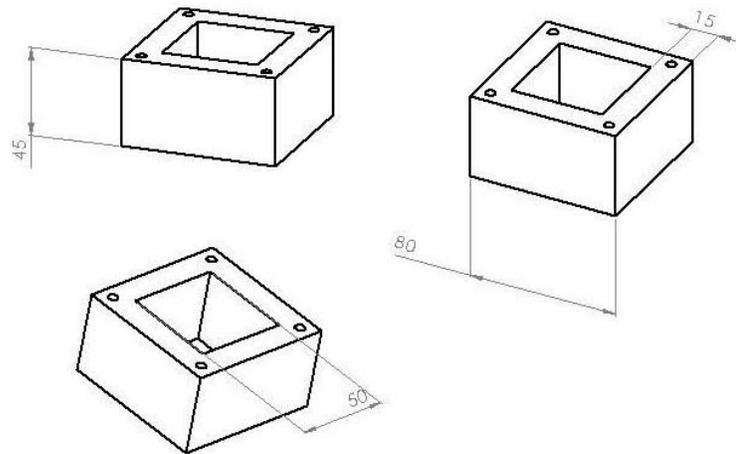


Figura 2:1 Planos de las celdas de combustible microbiano cámara anódica
Realizado por: Ríos L, S. 2016

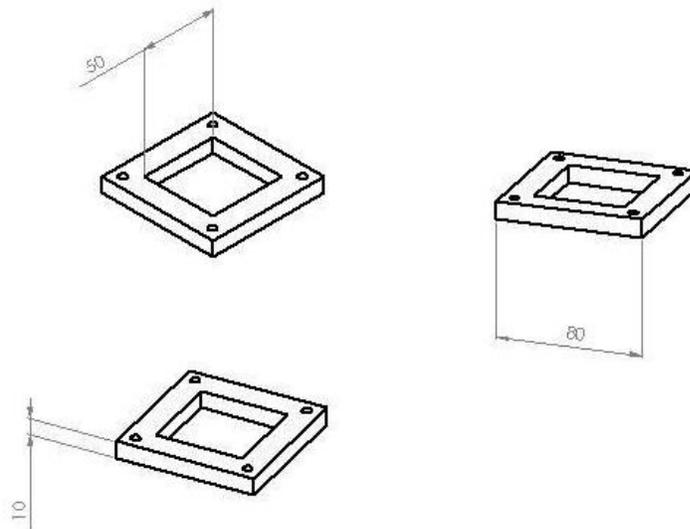


Figura 2:2 Planos de las celdas de combustible microbiano cámara del cátodo
 Realizado por: Ríos L, S. 2016

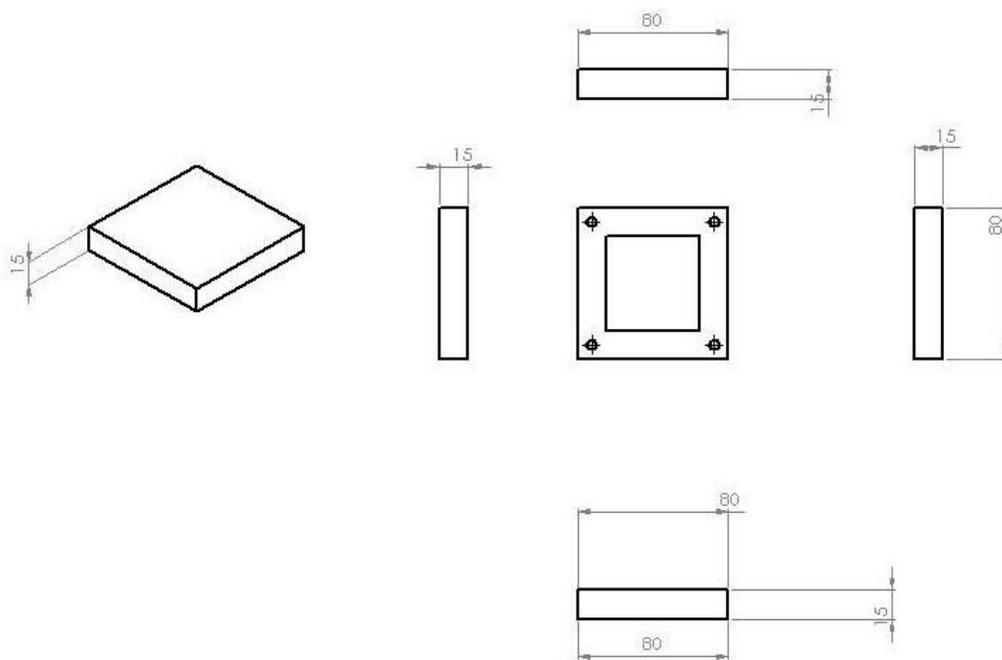


Figura 2:3 Planos de las celdas de combustible microbiano vista superficial
 Realizado por: Ríos L, S. 2016

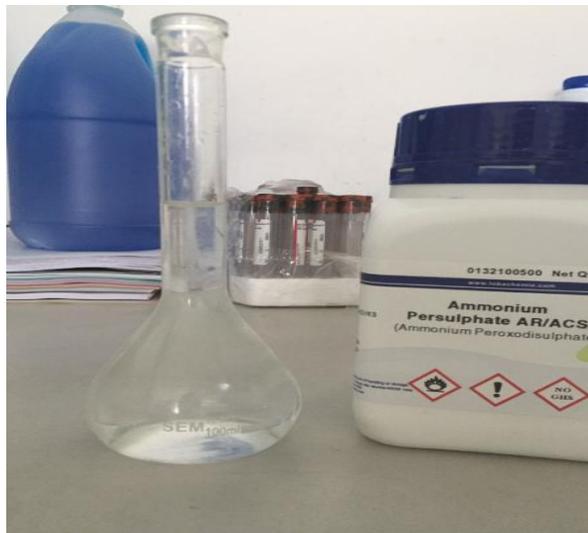
Puertos de entrada y salida se instalaron con el fin de alimentar y purgar los gases, respectivamente; una membrana de intercambio catiónico (Nafion), debido a que presenta mayor capacidad de intercambio. La cámara de ánodo y el cátodo se separa por papel de celofán. El ánodo y cátodo de

electrodos fue pre tratada antes de ser utilizado en el CCMs con el fin de mejorar la formación de biopelículas. (Hsieh, M. C., & Chung, Y. C. 2014).

2.2.4 Pretratamiento De Las Membranas De Intercambio Catiónico:

La membrana del ánodo de electrodos tuvo un pretratamiento antes de ser utilizado en las CCMs con el fin de mejorar la formación de biopelículas en la superficie de la misma. Primero las membranas fueron remojadas en acetona durante toda la noche y se lavó por 5 veces en agua destilada o desionizada; para su posterior utilización fue necesario que estén secas, los electrodos tuvieron que ser remojados en peroxidisulfato de amonio (200 g / L) y ácido sulfúrico concentrado (100 ml / L) durante 15 minutos; luego, se calienta electrodos durante 30 minutos en un horno de mufla a 450 ° C .

El electrodo de cátodo debió empaparse en agua durante la noche desionizada con el fin de eliminar las impurezas. (Feng, Y., Yang, Q., Wang, X., & Logan, B. E. 2010).



Fotografía 2-4 Pretratamiento de membranas de fibra de carbono

Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-5 Pretratamiento de la membrana de Fibra de carbono
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-6 Esterilización de membranas de fibra de carbono
Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.5 Campos magnéticos:

Se pesó 35 gr de estiércol de ganado vacuno en una balanza analítica, a continuación se codifican las celdas de acuerdo a las diferentes dosis de campo magnético que se les va a dar con su respectiva celda de repetición. El primer tratamiento y dosis inicial para la celda 1 fue de 0,3 Gauss durante 5 minutos, el segundo tratamiento correspondiente a la celda 2 fue de 0,7 Gauss con su

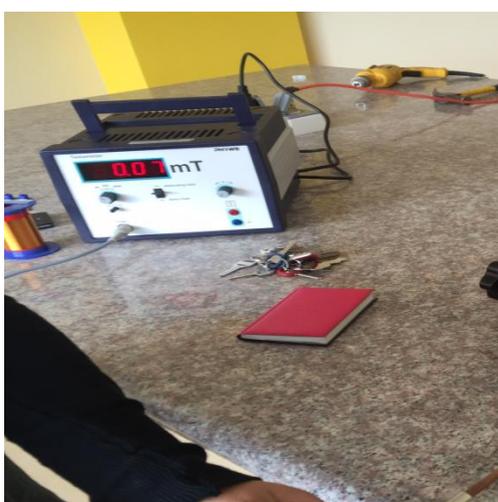
respectiva repetición durante 5 minutos, el tercer tratamiento celda 3 se refiere a la muestra que fue sometida a 0.3 Gauss, esta una vez armada la celda paso todo el tiempo de monitoreo sometida a campos magnéticos. El cuarto tratamiento es el blanco celda 4 que se utiliza para la comparación con los tratamientos experimentales de magnetismo; El equipo utilizado para la medición de gauss (teslameter PHYWE) (ANEXO A) los datos obtenidos fueron en militesla lo cual se hizo su correspondiente transformación a gauss. (Recalde, C. G., Echeverría, M. M., & Castro, R. P. 2013). (Fotografía 2-7) (Fotografía 2-8)

1 Tesla= 10.000 Gauss

Tabla 2-2 Diseño Experimental Global

Tratamiento	Campo Magnético	Codificación de MFC	Repetición
4	CSM	CSM Celda sin magnetizar	4.1
			4.2
3	0,3 G	CCM Celda campos magnéticos	3.1
			3.2
2	0,7 G	Celda	2.1
			2.2
1	0,3 G	Celda	1.1
			1.2

Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-7 Campos Magnéticos 0,07 Gauss
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-8 Campos Magnéticos 0,03 Gauss
Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.5.1 Montaje De La Celda De Combustible Microbiano Con Estiércol De Ganado Vacuno

Pruebas de Ensayo

Para iniciar el montaje, se realizó una prueba de fugas por lo que se llenó el equipo con agua y se realizaron los ajustes necesarios para garantizar que no se filtrará el contenido de la celda hacia el exterior ni viceversa. Se reforzó la seguridad con silicona casera sin propiedades anti fúngicas para que no afecte a las condiciones de las bacterias en el interior. Una vez realizadas las pruebas respectivas de ensayo se procedió al ensamblaje de la celda. Con las muestras de estiércol solido sometidas a campos magnéticos con su diferente dosis de campos magnéticos se los inserto en la cámara anódica de la celda. Una vez armadas las celdas con sus correspondientes tratamientos, se implementaron las conexiones eléctricas para cada cámara de ánodo (negativo) cátodo (positivo). (Talero Montealegre, P. A., & Cortázar Gómez, J. E. 2013). (Fotografía 2-9) (Fotografía 2-10) (Fotografía 2-11) (Fotografía 2-12)



Fotografía 2-9 Muestra Solida En La Cámara Anódica
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-10 Muestras Solida En La Cámara Anódica
Tratamientos
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-11 Ensamblaje de la Celda de Combustible Microbiano Agua Residual De Estiércol
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-12 Ensamblaje Total De La Celda
Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.5.2 Instalación de los sensores y transmisión de datos de las CCMs

Las conexiones de las celdas se determinaba por cada compartimento siendo dos conexiones por celda, formando de esta manera un circuito cerrado, fueron conectadas a una tarjeta de adquisición de datos (ANEXO B) y a la vez a un ordenador (Fotografía 2-13; Fotografía 2-14) para su registro inmediato de generación de bioelectricidad por cada celda con un tiempo de recepción de datos de 1 minuto, para el tratamiento 3 y 4 se utilizaron multímetros para su medición, esta fue en mili voltios (ANEXO C) (Logroño, W. N., 2015).



Fotografía 2-13 Tarjeta De Adquisición de Datos
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Fotografía 2-14 Instalación Eléctrica de la Celda
Combustible Microbiano

Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.5.3 *Requerimiento nutricional*

El montaje requería una alimentación semicontinua o por pulsos de glucosa que permitiera que el crecimiento de los microorganismos cultivados inicialmente se mantuviera y progresara óptimamente cada 24 horas.

A partir de la instalación del sistema se comenzaron a tomar los datos correspondientes a tensión y con base a esos datos se identificó que el sistema no podía resistir la alimentación con glucosa, sin embargo para obtener datos continuos y alcanzar el máximo de producción, el equipo requería ser alimentado con la misma agua residual de estiércol para lograr estabilizarse, se tomaron datos diariamente durante un periodo de 20 días por minuto. (Zheng, X., 2010).

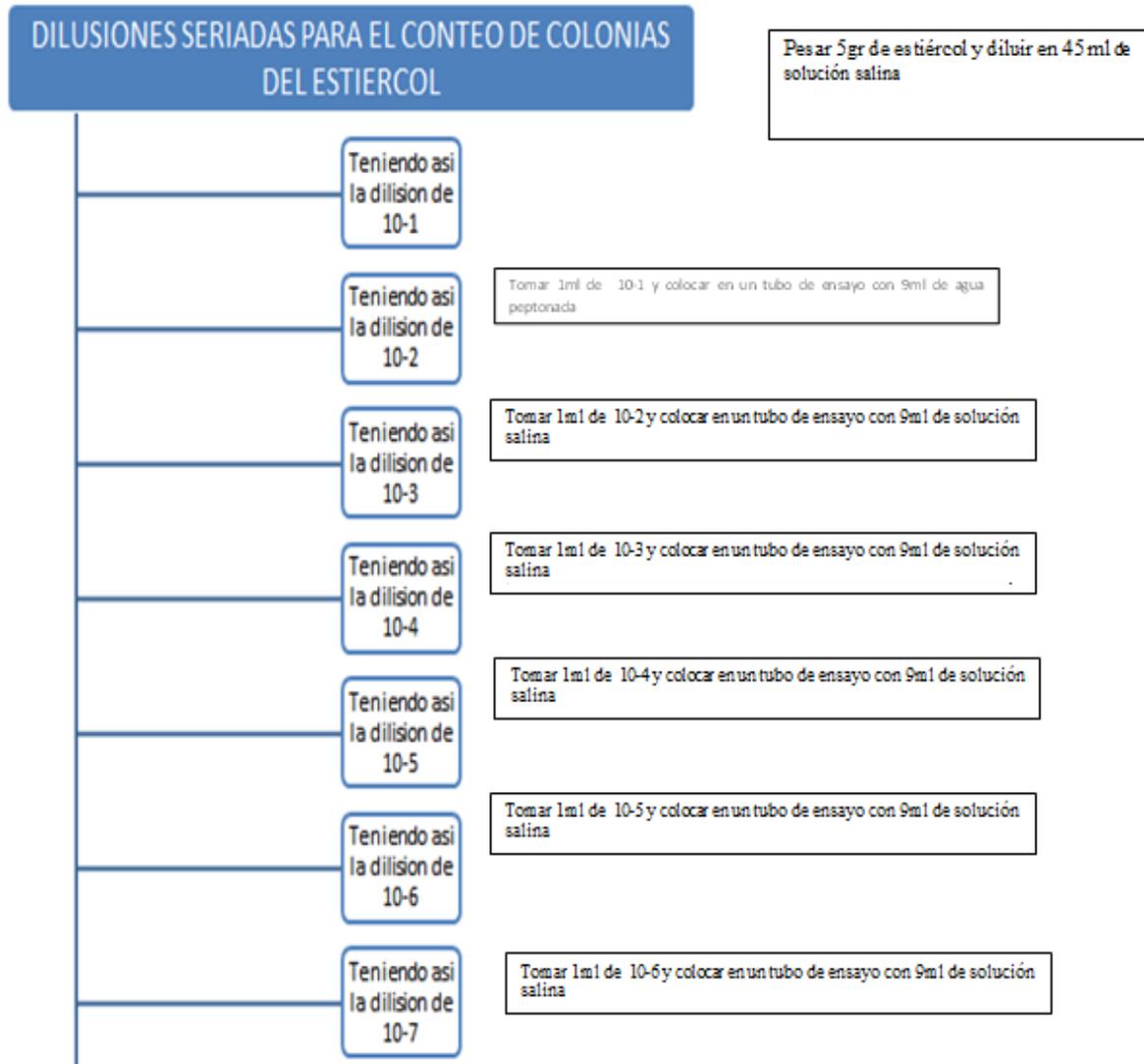
2.2.5.4 Desarrollo Del Biofilm

El experimento se llevó a cabo en condiciones de laboratorio la temperatura ambiental. En la primera etapa se sometieron las muestras a los campos electromagnéticos, en la segunda etapa (formación de Biofilm) se controlarán todos los CCMs hasta que se puede obtener el voltaje constante. En la revisión de la literatura se detalla que la formación del Biofilm ocurre a los 5 días de haber instalado la celda, esto se lo comprueba con una estabilización del voltaje en las celdas.

Las primeras 24 horas no se procedió a suministrar glucosa esperando su adaptación a su nuevo medio y expectativas en la generación de bioelectricidad sin ningún requerimiento nutricional. Cabe destacar que el estiércol en sí; una vez ya conformado el sistema CCMs poseía de una cierta cantidad de energía el cual nos ayudó a tener y registrar una respuesta antes-después; asumiendo la capacidad oxido-reductiva del estiércol. En el laboratorio se pudo monitorear variables como temperatura y pH tratándose ya de un ambiente cerrado y aséptico; siendo este de un pH básico de 9 en un inicio y una temperatura de 25-28°C (You, J., I. 2015).

2.2.5.5 Técnica de diluciones seriadas

Esta técnica permite tener en dilución los microorganismos que serán sembrados en las placas Petri.



Fotografía 2-15 Diluciones seriadas
Realizado por: Ríos L, S. 2016

La determinación del número de microorganismos en una muestra en relación a las colonias que forman las UFC (Unidades Formadoras de Colonias). Se emplean diluciones de 10^4 , 10^5 , 10^6 de una muestra concentrada para que cada colonia formada provenga de un solo microorganismo

aunque algunas agrupaciones no pueden ser separadas por las diluciones. Se utilizaron principalmente para la cuantificación de bacterias que están presentes en el estiércol.

- UFC ***/unidad de volumen o peso



Fotografía 2-16 Toma de muestras para diluciones
Realizado por: Ríos L, S. 2016

El agua de lavado de estiércol de ganado vacuno que se suministró en las celdas, para determinar la presencia de microorganismos que causen algún sinergismo, mutualismo o comensalismo, tomando 5 ml de agua residual de estiércol de vaca se mezcló con 45 ml de solución salina, procediendo a hacer las diluciones respectivas, el medio de cultivo fue en agar nutritivo PCA. (Zheng, X., 2010). (Fotografía 2-16) (Fotografía 2-17)



Fotografía 2-17 Diluciones para el cultivo
Realizado por: Ríos L, S. 2016



Figura 2:4 Cultivo microbiano en cajas petri con distintas diluciones

Realizado por: Ríos L, S. 2016

A partir del día tres en donde se obtuvo un registro de conteo de 24 y 72 horas considerando aumentar diluciones para el caso del tratamiento dos y tres (celda 2, celda 3) que casualmente generaban mayor cantidad de energía con respecto al tratamiento uno (celda 1); el tratamiento cuatro (celda 4) en la que no se suministraba campos magnéticos, las diluciones fueron desde 10^{-1} hasta 10^{-6} . Las siembras correspondientes fueron incubadas a una temperatura de 25-35°C con un conteo realizado cada 24 y 72 horas respectivamente.

2.2.6 *Materiales Experimentales*

Los materiales que se utilizó en esta investigación tanto en campo para el muestreo, como para la instalación, se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 2-3: Materiales para el muestreo

MÉTODO EN QUE SE USA	MATERIAL	CANTIDAD
Muestreo de estiércol para las celdas de combustible microbiano (CCMs)	Recipientes estériles	4
	fundas	10
	guantes	2
Instalación de las celdas de combustible microbiano (CCMs)	cajas de acrílico	6
	fibra de carbono 10cm x5cm	12
	cable de timbre 20cm	12
	lagartos de conexión	12

Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.2.7 *Materiales De Laboratorio*

Los materiales que se utilizó en esta investigación para el análisis microbiológico se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 2-4: Materiales utilizados en el laboratorio

MATERIAL	REACTIVOS	SUSTANCIAS	EQUIPOS
Algodón	Agar Nutritivo PCA	Agua destilada	autoclave
Cajas Petri		alcohol	Balanza analítica
Espátula			Balanza analítica
Erlenmeyer 250 MI			Cámara de flujo laminar
Erlenmeyer 100 MI			Estufa de incubación
fundas			Incubadora Memmert
Gradillas			
Mechero			
Micropipeta variable 100- 1000 micro			
Papel aluminio			

Parafina			
Pipeta de 1ml			
Probeta de 250 ml			
Puntas Volumétricas			
Tubos de ensayo			
Vaso de precipitación 10 ml			
Vaso de precipitación 250 ml			
vaso de precipitación 500 ml			

Realizado por: Ríos L, S. 2016

2.3 Planteamiento De La Hipótesis

2.3.1 *Hipótesis General:*

El estiércol de ganado vacuno tiene consorcios bacterianos capaces de producir bioelectricidad en celdas de combustible microbiano (CCMs)

2.5.2 *Hipótesis Estadística:*

Los Tratamientos inducidos de campos magnéticos afectan a la producción de bioelectricidad en una Celda de Combustible Microbiana.

Por consecuencia:

$$H_0: \delta MFC1 = \delta MFC2 = \delta MFC3 = \delta MFC4.$$

Las varianzas de los niveles de producción de bioelectricidad son las mismas

$$H_a: \text{No todas las varianzas son iguales.}$$

Dónde:

$\delta CMFC1$ = Celdas de Combustibles microbianas inducidas a diferentes dosis de campos magnéticos

Variables dependientes: Generación de Bioelectricidad.

Variables independientes: Campos magnéticos.

CAPITULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis, interpretación y discusión de resultados

3.1.1 Análisis de pruebas de ensayo

Para esta investigación se realizó cuatro tratamientos con una repetición en cada uno, en la que cada tratamiento corresponde a una dosis de campo magnético. En la tabla se aprecia los valores y codificación de cada uno de los tratamientos para las celdas de combustible microbiana

Así tenemos:

Tabla 3-1 Diseño experimental global

Tratamiento	Campo Magnético	Codificación de CCMs	Tiempo	Repetición
4	CSM	CSM	-	4.1
		Celda sin magnetizar		4.2
3	0.3 G	CCM	20 días	3.1
		Celda campos magnéticos		3.2
2	0,7 G	Celda	5 minutos	2.1
				2.2
1	0,3 G	Celda	5 minutos	1.1
				1.2

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tomando en cuenta los datos obtenidos en el pre ensayo para conocer el volumen necesario de agua de saturación en la celda, se efectuó una relación directa conociendo la cantidad de agua residual de estiércol necesaria para el suministro en las celdas respectivamente en relación con la cantidad de estiércol solido (Recalde, C. 2013).

3.1.2 Caracterización Física Química del Estiércol de Ganado Vacuno

La caracterización física química del estiércol de ganado vacuno; presenta un análisis de 31.1% materia orgánica, pH 9 y los cationes correspondientes que fueron interpretados en conjunto; Es así que se obtuvo; valores de fósforo de 1.20%, Potasio 1.51%, Calcio 3.21 %, Magnesio 0.53%, y Humedad 25.5%.

3.1.3 Recuento Inicial Microbiológico:

El conteo microbiológico inicial estaba sujeto al número de colonias presentes desde 10^{-1} hasta 10^{-6} para cada una de las celdas. 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 estiércol; sin haber suministrado agua residual de estiércol. (ANEXO E)

3.1.3.1 Conteo a las 24 horas

Tabla 3-2: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10^{-1}	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas de un ϕ de 5mm
10^{-2}	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10^{-3}	Masa bacteriana	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10^{-4}	323	color crema, redonda, tamaño variado
10^{-5}	42	color crema, redonda, de tamaño variado
10^{-6}	5	color crema, redonda, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-3: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10^{-1}	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas de un ϕ de 5mm

10 ⁻²	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	Masa bacteriana	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	696	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁵	75	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁶	6	color crema, redonda, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-4: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos)
24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas de un Φ de 5mm
10 ⁻²	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	Masa bacteriana	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	1059	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁵	105	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁶	13	color crema, redonda, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-5: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos)
24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas de un Φ de 5mm
10 ⁻²	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	Masa bacteriana	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	330	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁵	120	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁶	5	color crema, redonda, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Los microorganismos después de 24 horas no asimilan la glucosa presente en el nuevo ambiente de la celda. Los voltajes de energía empezaron a caer en el día 2 y 3 por lo que se suspendió la

alimentación con glucosa, se inyectó la misma agua residual de estiércol como fuente de alimentación para los microorganismos. En los conteos iniciales se puede observar que en el tratamiento tres (celda 3) en las primeras 24 horas, existió el mayor número de colonias en comparación con las otras muestras (Tabla 3-4). Las muestras que se encuentran sometidas a campos magnéticos presentan mayor número de formación de colonias.

3.1.3.2 *Conteo a las 72 horas:*

Tabla 3-6: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	72	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	50	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	12	color crema, redondas, pequeña

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-7: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	41	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	110	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	13	color crema, redondas, pequeña

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-8: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magnéticos) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	71	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	132	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	10	color crema, redondas, pequeña

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-9: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos)
72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻⁴	45	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	105	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻⁶	15	color crema, redondas, pequeña

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Ser realizo conteos después de 72 horas para ver cómo influyen los campos magnéticos en los microorganismos ya que después de este tiempo, se pierde el efecto del magnetismo. Hubo un crecimiento proporcional de poblaciones bacterianas en todas las muestras.

3.1.4 Recuento final de las comunidades bacterianas

Tabla 3-10: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	21	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻²	36	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	90	color crema, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	72	No hay crecimiento
10 ⁻⁵	0	No hay crecimiento
10 ⁻⁶	0	No hay crecimiento

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-11: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	14	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻²	7	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻³	8	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	0	No hay crecimiento
10 ⁻⁵	0	No hay crecimiento
10 ⁻⁶	0	No hay crecimiento

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-12: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos)
24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻²	Masa bacteriana	Color crema, redondas.
10 ⁻³	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	75	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	133	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁶	9	color crema, redondas, pequeñas

Fuente: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-13: Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magneticos)
24 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeña
10 ⁻²	Masa bacteriana	color crema, redondas,
10 ⁻³	Masa bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	310	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁵	122	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻⁶	15	color crema, redondas, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

En las primeras 24 horas se puede observar que hubo pocas poblaciones bacterianas, siendo así que la muestra que pertenece al tratamiento 4 CSM (celda sin campos magnéticos) posee más poblaciones en comparación a las demás muestras magnetizadas.

3.1.4.1 *Conteo a las 72 horas*

Tabla 3-14 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 1 (celda 1) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻²	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻³	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁴	Masa bacteriana	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁵	33	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁶	5	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-15 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 2 (celda 2) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa Bacteriana	color marrón rojizo, redondas, pequeñas
10 ⁻²	Masa Bacteriana	color marrón rojizo, redondas, pequeñas
10 ⁻³	Masa Bacteriana	color marrón rojizo, redondas, pequeñas
10 ⁻⁴	Masa Bacteriana	color marrón rojizo, redondas, pequeñas
10 ⁻⁵	0	No hay crecimiento
10 ⁻⁶	0	No hay crecimiento

Realizado por: Ríos L, S. 2016ente: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-16 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 3 CCM (celda con campos magneticos) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa Bacteriana	color crema, redondas, pequeñas

10 ⁻²	Masa Bacteriana	color crema, redondas, pequeñas
10 ⁻³	235	color crema marrón, redondas, de mayor tamaño que la dilución anterior
10 ⁻⁴	70	color crema, redonda, tamaño grande
10 ⁻⁵	50	color crema, redonda, de tamaño variado
10 ⁻⁶	29	color crema, redonda, pequeñas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-17 Conteo de colonias bacterianas del tratamiento 4 CSM (celda sin campos magnéticos) 72 horas

Dilución	# UFC en caja	Observaciones
10 ⁻¹	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻²	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻³	Masa bacteriana	color verde, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁴	Masa bacteriana	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁵	33	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas
10 ⁻⁶	5	color verde y marrón, redondas, pequeñas, medianas

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Después de las 72 horas de incubación, en el tratamiento 4 CSM (celda sin campos magnéticos), en las primeras diluciones se puede apreciar que las bacterias poseen un color verdoso amarillento en comparación a las muestras magnetizadas, con un color crema con pigmentaciones marrón, los campos magnéticos están incidiendo en la morfología, están alterando su fisiología.

3.1.5 Producción de Bioelectricidad

Se realizó un registro de manera automática en el tratamiento 1, 2 (celdas 1, 2) con sus respectivas repeticiones, mientras que el tratamiento 3 y 4 (celda 3, 4) se lo realizó manualmente con multímetros (ANEXOS A, B) de la energía que se generó en cada una de las celdas para respaldar los datos obtenidos a partir del sensor utilizado; (Tabla 3-23) muestra los datos de máximos, promedios y mínimos con relación a las concentraciones antes del suministro de agua residual de estiércol.

De las matrices de datos presentadas en los (ANEXOS F). Se realizó una modificación a las matrices de C1.1, C1.2, C2.1, C2.2, C3.1, C3.2, C4.1, C4.2; aumentando los datos faltantes para hacer las gráficas, debido a los errores logísticos en la recolección de los datos de bioelectricidad, con el fin de observar el comportamiento bioeléctrico de cada tratamiento.

La prueba de Tukey del análisis global, mostró que la producción de bioelectricidad es estadísticamente diferente respecto a la cantidad de campos magnéticos sometidos a las muestras de cada tratamiento.

Tabla 3-18: Matriz de datos por día

Días	Voltaje							
	C1.1	C1.2	C2.1	C2.2	CCM	CCM	CSM	CSM
1	34,582	67,681	9,054	18,844	268	267,7	101,1	101,1
2	17,74152	35,157	30,64	59,326	274	273,9	43,3	43,3
3	9,357683	1,4414	86,86	157,25	323	323	4,237	4,237
4	21,83136	0,0589	133,5	262,24	184	183,7	28,33	28,33
5	59,7473	131,35	119	235,51	127	126,9	3,377	3,377
6	3,421	8,5172	14,46	3,8042	105	104,7	289,5	289,5
7	1,297703	6,9347	28,87	68,3	46	46,03	24,94	24,94
8	7,448438	12,743	66,99	131,77	57	57	23	23
9	30,2386	9,4161	96,26	194,4	57	57	23	23
10	24,6439	6,0862	89,7	193,05	57	57	23	23
11	4,401389	11,8	95,04	209,75	57	57	23	23
12	3,16857	14,753	127,2	260,86	57	57	23	23
13	1,28325	20,131	31,11	71,272	57	57	23	23
14	1,581432	17,28	8,078	22,643	57	57	23	23
15	8,605956	17,945	2,878	22,643	57	57	23	23
16	10,11346	18,782	3,926	2,468	57	57	23	23
17	8,429098	15,62	2,473	2,2396	57	57	23	23
18	6,148421	11,738	1,836	1,672	57	57	23	23
19	5,096986	9,4594	1,342	2,5698	57	57	23	23
20	6,719247	13,037	0,798	1,716	57	57	23	23

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Tabla 3-19 Análisis de Significancia De Efectos Inter-Sujetos

Cuadro 1: F.V	S.C.	Gl	CM	F	p-valor
REPETICION	0,04	1	0,04	19,85	<0,0001
DIA	78188,72	19	4115,2	1901371,94	<0,0001
TRATAMIENTO	289542,99	3	96514,33	44593174,9	<0,0001
DIA*TRATAMIENTO	395926,75	57	6946,08	3209346,36	<0,0001
Error	0,17	79	0,0022		
Total	763658,66	159			

Realizado por: Ríos L, S. 2016

Se hizo dos repeticiones por cada tratamiento teniendo un total de seis celdas; la (Tabla 3-19) indica que por cada repetición a un grado de libertad 1 se obtuvo un nivel de significancia $< 0,05$ el cual indica que los datos a nivel de réplica son altamente significativos. Tomando en cuenta los números de días de estudio que fueron 20 se detalla que con un grado de libertad de 19, se tiene un nivel de significancia $< 0,05$ mencionándonos de igual manera que los datos para el nivel día de estudio fueron altamente significativos

Los tratamientos fueron 4 con un grado de libertad de 3, se obtuvo un nivel de significancia $< 0,05$ los datos para nivel de tratamiento fueron altamente significativos. Los días por los tratamientos de estudio con un grado de libertad de 57, se tiene un nivel de significancia $< 0,05$, en el cual indica que los datos a nivel de día por tratamiento son altamente significativos.

Tabla 3-20 Análisis de Resultados de Medias por día

DIA	MEDIAS	E.E
7	17,73 8 0,02	A
12	19,97 8 0,02	B
11	19,98 8 0,02	B
8	19,98 8 0,02	B
9	19,98 8 0,03	B
10	19,98 8 0,04	B
13	19,99 8 0,02	B
14	20,00 8 0,02	B
16	20,00 8 0,02	B
17	20,00 8 0,02	B
20	20,00 8 0,02	B
15	20,00 8 0,02	B

18	20,00	8 0,02	B
19	20,00	8 0,02	B
5	30,83	8 0,02	C
4	38,80	8 0,02	D
1	41,64	8 0,02	E
2	57,64	8 0,02	F
3	81,79	8 0,02	G
6	98,53	8 0,02	H

Realizado por: Ríos L, S. 2016

En el análisis de medias por días (Tabla 3-20), nos indica que en el día 7 fue donde hubo la menor producción de energía de todos los tratamientos de estudio. En el día 6 se registró la mayor producción de energía con 98.53 milivoltios.

Tabla 3-21 Análisis De Resultados Comparación de Medias Entre Los Tratamientos

TRATAMIENTO	MEDIAS	E.E
2	0,05	A
1	0,01	B
4	22,07	C
3	103,35	D

Realizado por: Ríos L, S. 2016

En la (Tabla 3-21), se realizó un análisis de medias por tratamiento, en el que se describe el tratamiento que tuvo más generación de energía durante los 20 días de monitoreo; en el cual, el tratamiento de la celda 3 CCM (celda con campos magnéticos) fue el que obtuvo mayor generación de energía en comparación a los demás.

Tabla 3-22 Análisis de Resultados de Medias por día y Tratamiento

Día	Tratamiento	Medias	E. E
1	4	101,14	A
2	4	43,3	B
4	4	28,33	C
5	4	3,38	D

4	2	0,13	E
12	2	0,13	E
5	2	0,12	E
9	2	1,1	E
11	2	1,1	E
10	2	0,09	E
3	2	0,09	E
8	2	0,07	E
5	1	0,06	E
1	1	0,03	E
13	2	0,03	E
2	2	0,03	E
7	2	0,03	E
4	1	0,02	E
2	1	0,02	E
6	2	0,01	E
16	1	0,01	E
1	2	0,01	E
15	1	0,01	E
17	1	0,01	E
14	2	0,01	E
8	1	0,01	E
20	1	0,01	E
18	1	0,01	E
19	1	0,01	E
6	1	0,00034	E
12	1	0,00032	E
14	1	0,00013	E
7	1	0,00008	E
13	1	0,00013	E
20	2	0,00008	E
19	2	0,00013	E
18	2	0,00018	E
17	2	0,00025	E
15	2	0,00029	E
16	2	0,00039	E
11	1	0,00044	E
3	1	0,01	E
10	1	0,02	E
9	1	0,03	E

3	4	4,24	F
8	4	23	G
14	4	23	G
16	4	23	G
19	4	23	G
10	4	23	G
18	4	23	G
17	4	23	G
13	4	23	G
12	4	23	G
9	4	23	G
15	4	23	G
11	4	23	G
20	4	24,94	G
7	4	46,03	H
7	3	46,03	I
20	3	57	J
15	3	57	J
9	3	57	J
14	3	57	J
11	3	57	J
10	3	57	J
12	3	57	J
13	3	57	J
16	3	57	J
8	3	57	J
19	3	57	J
18	3	57	J
17	3	57	J
6	3	104,7	K
5	3	126,88	L
4	3	183,7	M
1	3	267,74	N
2	3	273,9	O
6	4	289,46	P
3	3	323	Q

Realizado por: Ríos L, S. 2016

En el (Tabla 3-22) se describe el día por el tratamiento en el que se generó más voltaje de cada una de las celdas. Obteniendo así que en el día 1 el tratamiento 4 CSM (celda sin campos magnéticos)

es el que género menor cantidad de energía respecto a los demás. El día 3 fue en el que más energía se produjo dentro del tratamiento 3 CCM (celda con campos magnéticos).

Tabla 3-23: Valores Máximos Y mínimos Registrados En Cada Tratamiento

	C1	C2	CCM	CSM
Valores Max	59,7473035	133,537954	46,0250174	101,135684
Valores Min	30,2386009	3,92576869	323,002778	289,455872

Realizado por: Ríos L, S. 2016

3.1.6 *Discusión de Resultados:*

Los tratamientos probados fueron cuatro, después de agregar glucosa a las 24 horas de instalación de las celdas, su energía eléctrica disminuyó notablemente, por lo que su forma de alimentación fue cambiada el agua residual de estiércol en la celda,. En las investigaciones realizadas con la utilización residuos orgánicos de los suelos AMAZONIA, y la Comunidad de Pichan Central-ANDES el máximo voltaje es de 500 mV milivoltios (Vintimilla, L., & Nelson, W. 2014), mientras que para la presente investigación con estiércol de ganado vacuno, la celda con CCM (celda con campos magnéticos) su pico más alto fue 323,00 milivoltios (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Durante las fases de adaptación de las bacterias existió un registro de voltaje irregular para cada uno de los tratamientos, durante el día 6 y 7 sucedió su fase estacionaria, donde se puede ver que en los tratamientos 3 y 4 de las celdas (CCM, CSM) hubo un requerimiento excesivo de nutrientes en comparación a las otras celdas.

Los campos magnéticos influyen en el crecimiento bacteriano afectando así su morfología y alterando su fisiología. (Recalde, C. 2013). Los conteos iniciales que se realizó demuestran que en el tratamiento dos (celda 2) que fue sometida a campos magnéticos de 0,7 Gauss, hubo mayor crecimiento de poblaciones microbianas a diferencia de los demás tratamientos, los campos magnéticos influyen en el metabolismo de las bacterias acelerando la formación de colonias.

El tratamiento tres CCM (celda con campos magnéticos) su máximo valor fue de 289.45 milivoltios; el tratamiento dos (celda 2) con 0,7 gauss la cual fue la que tuvo el valor mínimo en producción de bioelectricidad de 3.9257 milivoltios, este tratamiento presento valores altos en comparación al tratamiento uno y cuatro. El tratamiento uno, (celda 1) fue el que más bajo voltaje durante todo el tiempo de estudio. El tratamiento 4 CSM (celda sin campo magnético) tuvo por un día una alta producción de bioelectricidad, no permaneció estable por lo que en el transcurso de los días su producción fue una de las más bajas.

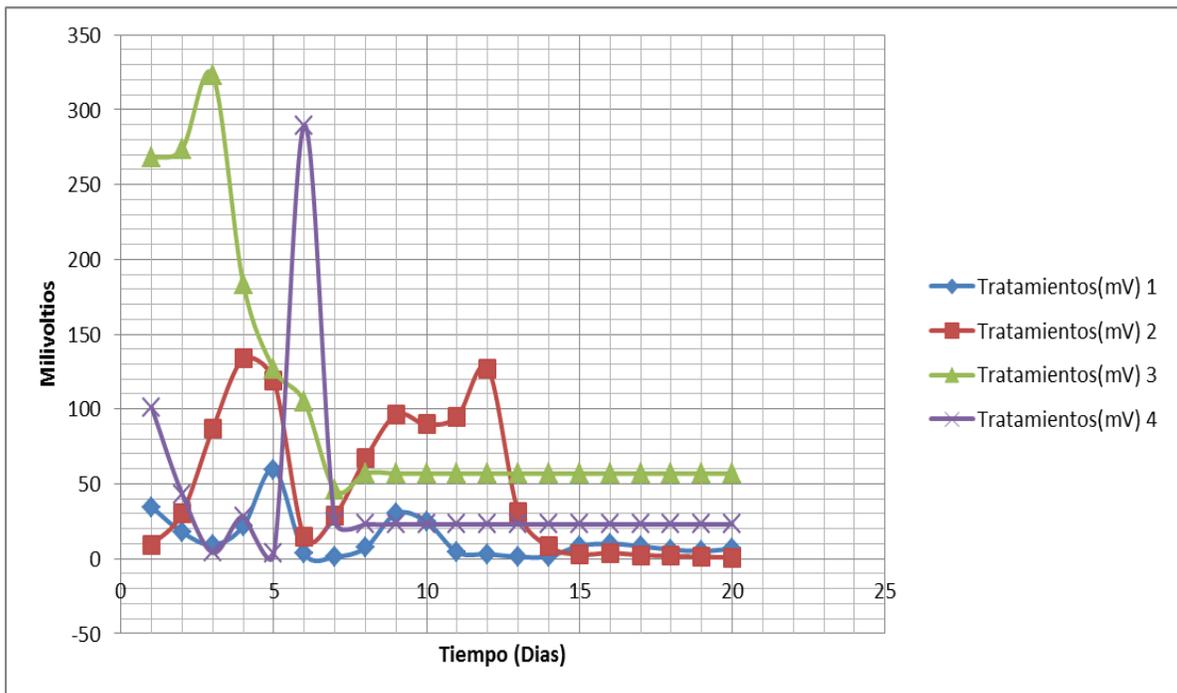


Gráfico 3-1 Análisis Electricidad Total Producida Durante 20 Días
Realizado por: Ríos L, S. 2016

El (Gráfico 3-1), representa la relación del tiempo de monitoreo, y la producción de energía en milivoltios en los diferentes tratamientos que se les dio a las celdas.

3.2 Prueba De Hipótesis

3.2.1 Hipótesis Estadística Causal Multivariada

Relación entre una variable independiente (Campos Magnéticos) con respecto a una variable dependiente (Generación de Bioelectricidad milivoltios)

H₀: $\delta\text{MFC1} = \delta\text{MFC2} = \delta\text{MFC3} = \delta\text{MFC4}$.

Las varianzas de los niveles de producción de bioelectricidad son las mismas

H_a: No todas las varianzas son iguales.

La hipótesis planteada es nula nos menciona que los diferentes tratamientos de campos magnéticos que se les dio a las CCMs si afectaron a la producción de electricidad. Mientras que la hipótesis alterna se acepta, nos dice todo lo contrario. De esa manera sabremos estadísticamente si existe una correlación entre las variables planteadas, por lo tanto los niveles de varianza de producción no son iguales y diferentes a un nivel de confiabilidad de 95 %, el nivel de significancia fue $< 0,05$

CONCLUSIONES

- Se instaló seis CCMs con capacidad volumétrica de 125 ml. Los tratamientos probados fueron cuatro, después de agregar glucosa a las 24 horas de instalación de las celdas, su energía eléctrica disminuyó, su forma de alimentación fue suministrada a través de agua residual de estiércol con el que se diluyó la muestra sólida en la celda. La potencia máxima que se logró alcanzar en el tratamiento cuatro CCM (celda con campos magnéticos) fue 323.00 milivoltios.
- Los microorganismos tratados con campos magnéticos van perdiendo la inercia magnética del estímulo al disminuir la energía asociada al momento magnético inducido. La influencia en el estiércol, altera la morfología y fisiología de las bacterias, existiendo un aceleramiento en el crecimiento y formación de colonias en las celdas. El tratamiento cuatro CCM (celda con campos magnéticos) tuvo mayor producción de energía en comparación de los otros tratamientos 323.00 milivoltios. El estiércol de ganado vacuno parece tener un potencial limitado para servir como materia prima para la producción de electricidad a través de los CCMs.
- Los resultados altos del conteo microbiológico pueden deberse a la adición al sometimiento a campos magnéticos que se les dio al inicio a las muestras con sus diferentes dosis, y su relación con la generación de bioelectricidad. Considerando las condiciones de laboratorio se cuantificó principalmente microorganismos cultivables aeróbicos.

RECOMENDACIONES:

- El valor de este proyecto es la propuesta de innovación que plantea y la exploración de la misma. Justamente por esta naturaleza de carácter investigativa demanda que toda la experiencia sea reproducida, procurando un mejor monitoreo de las variables del sistema, a la vez que se aseguran las condiciones de operaciones deseadas. El error sistemático o aleatorio durante la marcha experimental puede ser reducido mediante la planificación detallada de la misma.
- Si se desea replicar este proyecto, se recomienda investigar nuevas membranas más económicas, con el fin de evaluar la capacidad de interacción de las bacterias con el medio aerobio por medio de la misma. También es posible investigar en otra forma de aprovechar los desechos celulíticos para alimentar el sistema de estiércol de ganado vacuno.
- Analizar la configuración de las celdas en series y en paralelo con la finalidad de aumentar la generación del voltaje para ser aprovechado en equipos electrónicos de bajo consumo de energía.
- Caracterizar las poblaciones microbianas que actúan en el compartimento anódico de la celda, utilizando técnicas moleculares obteniendo un consorcio o inóculo puro y de mejor desempeño. Para trabajar con especies específicas a partir de bacterias provenientes del estiércol de ganado vacuno y probar el desempeño en las CCMs.

BIBLIOGRAFIA:

- **ADAMKIEWICZ, V. W., etal.** Magnetic response in cultures of *Streptococcus mutans* ATCC-27607. *Experimental biology*, 1986, vol. 46, no 3, p. 127-132.
- **AKLUJKAR, Muktak, etal.** The genome sequence of *Geobacter metallireducens*: features of metabolism, physiology and regulation common and dissimilar to *Geobacter sulfurreducens*. *BMC microbiology*, 2009, vol. 9, no 1, p. 109. Disponible en:
<http://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-9-109>
- **Ali, H.,** Biodegradation of Synthetic Dyes – A Review, *Water Air and Soil Pollution*: 213 (1-4), 251-273 (2010). Disponible en
<http://link.springer.com/article/10.1007/s11270-010-0382-4>
- **AELTERMAN, Peter, etal.** Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, 2006, vol. 40, no 10, p. 3388-3394. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0525511>
- **AOKI, H., etal.** Effects of static magnetic fields on membrane permeability of a cultured cell line. *Research communications in chemical pathology and pharmacology*, 1990, vol. 69, no 1, p. 103-106. Disponible en:
<http://europepmc.org/abstract/med/2218064>
- **ARMAS C., Patricia A., & RAMÍREZ Y., Geovany G.** Generación de electricidad microbiana con Diferentes matrices orgánicas mediante celdas de combustibles. (Tesis pregrado).Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba Ecuador. 2014, pp. 20-47
- **ATLAS, R. y BARTHA, R.,** Ecología microbiana y microbiología ambiental., Madrid., España., PEARSON EDUCACIÓN.S.A., 2002.

- **BOND, Daniel R., et al.** Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 2002, vol. 295, no 5554, p. 483-485. Disponible en: <http://science.sciencemag.org/content/295/5554/483>
- **CASTILLO, F. y ROLDÁN, M.,** Bioenergética microbiana. *Biología Ambiental*, Madrid., España., s.edt., 2005., P.p., 65-93 Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA65&lpg=PA65&dq=Bioenerg%C3%A9tica+microbiana>.
- **CORREA, V., & Mas Gordi, J.** Microorganismos bioelectrogénicos. 2015. Disponible en http://ddd.uab.cat/pub/tfg/2015/143673/TFG_lissetdelavegacorrea.pdf
- **CHENG, Shaoan; LIU, Hong; LOGAN, Bruce E.** Increased power generation in a continuous flow MFC with advective flow through the porous anode and reduced electrode spacing. *Environmental science & technology*, 2006, vol. 40, no 7, p. 2426-2432. Disponible en : <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es051652w>
- **CHA, Jaehwan, et al.** Directly applicable microbial fuel cells in aeration tank for wastewater treatment. *Bioelectrochemistry*, 2010, vol. 78, no 1, p. 72-79. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es051652w>
- **CHAUDHURI, Swades K.; LOVLEY, Derek R.** Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature biotechnology*, 2003, vol. 21, no 10, p. 1229-1232. Disponible en: <http://www.nature.com/nbt/journal/v21/n10/full/nbt867.html>
- **COLLIS, C. S.; SEGAL, M. B.** Effects of pulsed electromagnetic fields on Na⁺ fluxes across stripped rabbit colon epithelium. *Journal of applied physiology*, 1988, vol. 65, no 1, p. 124-130. Disponible en: <http://jap.physiology.org/content/65/1/124.short>

- **DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue.** A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology advances*, 2007, vol. 25, no 5, p. 464-482. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975007000547>
- **ENG, YUJIE, et al.** Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, 2010, vol. 195, no 7, p. 1841-1844. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775309018321>
- **ESTEVE-NÚÑEZ, Abraham.** Bacterias productoras de electricidad. 2008. Disponible en:
<http://www.sem microbiologia.org/pdf/actualidad/45/Geobacter.pdf>
- **FALCÓN, Y OTROS.,** Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Mexico., 2009. VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras.
- **FENG, Chunhua, et al.** A dual-chamber microbial fuel cell with conductive film-modified anode and cathode and its application for the neutral electro-Fenton process. *Electrochimica Acta*, 2010, vol. 55, no 6, p. 2048-2054. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468609013942>
- **GALLEGOS, J.,** Aislamiento de microorganismos productores de enzimas., Manual de microbiología ambiental., Riobamba., Ecuador., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias., 2012., P.p., 1-10
- **HUANG, Yuelong; HE, Zhen; MANSFELD, Florian.** Performance of microbial fuel cells with and without Nafion solution as cathode binding agent. *Bioelectrochemistry*, 2010, vol. 79, no 2, p. 261-264. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567539410000654>
- **IEROPOULOS, Ioannis A., et al.** Comparative study of three types of microbial fuel cell. *Enzyme and microbial technology*, 2005, vol. 37, no 2, p. 238-245. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022905001092>

- **KIM, Nam Jun, et al.** Development of microbial fuel cells using *Proteus vulgaris*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2000, vol. 21, no 1, p. 44-48. Disponible en:
http://www.koreascience.or.kr/article/ArticleFullRecord.jsp?cn=JCGMCS_2000_v21n1_44
- **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*, 2005, vol. 71, no 10, p. 5983-5991. Disponible en:
<http://aem.asm.org/content/71/10/5983.full#5553>
- **LOGAN, Bruce E.; REGAN, John M.** Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *TRENDS in Microbiology*, 2006, vol. 14, no 12, p. 512-518. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X06002>
- **LOVLEY, Derek R.** Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction. *Microbiological reviews*, 1991, vol. 55, no 2, p. 259-287. Disponible en:
<http://mibr.asm.org/content/55/2/259.short#5966>
- **LOGAN, Bruce E.; REGAN, John M.** Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. *TRENDS in Microbiology*, 2006, vol. 14, no 12, p. 512-518. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X06002460>
- **LIU, Hong; RAMNARAYANAN, Ramanathan; LOGAN, Bruce E.** Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environmental science & technology*, 2004, vol. 38, no 7, p. 2281-2285. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es034923g>
- **MIN, Booki; CHENG, Shaoan; LOGAN, Bruce E.** Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water research*, 2005, vol. 39, no 9, p. 1675-1686. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004313540500062X>

- **NAM, Joo-Youn, et al.** Effects of organic loading rates on the continuous electricity generation from fermented wastewater using a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource technology*, 2010, vol. 101, no 1, p. S33-S37. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409003198>
- **NIEVES, José** .Bacteria. *Electricidad*. España. 2014. Disponible en:
<http://www.abc.es/ciencia/20140312/abci-descubren-bacteria-come-electricidad-201403121021.html> 2014/12/18
- **PADRINO, María Victoria Carbonell, et al.** Influencia de campos magneticos estacionarios de 125 mTy 250 mT en la germinacion de semillas de girasol. *Ingeniería de Recursos Naturales*, 2005, vol. 3, p. 34-40.
- **PANWAR, N. L.; KAUSHIK, S. C.; KOTHARI, Surendra.** Role of renewable energy sources in environmental protection: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011, vol. 15, no 3, p. 1513-1524. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032110004065>
- **PANT, Deepak, et al.** A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource technology*, 2010, vol. 101, no 6, p. 1533-1543. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409013595>
- **PARK, Doo Hyun; ZEIKUS, J. Gregory.** Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and bioengineering*, 2003, vol. 81, no 3, p. 348-355. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.10501/full>
- **PARK, D. H., et al.** Microbial utilization of electrically reduced neutral red as the sole electron donor for growth and metabolite production. *Applied and environmental microbiology*, 1999, vol. 65, no 7, p. 2912-2917. Disponible en:
<http://aem.asm.org/content/65/7/2912.short>

- **PANT, Deepak, et al.** A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource technology*, 2010, vol. 101, no 6, p. 1533-1543. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409013595>
- **POTHAKAMURY, Usha Rani; BARBOSA-CANOVAS, Gustavo V.; SWANSON, Barry G.** Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food technology*, 1993, vol. 47, no 12, p. 85-93. Disponible en:
<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=4080907>
- **POGGI, Héctor. Celdas de combustible microbiana.** 2. ed. Canadá. Chapter. 2010, pp. 123-129. Disponible en:
<http://www.viviendasustentable.com.mx/archivos/celdas.pdf> 2014/11/23
- **RECALDE, Celso G.; ECHEVERRÍA, Magdy M.; CASTRO, Rosa P.** Descomposición de materia orgánica con microorganismos benéficos magnetizados. *Información tecnológica*, 2013, vol. 24, no 6, p. 09-16.
- **REVELO, Dolly M.; HURTADO, Nelson H.; RUIZ, Jaime O.** Celdas de Combustible Microbianas (CCMs): Un Reto para la Remoción de Materia Orgánica y la Generación de Energía Eléctrica. *Información tecnológica*, 2013, vol. 24, no 6, p. 17-28.
- **ROSENBAUM, Miriam; SCHRÖDER, Uwe; SCHOLZ, Fritz.** In situ electrooxidation of photobiological hydrogen in a photobioelectrochemical fuel cell based on *Rhodobacter sphaeroides*. *Environmental science & technology*, 2005, vol. 39, no 16, p. 6328-6333. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0505447>
- **ROACH, J. Rust-Breathing Bacteria: Miracle.** *National Geographic News*, 2004, p. 1-7. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012321X2012000200011&script=sci_arttext&tlng=e

- **RUZIC, Romana; JERMAN, Igor; GOGALA, Nada.** Effects of weak low-frequency magnetic fields on spruce seed germination under acid conditions. *Canadian journal of forest research*, 1998, vol. 28, no 4, p. 609-616. Disponible en:
<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/x98-005#.VxaX-XozgXg>
- **SAVAL, Susana.** Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Pasado, presente y futuro. *Revista de la sociedad Mexicana Biotecnología y Bioingeniería*, 2012, p. 14-46.
- **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*, 2010, vol. 35, no 8, p. 3789-3797. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319910001138>
- **SHELOBOLINA, Evgenya S., etal.** *Geobacter pickeringii* sp. nov., *Geobacter argillaceus* sp. nov. And *Pelosinus fermentans* gen. nov., sp. nov., isolated from subsurface kaolin lenses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, vol. 57, no 1, p. 126-135. Disponible en:
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.64221-0>
- **STAMBOULI, A. Boudghene; TRAVERSA, E.** Solid oxide fuel cells (SOFCs): a review of an environmentally clean and efficient source of energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2002, vol. 6, no 5, p. 433-455. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136403210200014X>
- **STRAUB, Kristina L.; BUCHHOLZ-CLEVEN, B. E.** *Geobacter bremensis* sp. nov. and *Geobacter pelophilus* sp. nov., two dissimilatory ferric-iron-reducing bacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2001, vol. 51, no 5, p. 1805-1808. Disponible en:
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-51-5-1805>
- **TALERO MONTEALEGRE, Paola Alejandra, etal.** Evaluación operacional de una celda de combustible microbiana a escala laboratorio para la obtención de electricidad a partir de heces de cerdo y rumen de vaca. 2013. Tesis Doctoral.

- **VINTIMILLA, Logroño; NELSON, Washington.** Producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato para dos casos de estudio: Andes-Amazonía, Ecuador. 2014.
- **YOU, J., WALTER, X. A., GREENMAN, J., MELHUIH, C., & IEROPOULOS, I.** Stability and reliability of anodic biofilms under different feedstock conditions: Towards microbial fuel cell sensors. Sensing and Bio-Sensing Research. 2015 Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214180415300349>

ANEXOS

Anexos A: Teslámetro



Función y Aplicaciones:

Sensibilidad 10 micro T Para alterna y campos directos calibrado (hasta 1T) de salida analógica. Requerido sonda accesorios Hall, (13610-01) axial de la sonda Hall, tangencial (13610-02)

Objeto Y Características

El Teslámetro es adecuado para medir el flujo magnético densidad (inducción) segundo precisamente. Dos sondas pasillo están disponibles por separado y al menos una se requiere para su uso como sensor. Uno de ellos está especialmente diseñado para medir los campos en relación con su sonda de vástago en forma de barra (axial, n ° de pedido. 13610-01). Es adecuado para la medición de campos en el interior bobinas por ejemplo. El tallo es 30 cm de largo para permitir la medición mentos que deben tomarse fácilmente, incluso en el medio de bobinas largas. La segunda sonda mide campos perpendiculares a su eje (sonda tangencial, Ref. 13610-02), Que es extremadamente delgada y plana para mediciones en espacios de aire estrechas abajo a cerca de 1 mm. El medidor tiene 3 rangos de medición conmutable: 0-20 Tm (con una precisión de 0,01 monte) 0-200 Tm (precisión 0,1 monte) 0-1999 Tm (precisión 1 monte) El intervalo anterior 1 T es adecuado para una medición de la estimación del imán fuerte campos de CI. Una salida de la

grabadora incorporada (2V tensión continua de valor visualización final de cada intervalo de medición) permite una grabación conveniente del curso de la inducción por ejemplo para la observación de hysteresis curvas. Para la grabación, Los sistemas de medición asistido por ordenador (como PHYWE Cobra interface) son adecuados. Las constantes medidas de dispositivos, así como campos alternos. En ambos casos, la salida del registrador proporciona una tensión continua. Por campos constantes, el campo de particular ion puede ser identificado ya sea por la señal de la pantalla digital o por la polaridad de la tensión de suministrada desde la salida del registrador.

Datos Técnicos:

(typical for 25 °C)	
Operating temperature range	5–40 °C
Relative humidity	< 80 %
Measuring range	10 ⁻⁵ to 1999 mT
Accuracy (specified up to 1 T)	
Direct field	±2 %
Alternating field 50–500 Hz	±2 %
Alternating field 500–1000 Hz	±3 %
Material of the Hallsensors	GaAs, monocrystalline
Temperature coefficient (10–40 °C)	≤ 0.04 %/K
Limit frequency (measurement of alternating field)	5 kHz
Analog output	
Voltage range	0...±2 V
Calibration factor	1 mV/digit
Protection class	I
Connecting voltage (+6 % / -10 %)	see type plate
Mains frequency	50/60 Hz
Power consumption	10 VA
Mains fuse (5 mm x 20 mm)	see type plate
Case dimensions (W, H, D)	225 x 235 x 170 mm
Weight	approx. 3.75 kg
Hall probe, axial	
Probe length (without handle)	300 mm
Diameter of the stem	6 mm
Weight	approx. 0.38 kg
Hall probe, tangential	
Dimensions of the stem (without handle)	75 x 5 x 1 mm
Weight	approx. 0.20 kg

Anexos B: Dispositivo DAQ Multifunción USB-6008



- 8 entradas analógicas a los 12 o 14 bits, hasta 48 kS / s
- salidas analógicas de 12 bits, el software oportuna/ CMOS líneas digitales de E / S 12 TTLUna 32-bit, 5 MHz contador

Con las mejoras de ancho de banda recientes y las nuevas innovaciones de Nacional instruments, USB se ha convertido en un autobús núcleo de elección para aplicaciones de medición. El NI USB-6008 y USB-6009 son dispositivos DAQ de bajo coste con conectividad tornillo fácil y un pequeño factor de forma. Con conectividad USB plug-and-play, estos dispositivos son lo suficientemente simple para unas rápidas mediciones, pero lo suficientemente versátil para aplicaciones de medición más complejas.

Aplicación y Tecnología

El USB-6008 y USB-6009 son ideales para aplicaciones donde un bajo costo, factor de forma pequeño y la sencillez son esenciales. Los ejemplos incluyen los siguientes: la-rápida y fácil de datos de registro de datos del medio ambiente o de la tensión Académico laboratorio de la propiedad de uso-alumno de hardware de adquisición de datos para los cursos completamente interactivos basados en laboratorio (precios académicos disponibles. Visita la página de producto académica para detalles. Aplicaciones OEM como de E / S para sistemas embebidos.

Anexos C: Multímetro Digital Dt830b Silver



Voltaje en C.C: 1.000V

Voltaje en C.A: 750V

Corriente en C.C: 10A

Resistencia: 2000K?

Comprobador de diodos

Comprobador de transistores

Display: 3 1/2

Anexos D Oficio Laboratorio De Ciencias Biológicas

 "Saber para Ser" 

Riobamba, 02 de Marzo del 2016
Of. No. 045-CEAA-ESPOCH-2016

Ingeniero
Franklin Arcos
DECANO FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

Franklin Arcos
2/03/2016

Presente

De mi consideración

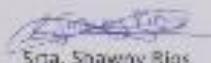
Reciba un cordial y atento saludo, a la vez deseándole éxito en sus delicadas funciones que muy apertadamente realiza cada día.

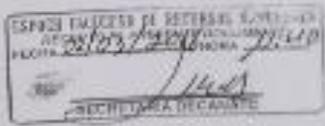
El motivo de la presente es para solicitar muy comedidamente el permiso correspondiente para utilizar las instalaciones y equipos del Laboratorio de Biotecnología; adicional la colaboración técnica de la responsable: Ing. Ana Canachi M.Sc. del Lab. Ciencias Biológicas- Fac. Recursos Naturales. Para el desarrollo de la investigación como proyecto de titulación denominado: "DESCOMPOSICION DE MATERIA ORGANICA Y PRODUCCION DE BIOELECTRICIDAD A PARTIR DE MICROORGANISMOS MAGNETIZADOS PROVENIENTES DE ESTIERCOL DE GANADO.", realizada por la Sra. Shanny Rios bajo la asesoría del Dr. Celso Recalde.

Por la favorable atención que pueda dar a la presente anticipa un sincero agradecimiento.

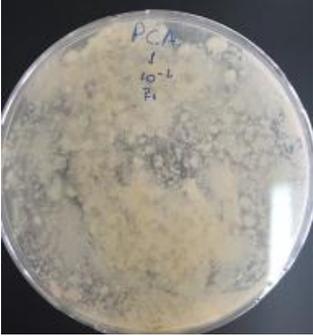
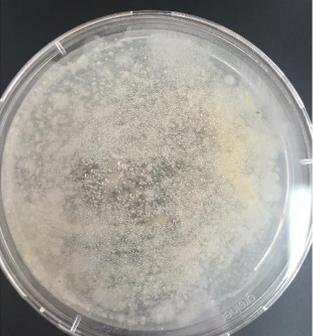
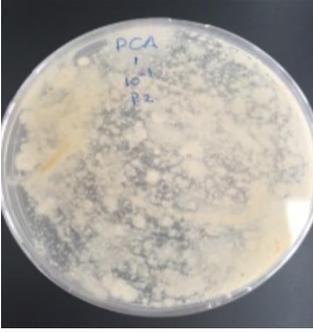
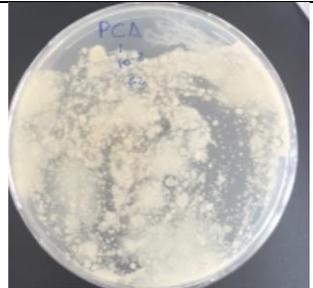
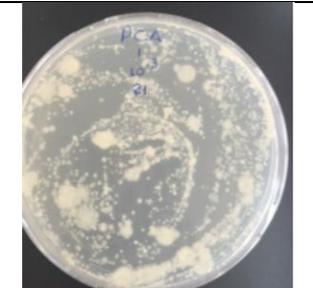
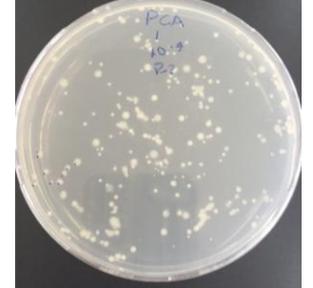
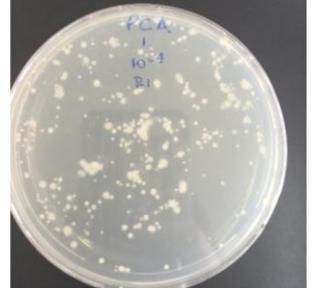
Atentamente,

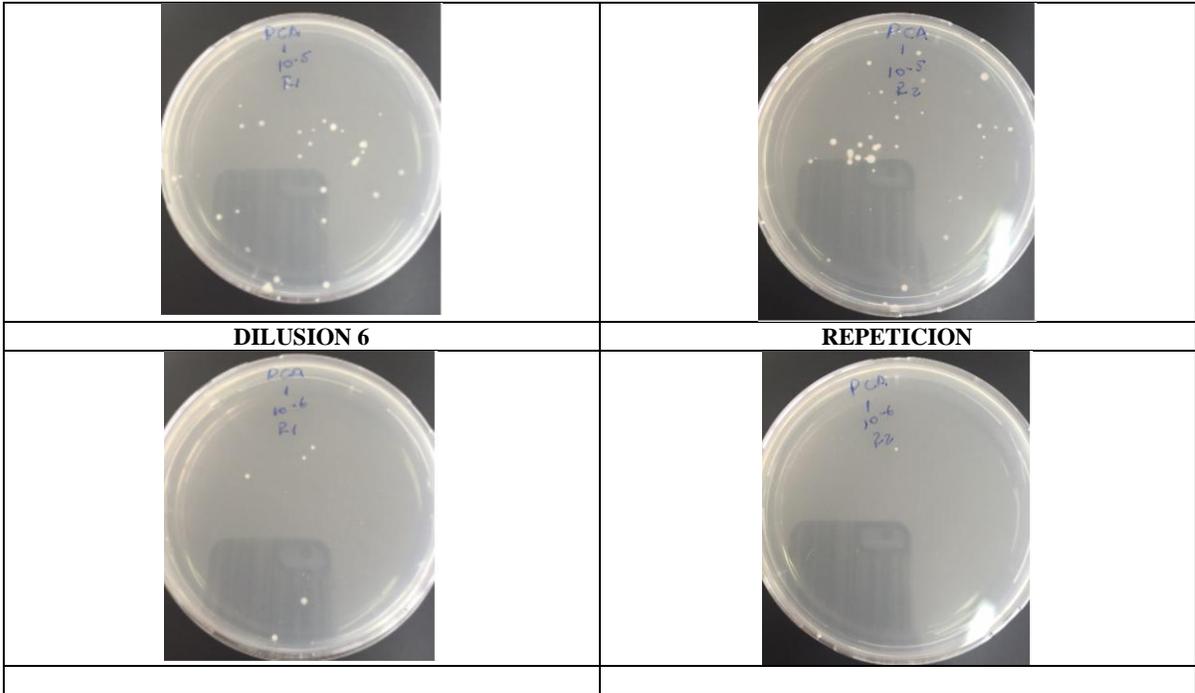

Dr. Celso Recalde
Presidente del Grupo de Energías
Alternativas y Ambiente


Sra. Shanny Rios
Tesisista

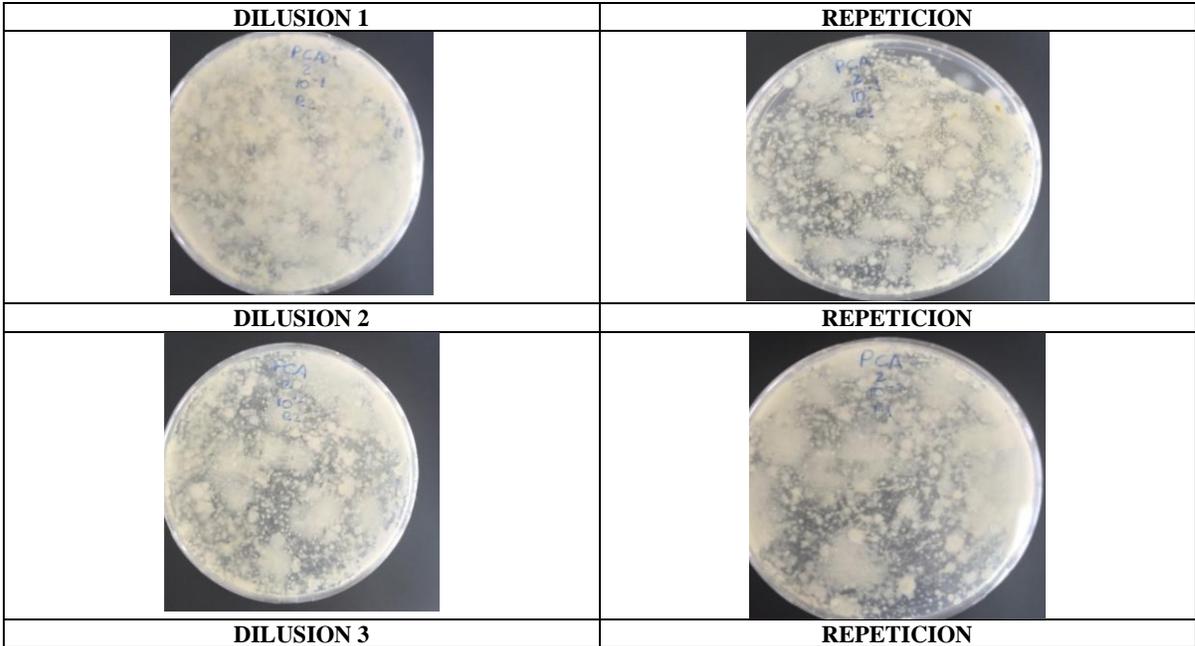


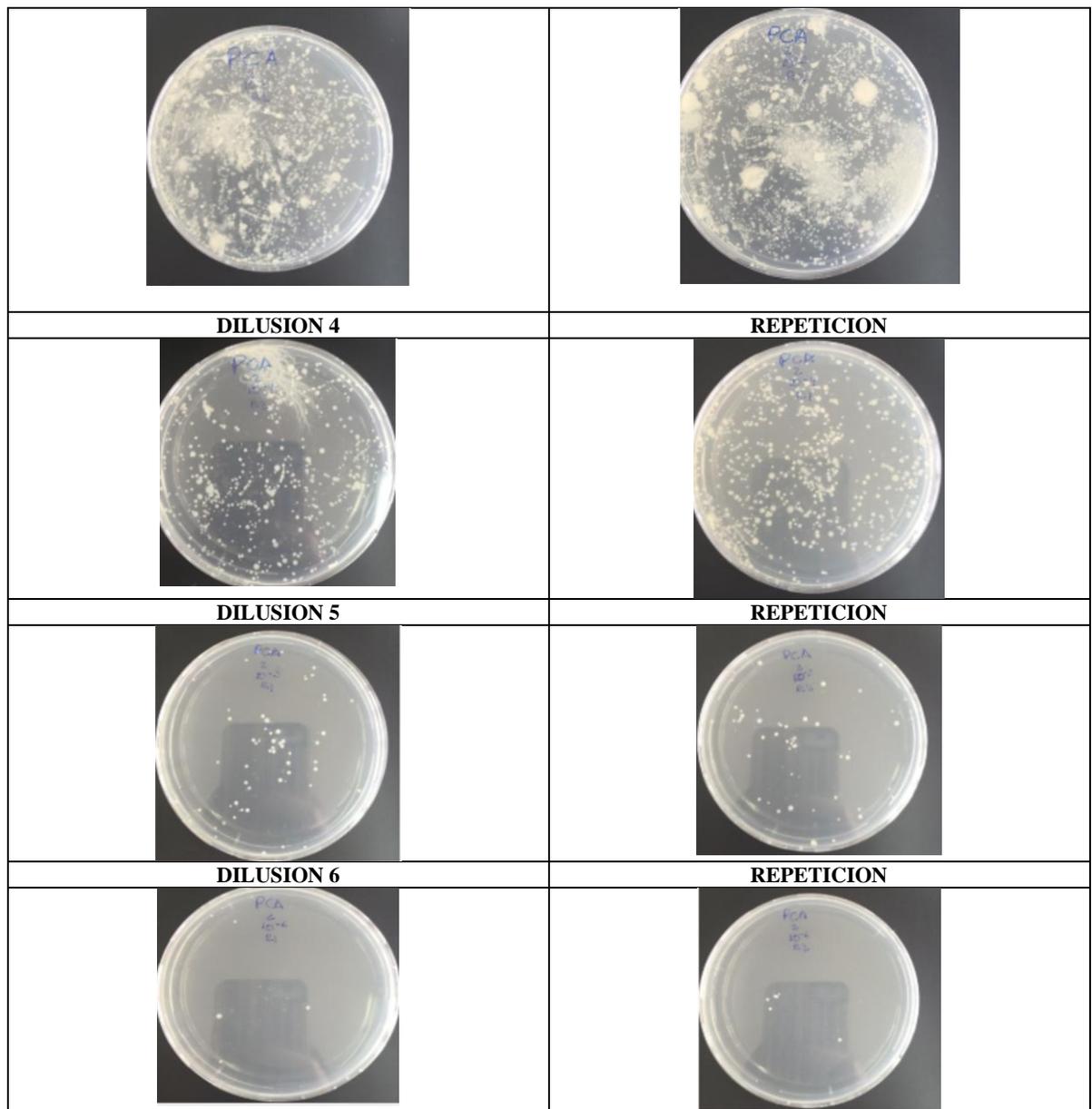
Anexos E Recuento Microbiano

DILUSION 1	REPETICION
 <p>PCA 1 10⁻¹ P1</p>	
DILUSION 2	REPETICION
 <p>PCA 1 10⁻² P2</p>	
DILUSION 3	REPETICION
 <p>PCA 1 10⁻³ P3</p>	
DILUSION 4	REPETICION
 <p>PCA 1 10⁻⁴ P4</p>	
DILUSION 5	REPETICION

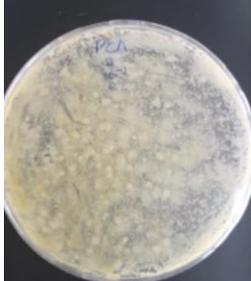
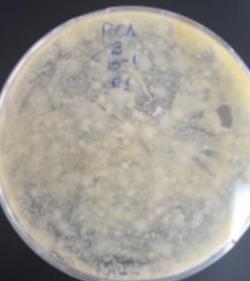
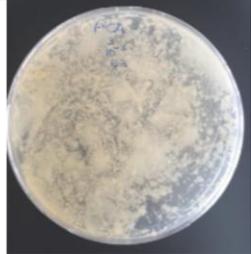
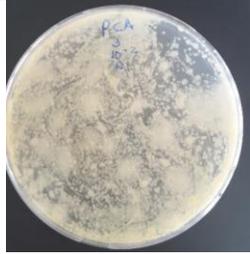
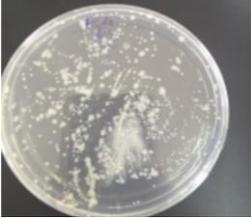
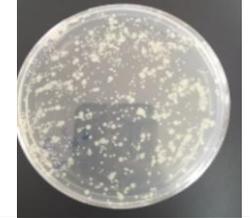
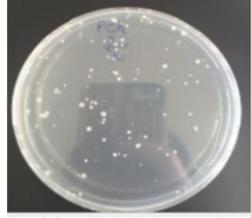
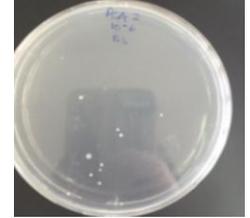
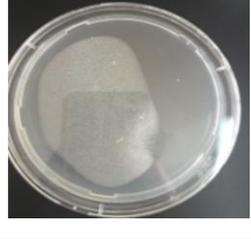
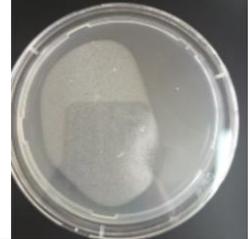


MUESTRA 2 A LAS 24 HORAS

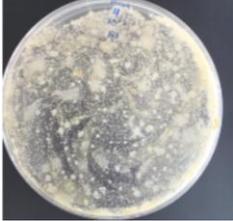
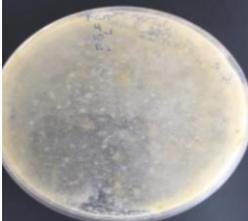
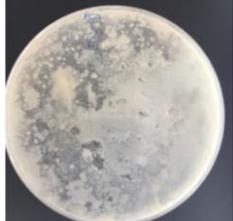


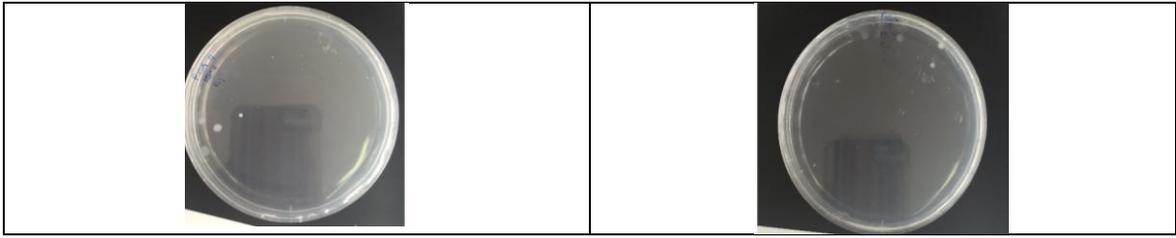


MUESTRA 3 (CCM) CONTEO BACTERIANO A LAS 24

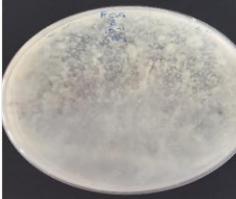
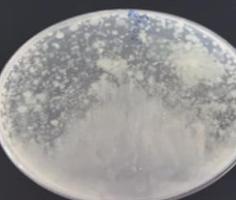
<p style="text-align: center;">DILUSION 1</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 
<p style="text-align: center;">DILUSION 2</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 
<p style="text-align: center;">DILUSION 3</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 
<p style="text-align: center;">DILUSION 4</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 
<p style="text-align: center;">DILUSION 5</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 
<p style="text-align: center;">DILUSION 6</p> 	<p style="text-align: center;">REPETICION</p> 

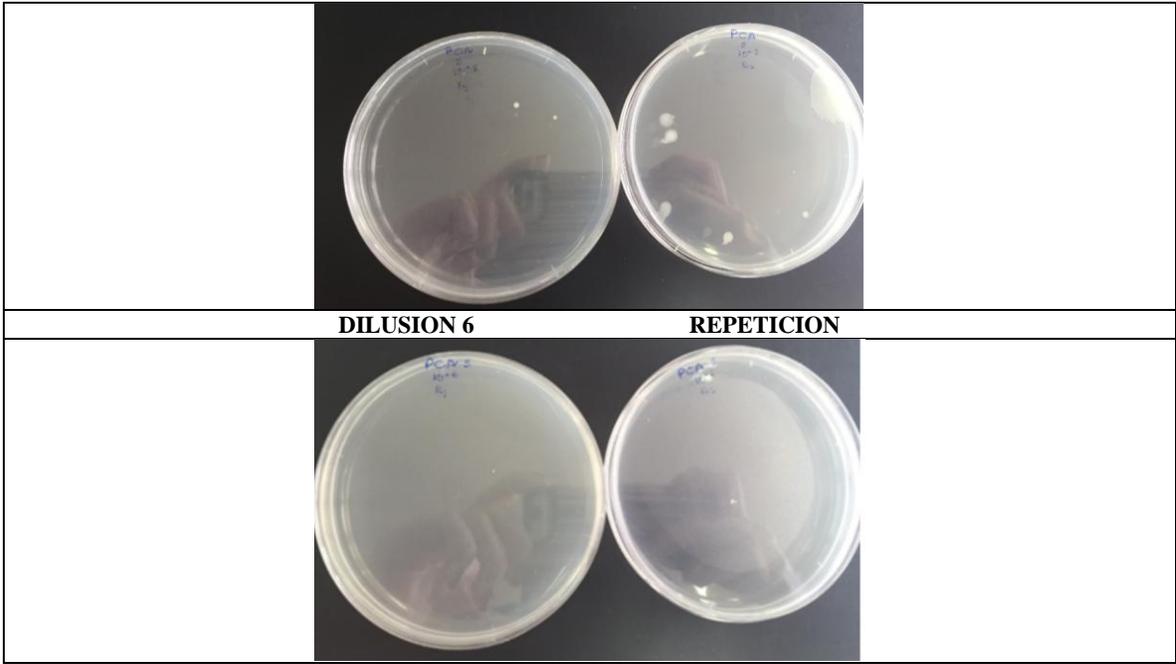
MUESTRA 4 (CSM) CONTEO BACTERIANO A LAS 24

DILUSION 1 	REPETICION 
DILUSION 2 	REPETICION 
DILUSION 3 	REPETICION 
DILUSION 4 	REPETICION 
DILUSION 5 	REPETICION 
DILUSION 6 	REPETICION 



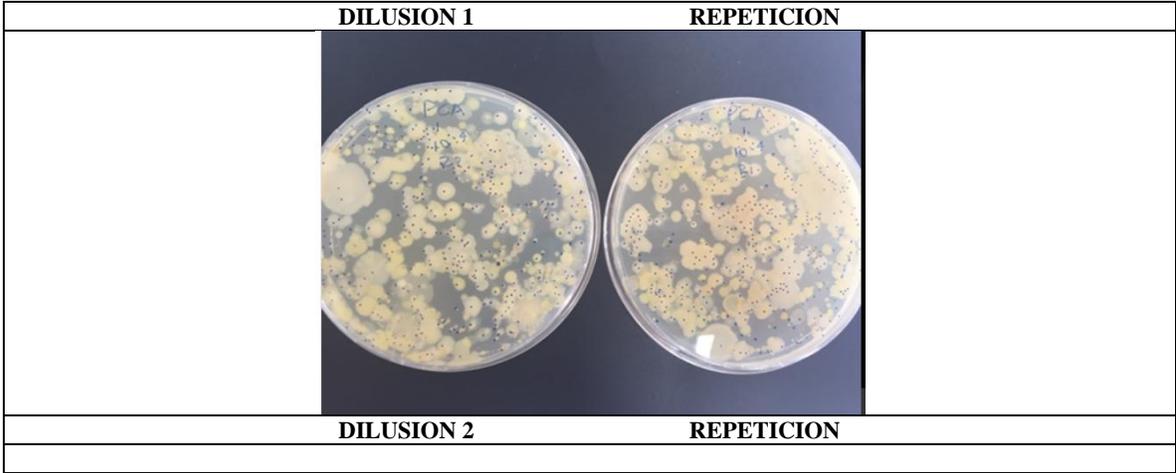
MUESTRA 5 AGUAS RESIDUAL DE ESTIERCOL CONTEO BACTERIANO A LAS 24

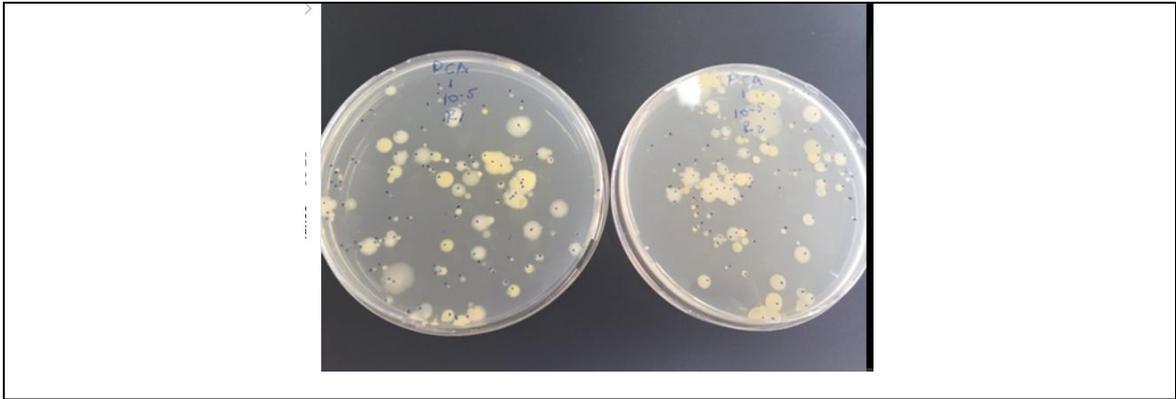
	DILUSION 1	REPETICION	
			
	DILUSION 2	REPETICION	
			
	DILUSION 3	REPETICION	
			
	DILUSION 4	REPETICION	
			
	DILUSION 5	REPETICION	



CONTEO DE MUESTRAS INICIALES A LAS 80 HORAS

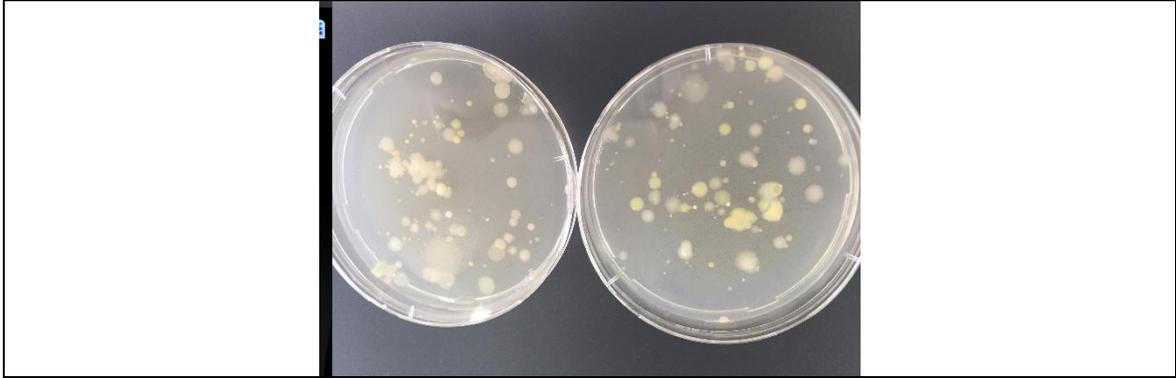
MUESTRA 1 CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS



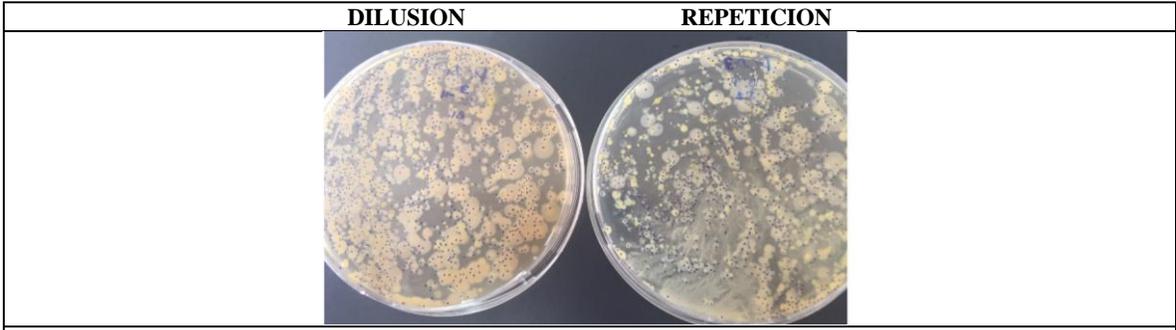


DILUSION 3

REPETICION

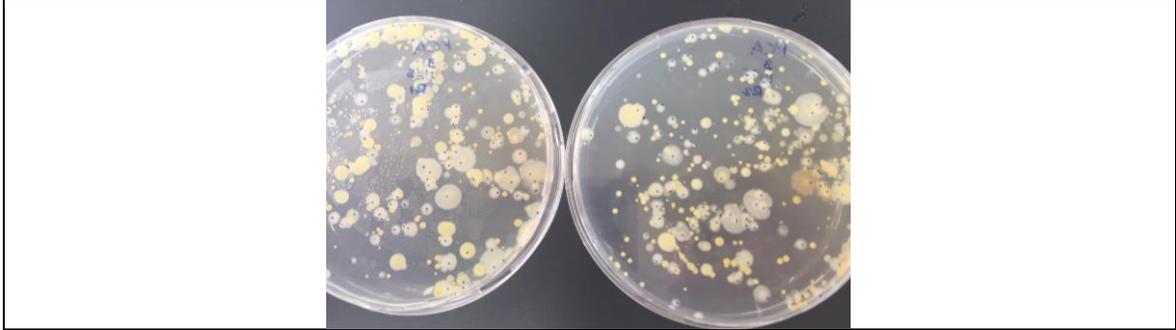


MUESTRA 2 CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS



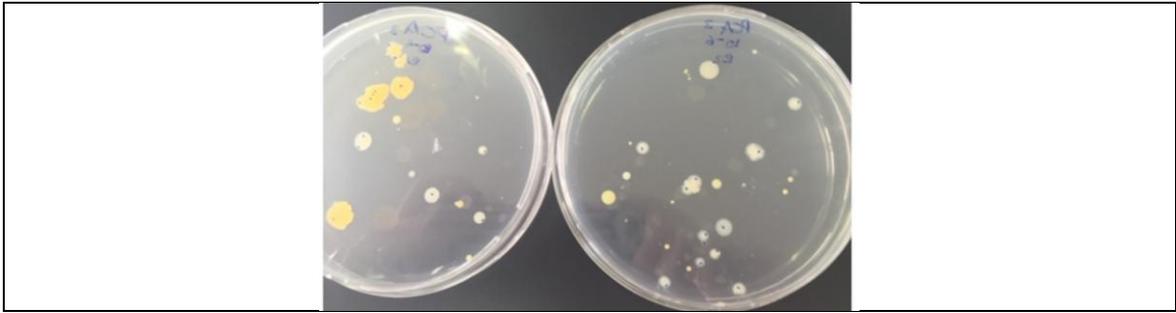
DILUSION

REPETICION

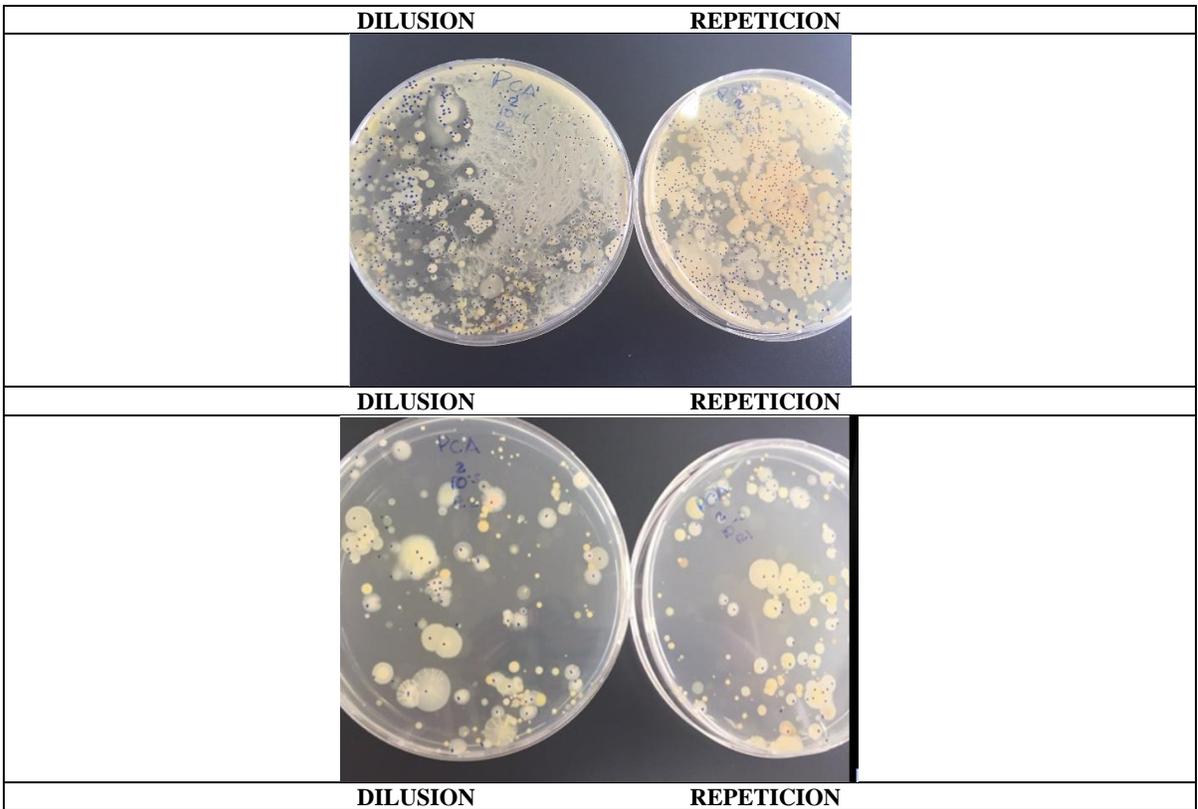


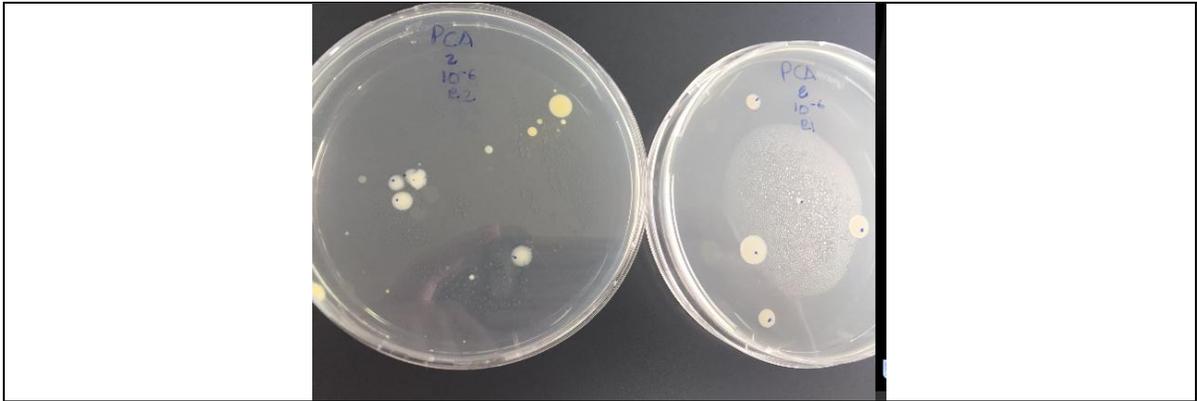
DILUSION

REPETICION

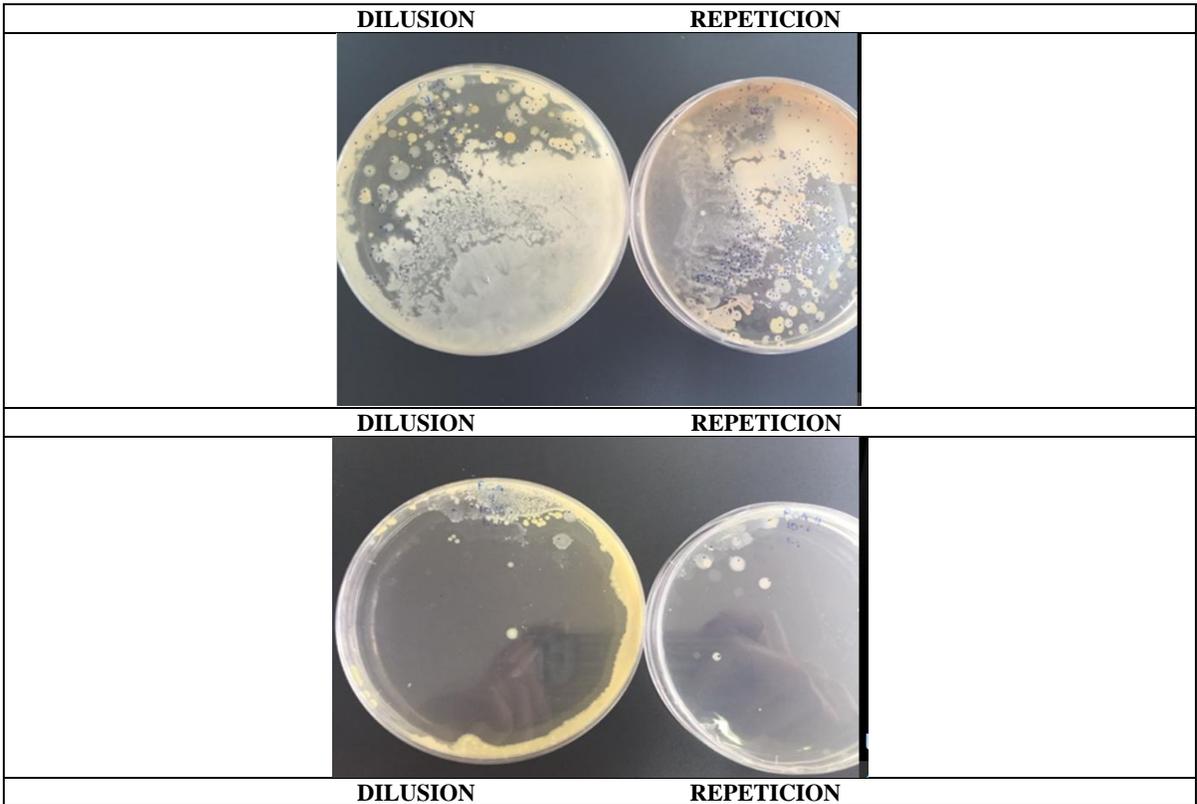


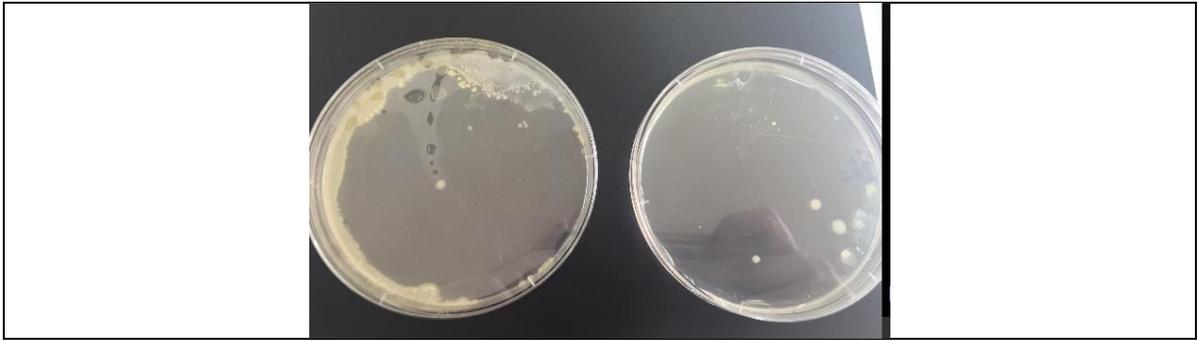
MUESTRA 3 CCM CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS



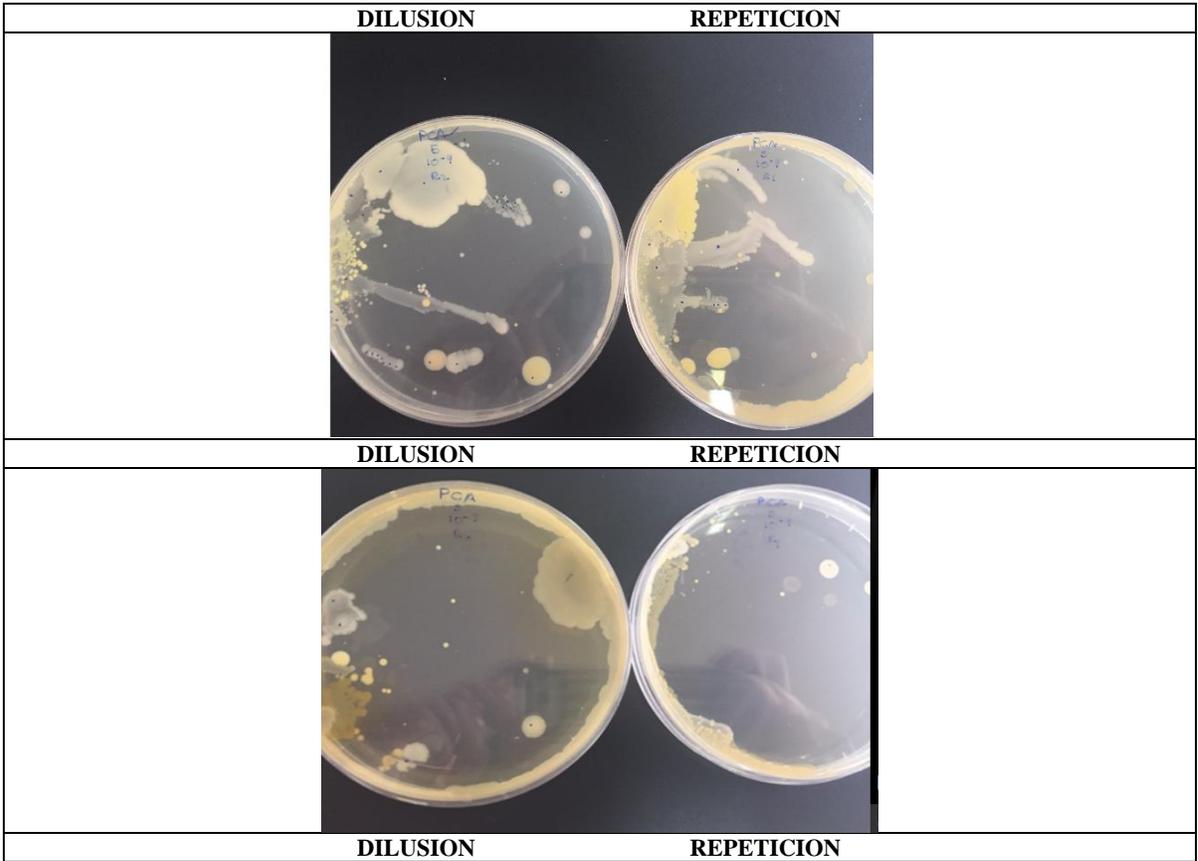


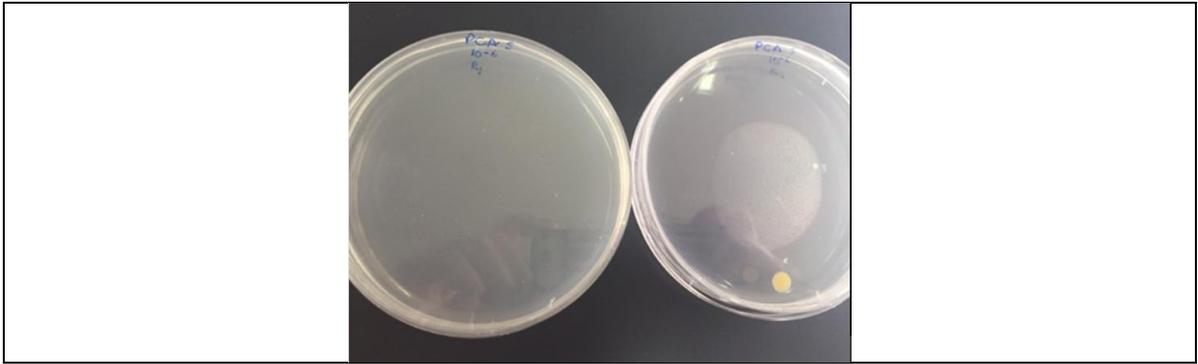
MUESTRA 4 CSM CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS





MUESTRA 5 CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS

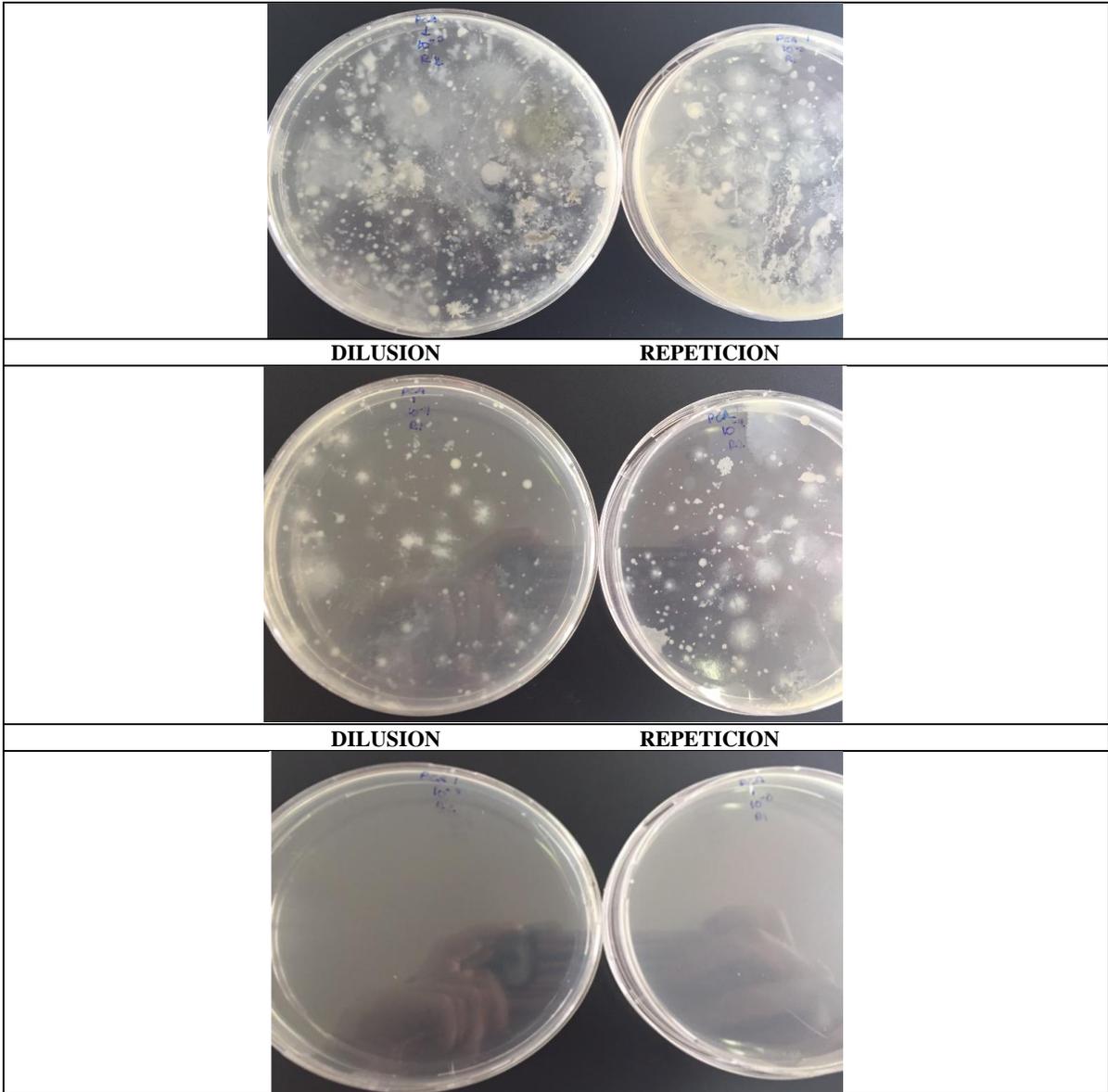




CONTEO DE MUESTRAS FINALES A LAS 24 HORAS

MUESTRA 1 CONTEO BACTERIANO A LAS 24 HORAS

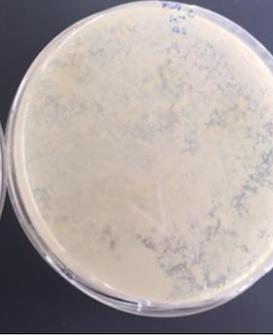
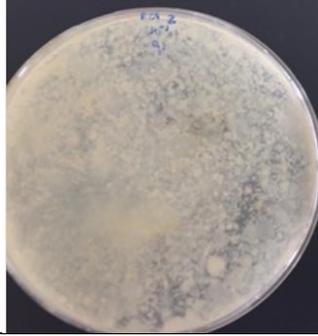
DILUSION		REPETICION	
DILUSION		REPETICION	
DILUSION		REPETICION	



MUESTRA 2 CONTEO BACTERIANO A LAS 24 HORAS

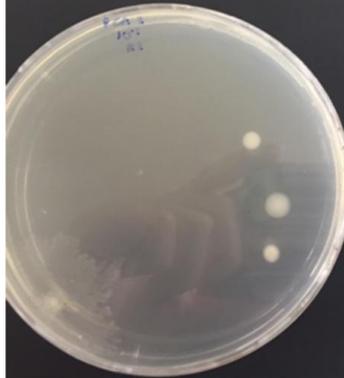
DILUSION

REPETICION



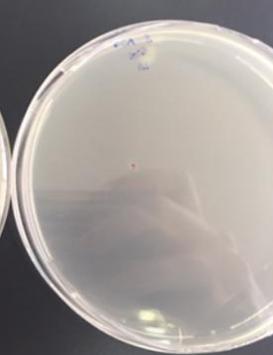
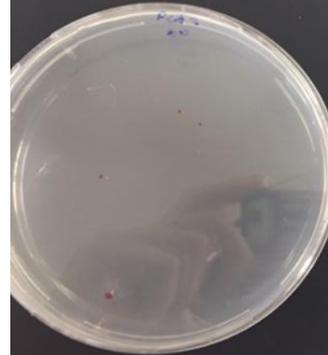
DILUSION

REPETICION



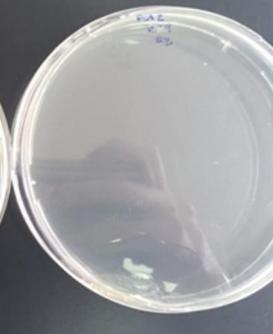
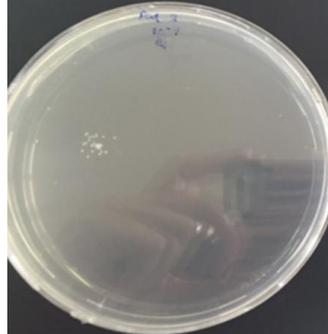
DILUSION

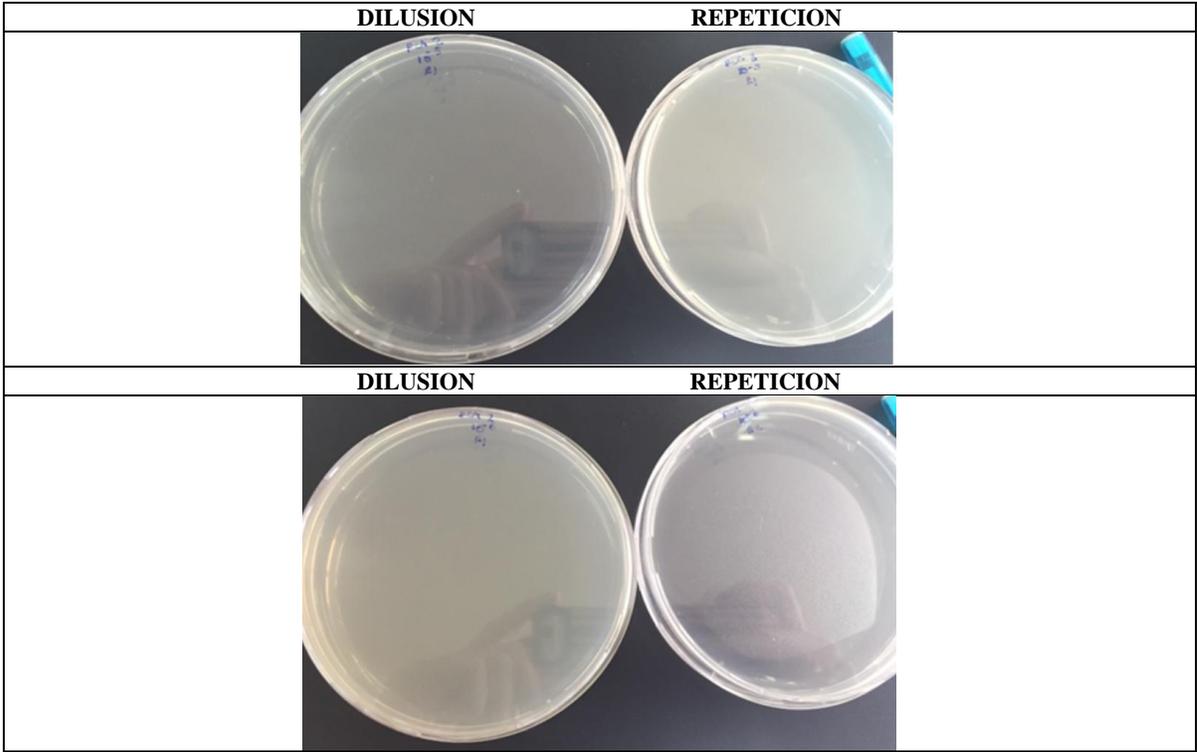
REPETICION



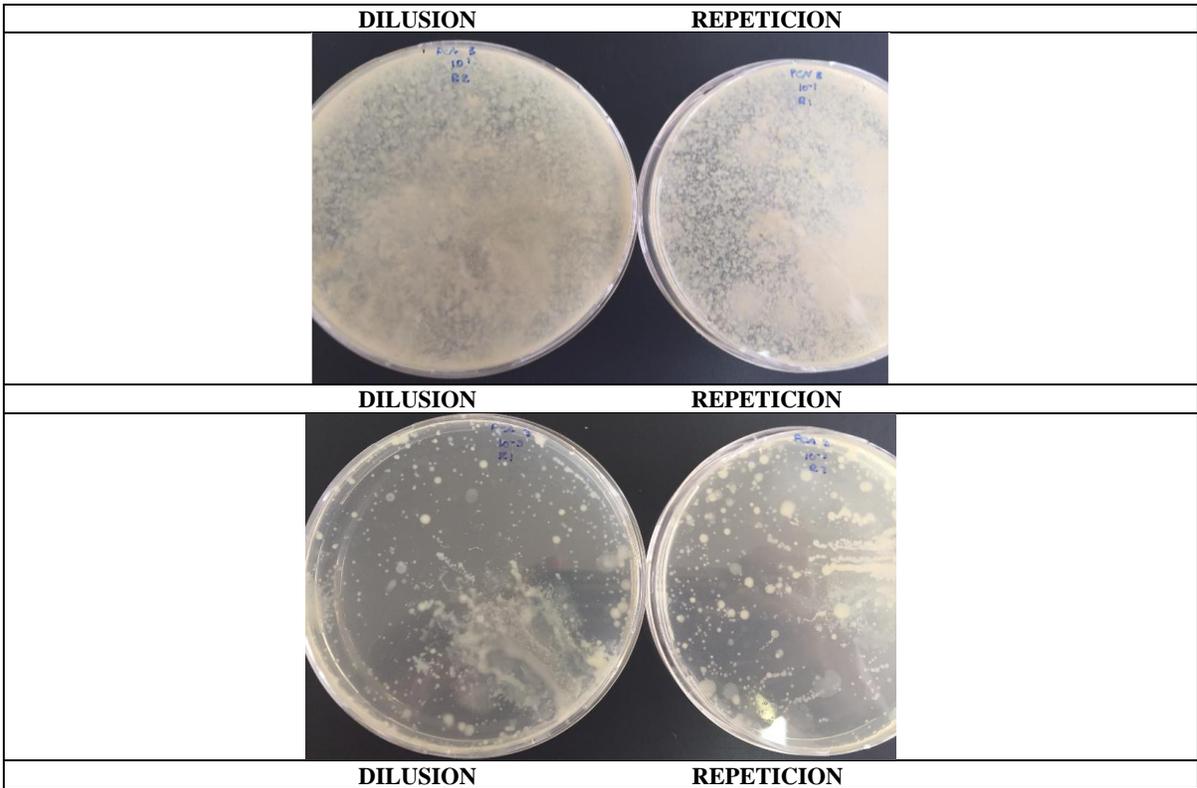
DILUSION

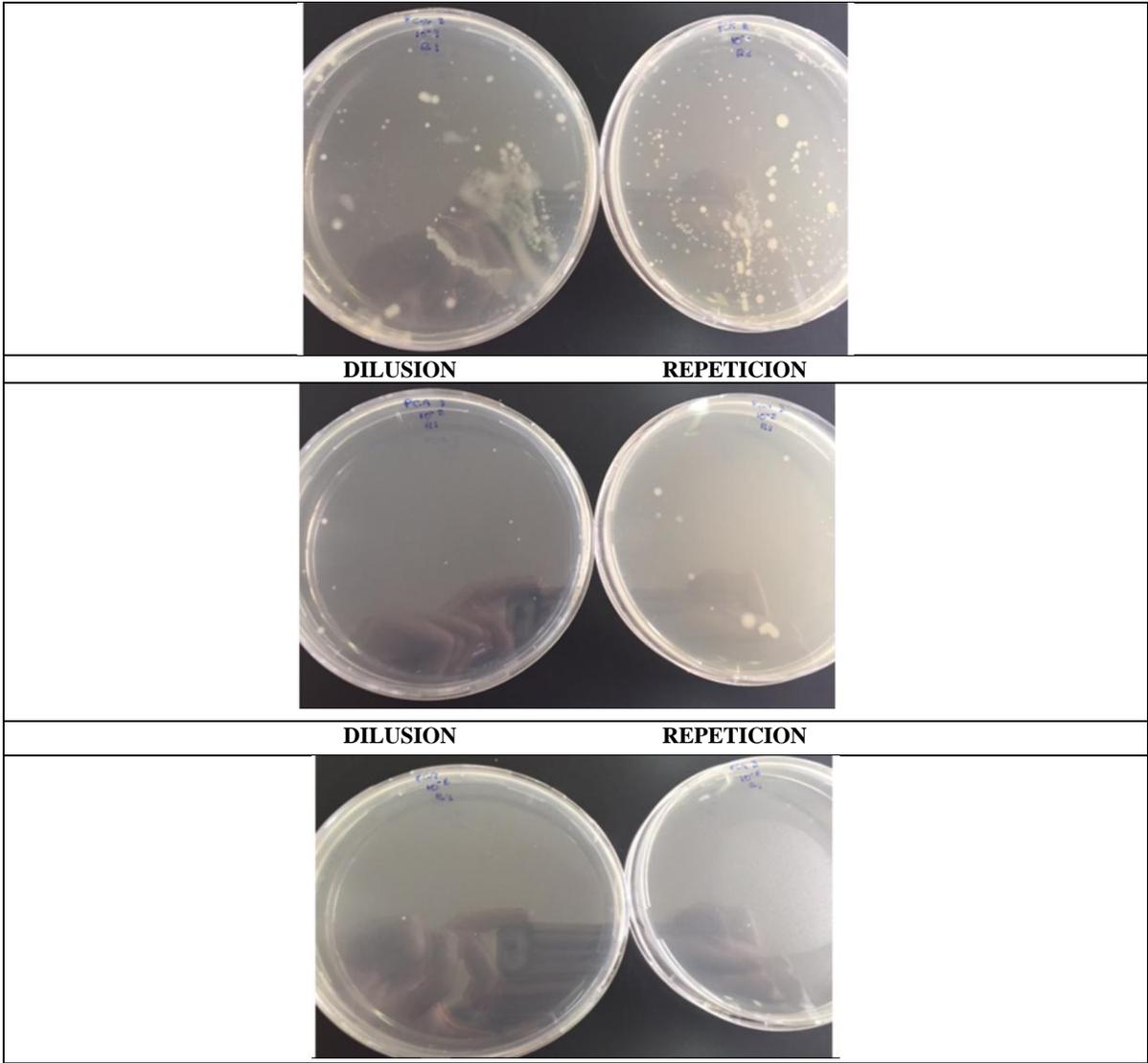
REPETICION



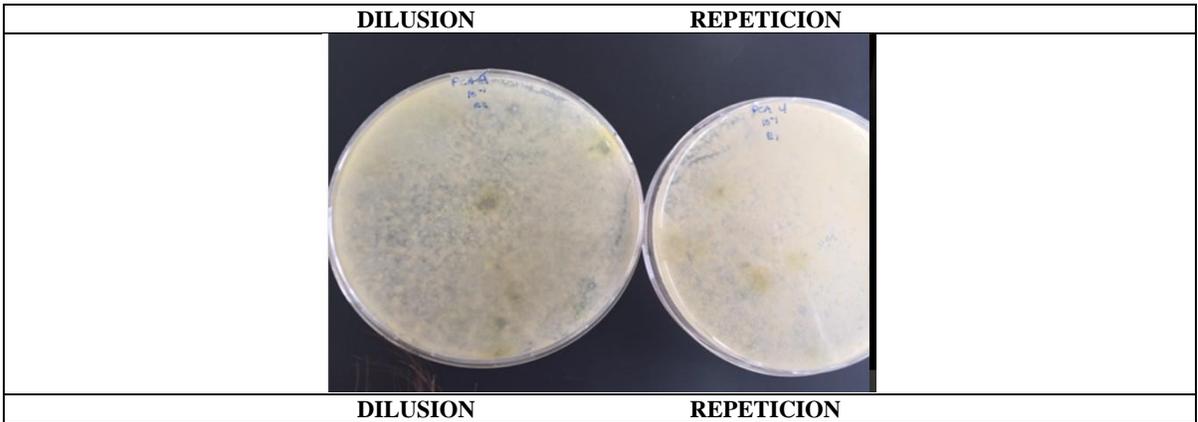


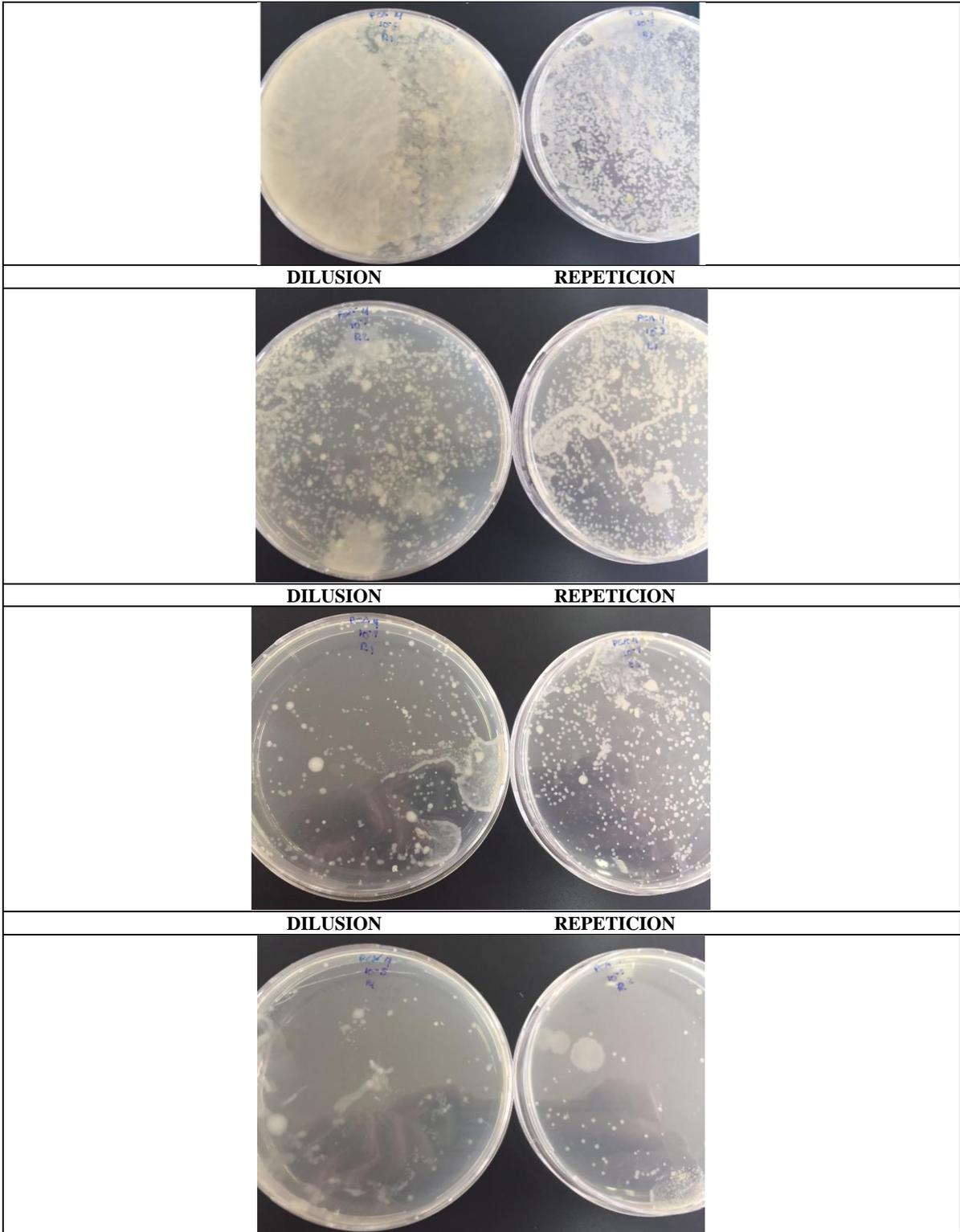
MUESTRA 3 CCM CONTEO BACTERIANO A LAS 24 HORAS





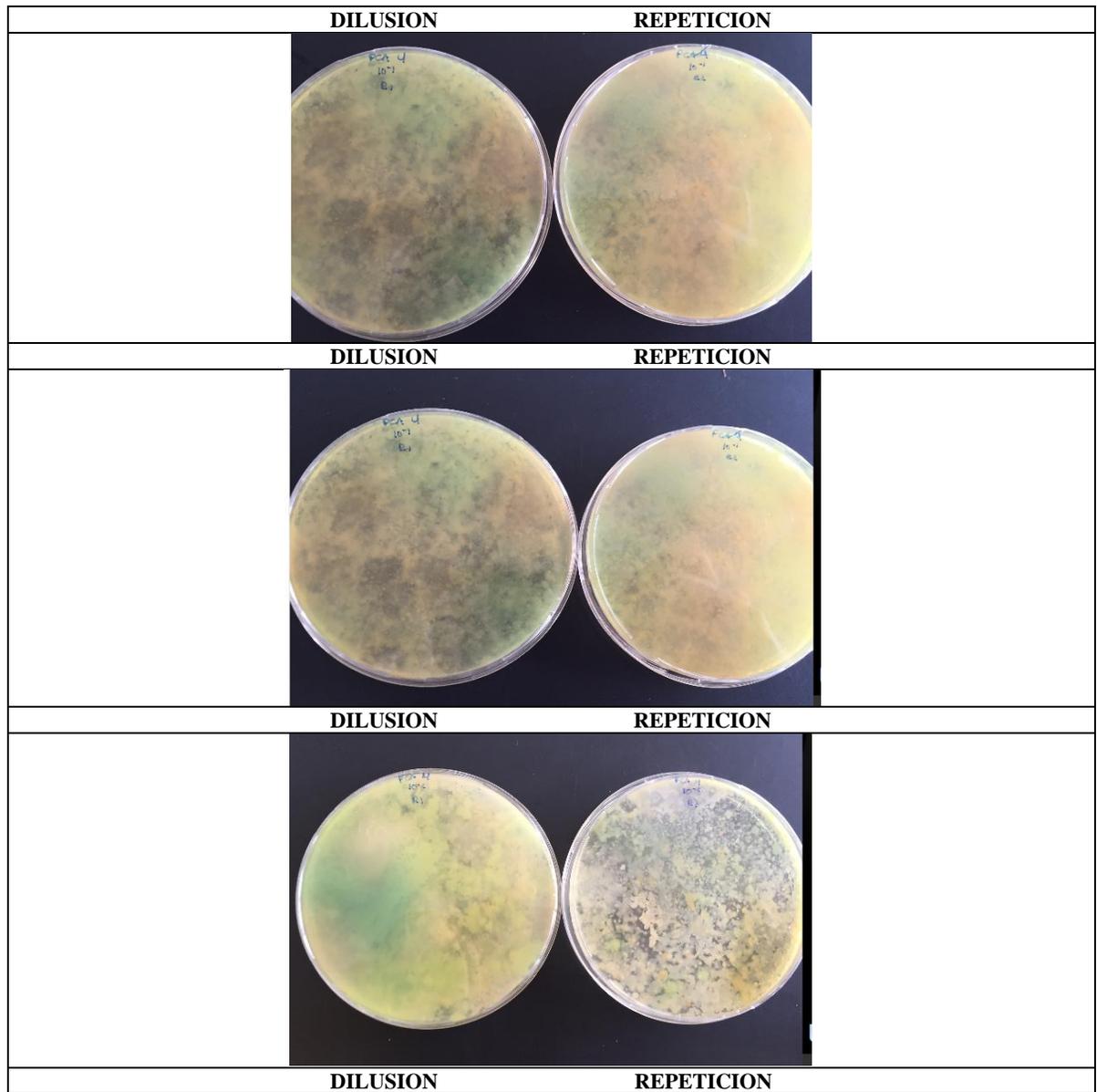
MUESTRA 4 CSM CONTEO BACTERIANO A LAS 24 HORAS

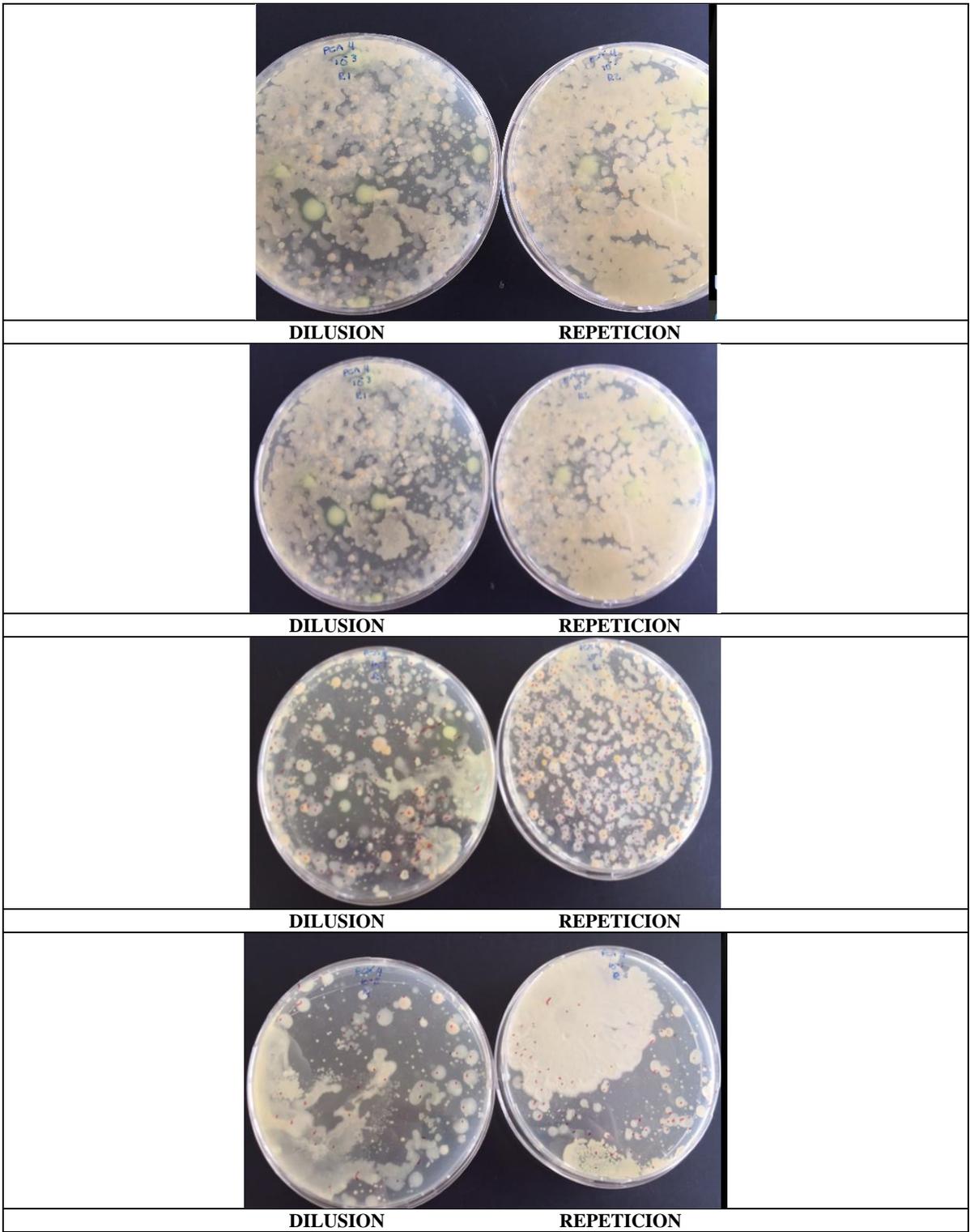


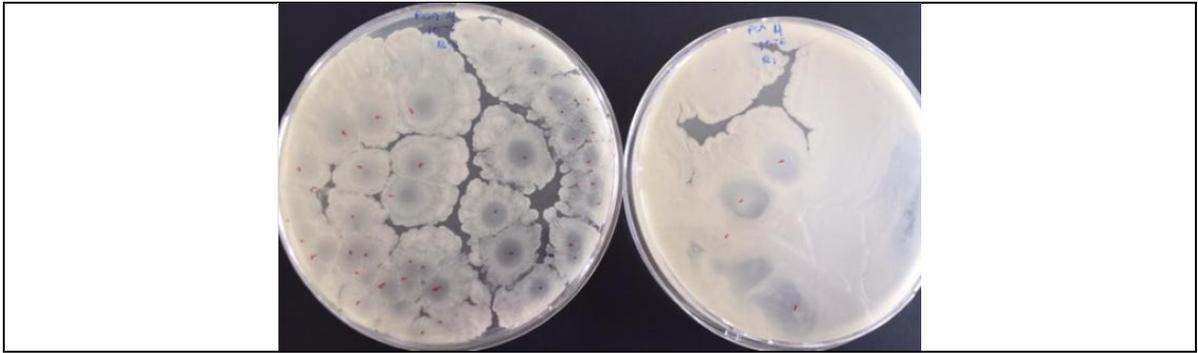


CONTEO FINAL 80 HORAS

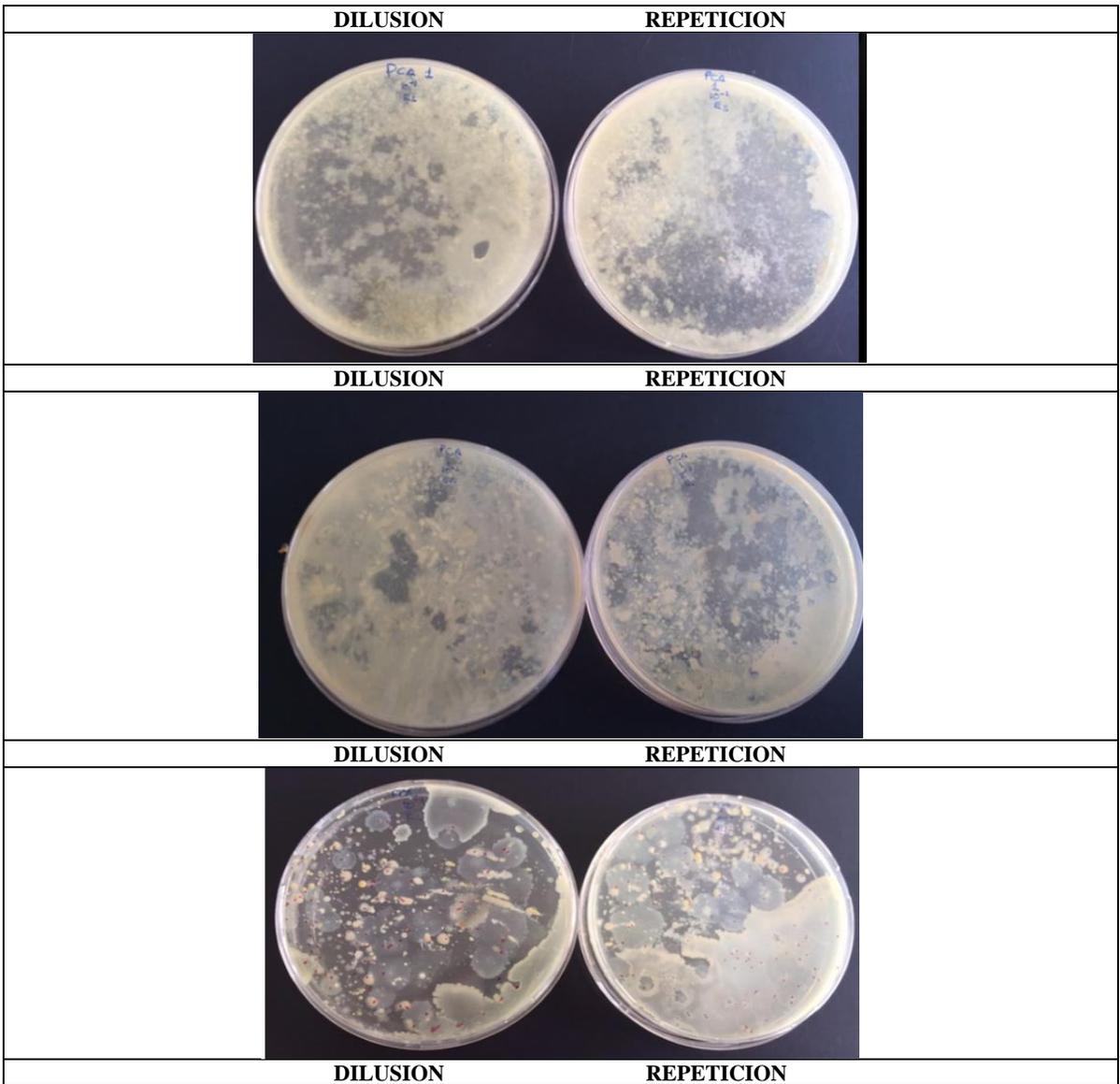
MUESTRA 4 CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS

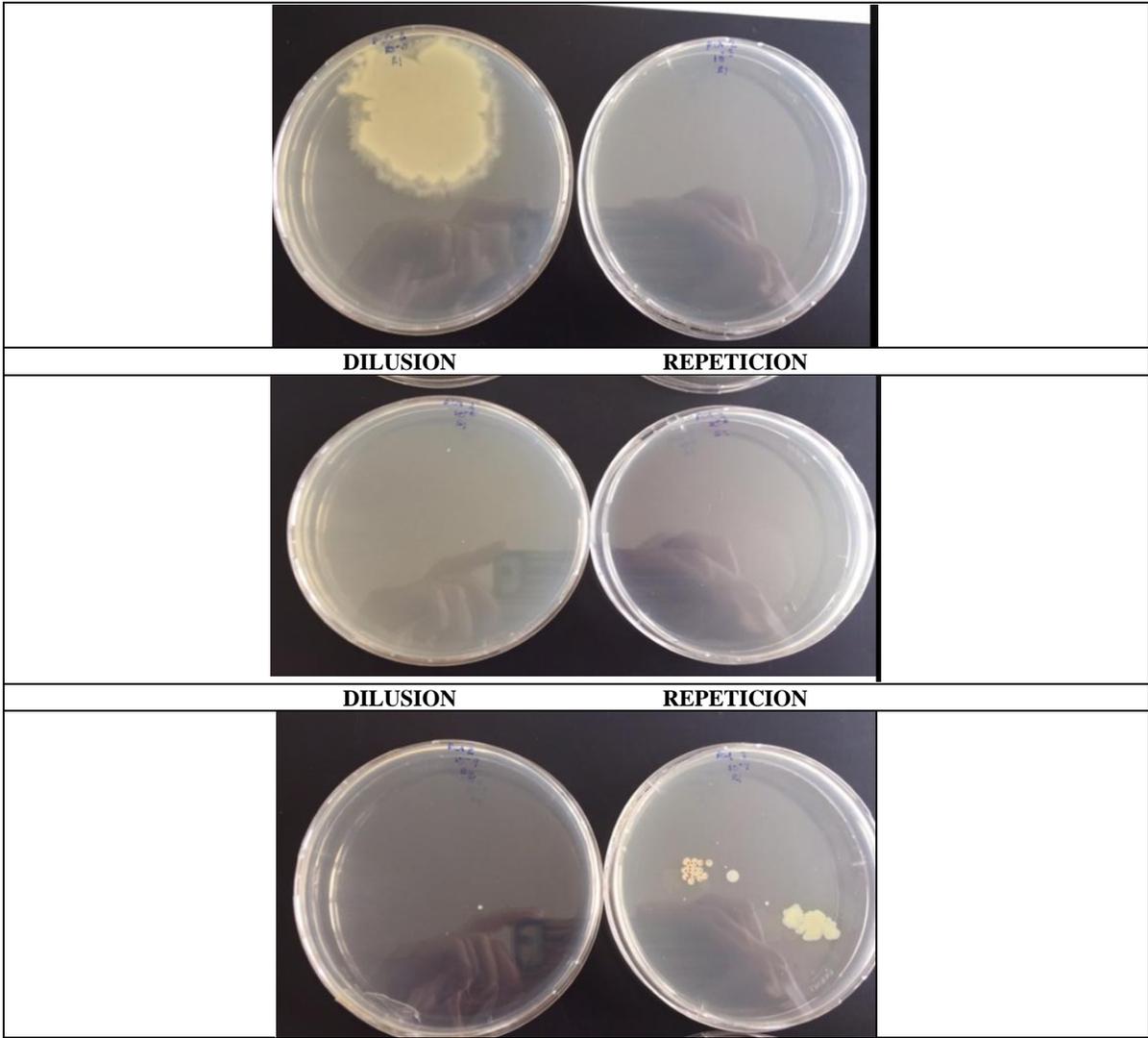




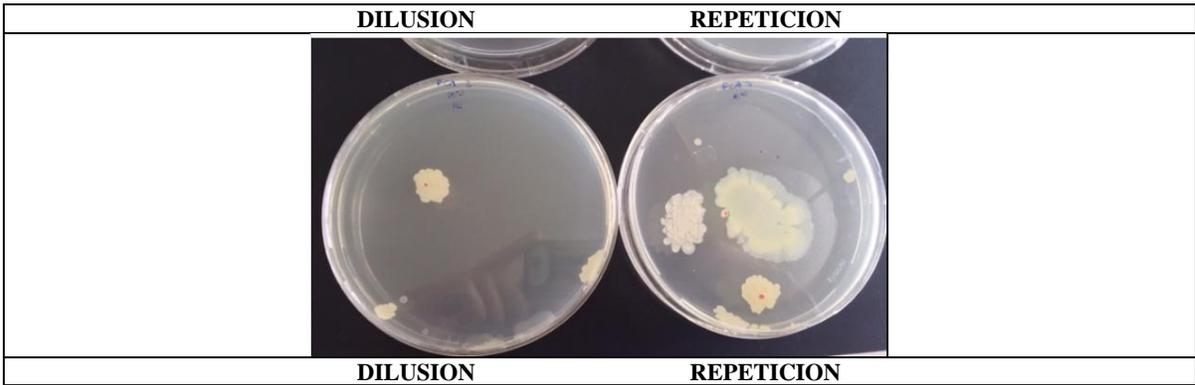


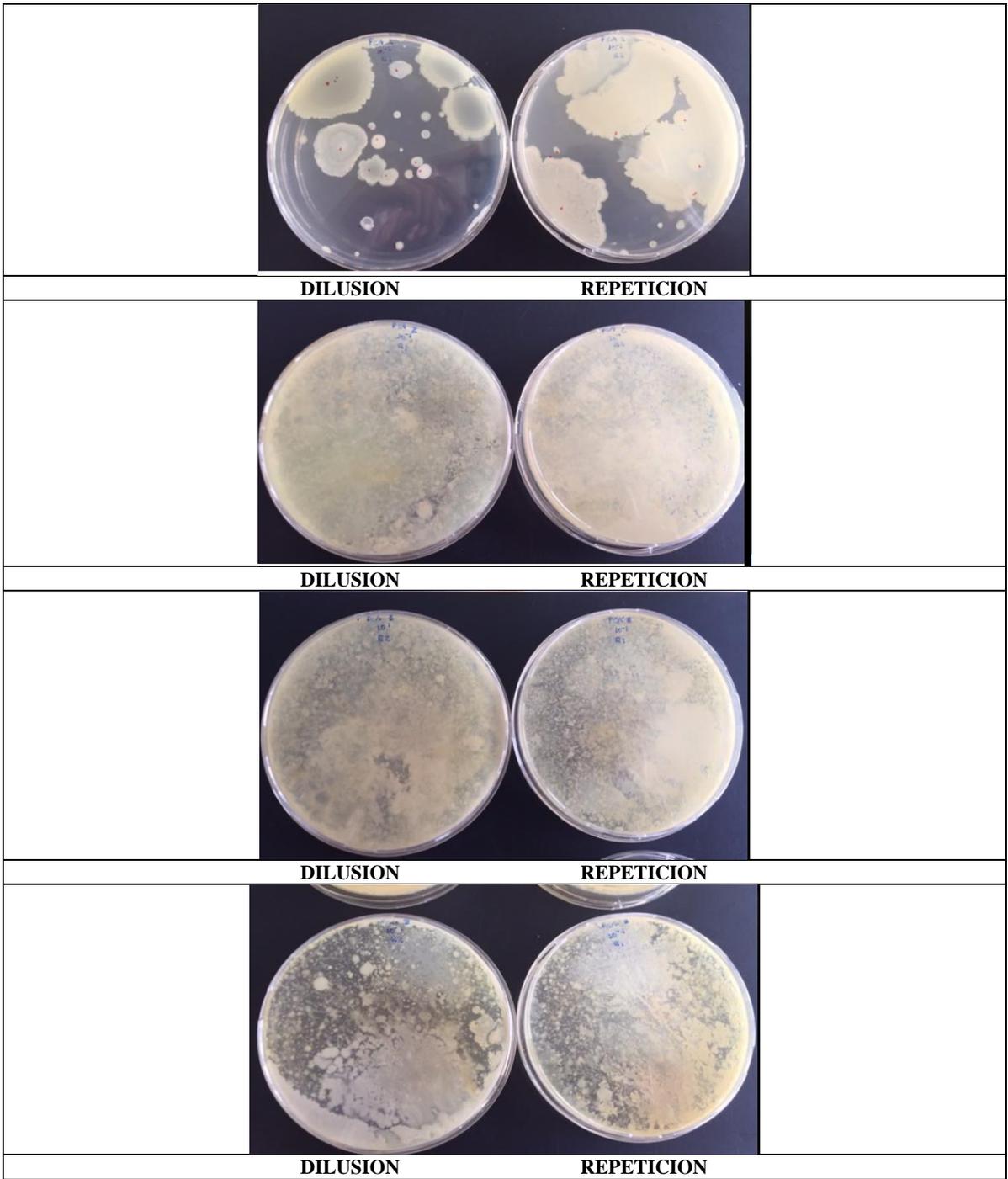
MUESTRA 2 CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS

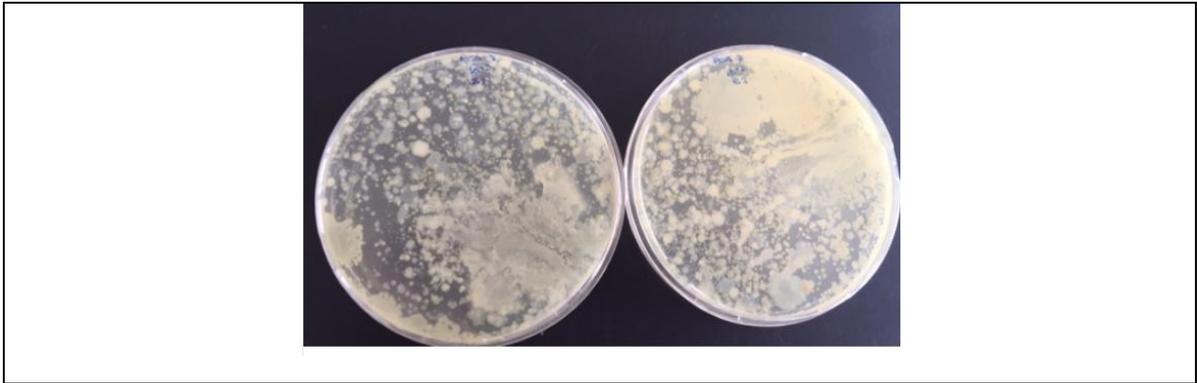




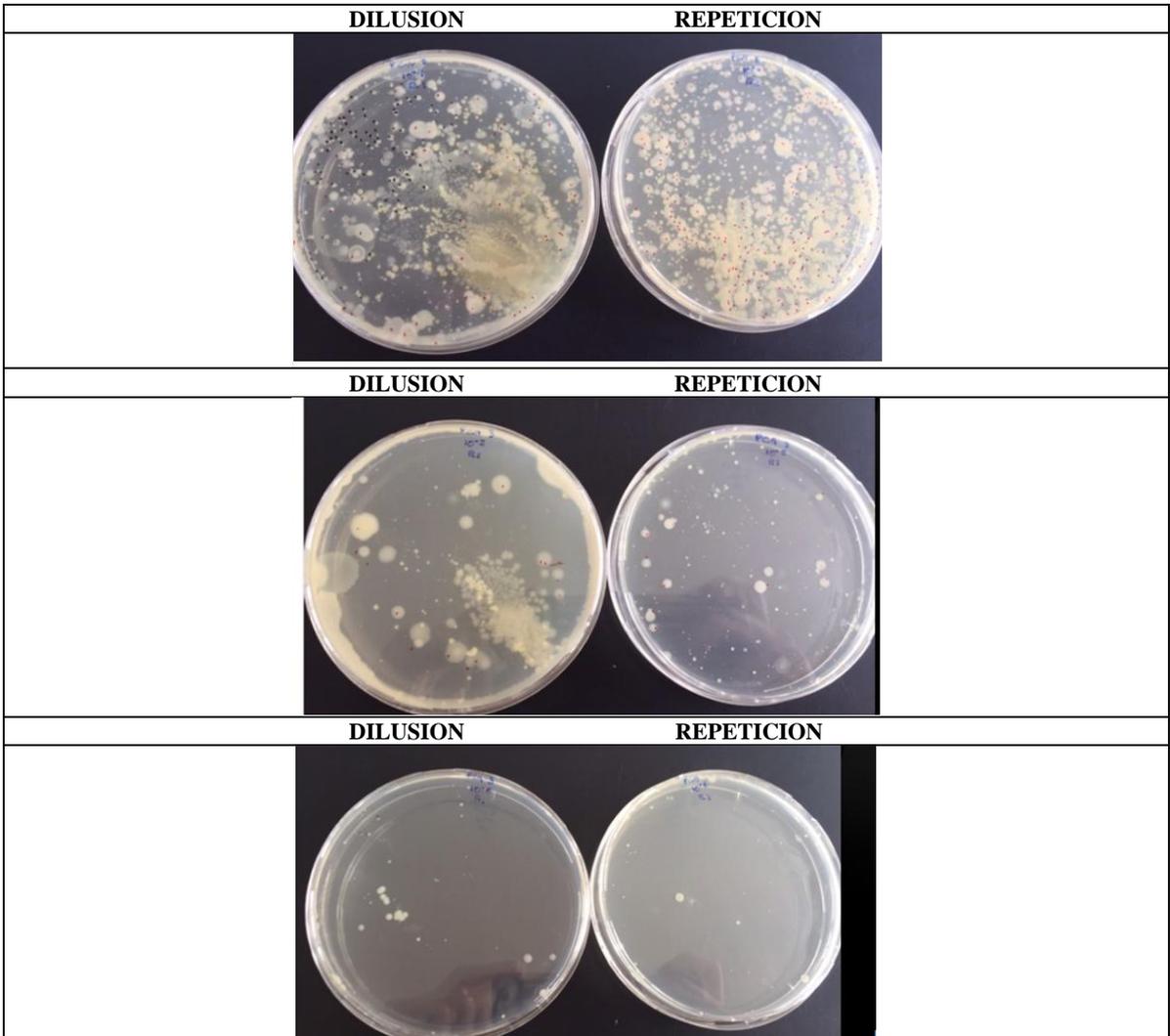
MUESTRA 3 CCM CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS







MUESTRA 4 CSM CONTEO BACTERIANO A LAS 80 HORAS



Anexos F Matriz De Datos Totales Horas

HORAS	Voltajes							
	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2
1	0,00025	0,0868	0,0005	0,11178	-374	-374	53	53
2	0,00087	0,0817	0,0004	0,14193	-389,52	-389,5	52,18	52,2
3	-0,0002	0,0768	0,0001	0,06209	-426,58	-426,6	50,27	50,3
4	-0,0005	0,1037	-0,0012	-0,00122	-410,52	-410,5	45,07	45,1
5	-0,0009	0,0911	0,0002	-0,00177	-278,84	-278,8	35,72	35,7
6	-0,0011	0,0618	0,0009	-0,00156	-235,25	-235,2	32,97	33
7	0,00227	0,0427	-0,0016	-0,00379	-220,21	-220,2	38,69	38,7
8	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-218,52	-218,5	43,31	43,3
9	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-383,11	-383,1	51,34	51,3
10	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33
11	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33
12	0,00025	0,0868	0,0005	0,11178	-374	-374	53	53
13	0,00087	0,0817	0,0004	0,14193	-389,52	-389,5	52,18	52,2
14	-0,0002	0,0768	0,0001	0,06209	-426,58	-426,6	50,27	50,3
15	-0,0005	0,1037	-0,0012	-0,00122	-410,52	-410,5	45,07	45,1
16	-0,0009	0,0911	0,0002	-0,00177	-278,84	-278,8	35,72	35,7
17	-0,0011	0,0618	0,0009	-0,00156	-235,25	-235,2	32,97	33
18	0,00227	0,0427	-0,0016	-0,00379	-220,21	-220,2	38,69	38,7
19	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-218,52	-218,5	43,31	43,3
20	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-383,11	-383,1	51,34	51,3
21	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33
22	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33
23	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33
24	0,00431	0,045	-0,0027	-0,00555	-243,05	-243	32,98	33

25	-0,0001	0,0381	0,0004	-0,00045	-390,64	-390,6	52,13	52,1
26	-0,0007	0,0404	3E-05	-0,00099	-426,77	-426,8	50,21	50,2
27	0,00199	0,0463	-0,0011	-0,00246	-421,43	-421,4	47,34	47,3
28	0,00321	0,038	-7E-05	-0,00111	-390,11	-390,1	43,67	43,7
29	0,00172	0,0444	8E-06	-0,00045	-240,8	-240,8	32,75	32,8
30	0,00118	0,0516	0,0003	-0,0011	-232,28	-232,3	33,61	33,6
31	0,00051	0,0414	0,0002	-0,00116	-224,87	-224,9	36,44	36,4
32	0,00176	0,0342	0,0008	-0,00091	-218,48	-218,5	40,18	40,2
33	0,00272	0,0388	0,0009	-0,00053	-273,48	-273,5	47,46	47,5
34	0,00281	0,0317	0,0001	-0,00035	-373,92	-373,9	52,92	52,9
35	0,00097	0,0362	0,0013	0,10822	-336,82	-336,8	44,52	44,5
36	0,00018	0,0387	0,0031	0,11547	-238,49	-238,5	32,62	32,6
37	-0,0017	0,0227	0,0024	0,11472	-230,33	-230,3	34,18	34,2
38	1E-05	0,019	0,0039	0,11451	-222,41	-222,4	37,23	37,2
39	-0,0014	0,0241	0,004	0,11029	-218,11	-218,1	41,36	41,4
40	-0,0001	0,0314	0,0035	0,11338	-213,3	-213,3	44,9	44,9
41	-0,0008	0,0316	0,0042	0,11361	-212,97	-213	45	45
42	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
43	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
44	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
45	-0,0003	0,0315	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
46	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
47	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
48	-0,0004	0,0314	0,0043	0,11351	-212,97	-213	45	45
49	-0,013	0,0041	0,0228	0,07252	-399,49	-399,5	44,13	44,1
50	-0,0163	-0,006	0,0209	0,01085	-393,3	-393,3	44	44
51	-0,0166	-0,004	0,0192	-0,00158	-387,07	-387,1	42,7	42,7
52	-0,0168	0,0015	0,019	0,02451	-381,92	-381,9	40,05	40

53	-0,0164	0,0095	0,0164	0,08176	-376,95	-377	37,72	37,7
54	-0,0132	0,0109	0,0012	0,08652	-371,95	-372	30,39	30,4
55	-0,0114	0,0109	0,0011	0,08885	-365,83	-365,8	-21,97	-22
56	-0,0105	0,0047	0,0013	0,09429	-358,79	-358,8	-0,37	-0,37
57	-0,0102	0,0005	0,0009	0,09949	-353,71	-353,7	-1,219	-1,22
58	-0,0107	-0,002	0,0029	0,10145	-347,83	-347,8	-0,421	-0,42
59	-0,0097	-0,002	0,0025	0,09979	-340,89	-340,9	-0,5	-0,5
60	-0,0049	-0,002	0,002	0,09778	-333,67	-333,7	-0,56	-0,56
61	-0,0025	-0,007	0,003	0,09878	-329,9	-329,9	-0,605	-0,61
62	-0,0103	0,095	0,0398	0,26414	-324,56	-324,6	-0,593	-0,59
63	-0,0087	0,0634	0,0318	0,27425	-315,1	-315,1	-0,624	-0,62
64	-0,0153	0,0103	0,0267	0,24848	-306,52	-306,5	-0,601	-0,6
65	-0,0339	-0,018	0,0254	0,23515	-279,23	-279,2	-0,607	-0,61
66	-0,052	-0,023	0,0203	0,23582	-272,79	-272,8	-0,052	-0,05
67	-0,0296	-0,022	0,0172	0,26009	-258,1	-258,1	0,326	0,33
68	-0,0363	-0,019	0,0247	0,26195	-250,87	-250,9	0,366	0,37
69	-0,0365	-0,019	0,0246	0,2617	-250,97	-251	0,366	0,37
70	-0,0373	-0,019	0,0247	0,26172	-250,79	-250,8	0,366	0,37
71	-0,0361	-0,018	0,0245	0,26182	-250,69	-250,7	0,366	0,37
72	-0,0361	-0,018	0,0243	0,26157	-250,51	-250,5	0,365	0,36
73	-0,0067	0,1267	0,0026	0,24163	-211,29	-211,3	0,208	0,21
74	-0,0084	0,1275	0,002	0,24303	-208,02	-208	0,209	0,21
75	-0,0077	0,129	0,0026	0,24257	-207,87	-207,9	0,203	0,2
76	-0,0072	0,1249	0,0012	0,23783	-205,08	-205,1	0,196	0,2
77	-0,0061	0,1258	0,0028	0,23776	-201,7	-201,7	0,161	0,16
78	-0,0065	0,1262	0,003	0,23927	-199,67	-199,7	0,13	0,13
79	-0,0068	0,1267	0,003	0,24219	-197,46	-197,5	0,112	0,11
80	-0,0065	0,1277	0,0025	0,24413	-196,31	-196,3	0,1	0,1

81	-0,0084	0,1283	0,0022	0,24754	-197,62	-197,6	0,113	0,11
82	-0,0101	0,1297	0,0025	0,25204	-198	-198	0,164	0,16
83	-0,0114	0,1332	0,0024	0,25907	-199,66	-199,7	0,225	0,23
84	-0,0136	0,1422	0,0038	0,26218	-199,89	-199,9	0,255	0,25
85	-0,0193	0,1512	0,0042	0,26481	-187,46	-187,5	0,281	0,28
86	-0,0107	0,15	0,0047	0,25444	-156,21	-156,2	0,328	0,33
87	-0,0132	0,1469	0,0135	0,25257	-153,93	-153,9	0,351	0,35
88	-0,0186	0,1459	0,0149	0,24787	-150,11	-150,1	0,319	0,32
89	-0,0161	0,1358	0,0021	0,24248	-179,16	-179,2	0,229	0,23
90	-0,0079	0,1267	0,0025	0,24182	-209,74	-209,7	0,209	0,21
91	-0,0072	0,1279	0,0023	0,24313	-208,75	-208,8	0,206	0,21
92	-0,0077	0,1267	0,0029	0,24152	-210,26	-210,3	0,209	0,21
93	-0,0077	0,1279	0,002	0,24326	-208,21	-208,2	0,207	0,21
94	-0,0072	0,1269	0,0028	0,24138	-210,75	-210,8	0,209	0,21
95	-0,0078	0,1277	0,0022	0,24353	-207,75	-207,8	0,207	0,21
96	-0,0068	0,1271	0,0025	0,24131	-211,1	-211,1	0,208	0,21
97	-0,02	0,1443	0,0023	0,24048	-130,63	-130,6	0,005	0,01
98	-0,0096	0,1462	0,0017	0,24282	-129,92	-129,9	0,008	0,01
99	-0,0099	0,1457	0,0014	0,23996	-129,97	-130	0,008	0,01
100	-0,0069	0,1457	0,0018	0,24215	-129,21	-129,2	0,01	0,01
101	-0,0098	0,1291	0,0022	0,25531	-128,62	-128,6	0,008	0,01
102	-0,0108	0,1367	0,0026	0,25997	-128,2	-128,2	0,008	0,01
103	-0,0128	0,1403	0,0029	0,26115	-127,27	-127,3	0,007	0,01
104	-0,0132	0,1513	0,0042	0,2621	-126,31	-126,3	0,006	0,01
105	-0,0139	0,1477	0,011	0,25441	-125,52	-125,5	0,005	0
106	-0,014	0,147	0,0135	0,25198	-119,05	-119	0,005	0,01
107	-0,0219	0,1461	0,0098	0,24382	-126,36	-126,4	0,008	0,01
108	-0,0211	0,1456	0,0021	0,24069	-129,74	-129,7	0,06	0,06

109	-0,0176	0,1447	0,002	0,24317	-133	-133	0,34	0,34
110	-0,011	0,1459	0,0014	0,24214	-139,31	-139,3	0,362	0,36
111	-0,008	0,1459	0,0014	0,23968	-141,97	-142	0,359	0,36
112	-0,0096	0,1461	0,002	0,23812	-137,49	-137,5	0,323	0,32
113	-0,007	0,1476	0,0014	0,23895	-135,02	-135	0,305	0,31
114	-0,0103	0,153	0,0016	0,24236	-134,97	-135	0,241	0,24
115	-0,0108	0,1594	0,0023	0,24883	-63,574	-63,57	0,208	0,21
116	-0,0075	0,1605	0,002	0,24524	-19,455	-19,46	0,146	0,15
117	-0,007	0,1459	-0,0003	0,22212	-107,58	-107,6	-0,377	-0,38
118	-0,0106	0,0797	-0,0012	0,22463	-111,4	-111,4	-0,413	-0,41
119	-0,012	0,0052	-0,003	0,13937	-194,34	-194,3	-0,418	-0,42
120	-0,008	-0,004	-0,0035	0,13066	-194,56	-194,6	-0,408	-0,41
121	-0,0052	0,0125	-0,0013	0,06915	-158,32	-158,3	-0,37	-0,37
122	-0,0045	0,0173	-0,0017	-0,00051	-138,13	-138,1	-0,37	-0,37
123	-0,0036	0,0166	-0,0014	0,00124	-125,54	-125,5	-20,78	-20,8
124	-0,002	0,0167	-0,0013	-0,00266	-112,77	-112,8	-0,371	-0,37
125	0,00018	0,017	0,001	0,00095	-92,689	-92,69	-0,376	-0,38
126	0,00496	5E-05	0,0664	-0,01845	-87,393	-87,39	-10,25	-10,2
127	0,00379	0,0018	0,0983	-0,00031	-88,531	-88,53	-0,361	-0,36
128	-0,0007	0,0042	0,1046	-0,0025	-88,705	-88,7	-0,351	-0,35
129	-0,0026	0,0049	0,0767	-0,00392	-85,23	-85,23	-0,345	-0,35
130	-0,0042	0,0045	-0,0274	-0,00325	-88,756	-88,76	-0,338	-0,34
131	-0,003	0,0051	-0,0272	-0,00227	-95,557	-95,56	-0,341	-0,34
132	-0,0045	0,0086	-0,0141	0,06639	-129,64	-129,6	-0,325	-0,33
133	-0,005	0,0151	-0,0016	-0,00051	-146,8	-146,8	-0,37	-0,37
134	-0,0042	0,0173	-0,0014	0,00425	-129,33	-129,3	-8,116	-8,12
135	-0,0029	0,0165	-0,0015	-0,00118	-120,34	-120,3	-14,78	-14,8
136	-0,0003	0,0168	-0,0007	-0,0022	-101,72	-101,7	-0,372	-0,37

137	0,00256	0,0078	0,0304	-0,01536	-87,377	-87,38	-10,25	-10,2
138	0,0068	0,0007	0,0926	0,00022	-88,066	-88,07	-0,374	-0,37
139	0,00095	0,0024	0,0943	-0,00296	-88,803	-88,8	-0,354	-0,35
140	-0,001	0,0043	0,1084	-0,00273	-88,049	-88,05	-0,349	-0,35
141	-0,0037	0,0047	0,0498	-0,00496	-85,77	-85,77	-0,345	-0,34
142	-0,0034	0,0046	-0,0274	0,00107	-92,098	-92,1	-0,338	-0,34
143	-0,0032	0,0054	-0,0274	-0,00258	-95,361	-95,36	-0,278	-0,28
144	-0,0084	0,0004	-0,0281	0,01611	-98	-98	0,35	0,35
145	-0,0025	0,0056	-0,027	6,8E-05	-57,051	-57,05	-0,273	-0,27
146	-0,004	0,0048	-0,0265	-0,00465	-54,738	-54,74	-0,27	-0,27
147	-0,0041	0,0038	-0,0218	0,00118	-50,426	-50,43	-0,152	-0,15
148	-0,0028	0,0056	-0,0152	-0,00611	-39,23	-39,23	-0,101	-0,1
149	-0,0044	0,0046	-0,0177	0,00419	-36	-36	-0,27	-0,27
150	-0,0039	0,0039	-0,0233	-0,00469	-36,574	-36,57	-0,265	-0,26
151	-0,0039	0,0032	-0,0197	-0,00026	-37,617	-37,62	-0,279	-0,28
152	-0,0035	0,0044	-0,0182	-0,00162	-35,361	-35,36	-0,28	-0,28
153	-0,0041	0,0042	-0,0192	0,00105	-37,033	-37,03	-0,278	-0,28
154	-0,0048	0,0039	-0,0189	0,00123	-35	-35	-0,28	-0,28
155	-0,0046	0,0042	-0,0154	0,00433	-35,934	-35,93	-0,272	-0,27
156	-0,0062	0,0046	-0,017	-0,00175	-37,197	-37,2	-0,274	-0,27
157	-0,0061	0,0034	-0,0155	0,0013	-36,344	-36,34	-0,279	-0,28
158	-0,007	0,0153	-0,0166	-0,00067	-37,115	-37,12	-0,272	-0,27
159	-0,0052	0,0147	0,0089	0,17613	-36,836	-36,84	-0,28	-0,28
160	-0,0021	0,0151	-0,0005	0,23586	-46,754	-46,75	-0,272	-0,27
161	-0,0082	0,0053	0,0274	0,10121	-55,803	-55,8	-0,262	-0,26
162	-0,0073	0,0074	0,0153	0,11647	-57	-57	-0,23	-0,23
163	-0,0054	0,0074	0,0129	0,1721	-57	-57	-0,23	-0,23
164	-0,0041	0,0083	-0,0098	0,19064	-57	-57	-0,23	-0,23

165	-0,0026	0,0096	-0,0093	0,19043	-57	-57	-0,23	-0,23
166	-0,0023	0,0089	-0,0096	0,19417	-57	-57	-0,23	-0,23
167	-0,0016	0,0096	-0,0096	0,19891	-57	-57	-0,23	-0,23
168	-0,0041	0,0088	-0,0083	0,06754	-57	-57	-0,23	-0,23
169	-0,0027	0,0085	-0,007	0,02847	-57	-57	-0,23	-0,23
170	-0,0024	0,0109	-0,0063	0,03322	-57	-57	-0,23	-0,23
171	-0,0013	0,0106	-0,0075	0,0285	-57	-57	-0,23	-0,23
172	-0,0014	0,0106	-0,0077	0,0303	-57	-57	-0,23	-0,23
173	-0,0019	0,0099	-0,008	0,037	-57	-57	-0,23	-0,23
174	-0,0015	0,0104	-0,0134	0,03378	-57	-57	-0,23	-0,23
175	-0,0004	0,0118	-0,0119	0,12164	-57	-57	-0,23	-0,23
176	0,00043	0,0131	-0,0058	0,19889	-57	-57	-0,23	-0,23
177	0,00285	0,0139	0,0071	0,2147	-57	-57	-0,23	-0,23
178	0,00388	0,0143	0,0058	0,1016	-57	-57	-0,23	-0,23
179	0,00402	0,0147	0,0043	0,12011	-57	-57	-0,23	-0,23
180	0,00636	0,0145	0,0022	0,20733	-57	-57	-0,23	-0,23
181	0,00575	0,0137	0,0181	0,2005	-57	-57	-0,23	-0,23
182	0,00745	0,0138	0,047	0,19309	-57	-57	-0,23	-0,23
183	0,00627	0,0152	0,0387	0,18841	-57	-57	-0,23	-0,23
184	0,00565	0,0127	0,014	0,11493	-57	-57	-0,23	-0,23
185	-0,0009	0,0108	-0,0106	0,03393	-57	-57	-0,23	-0,23
186	-0,0007	0,0113	-0,0129	0,03894	-57	-57	-0,23	-0,23
187	0,00064	0,0129	-0,0096	0,18732	-57	-57	-0,23	-0,23
188	0,00285	0,0135	-0,004	0,20564	-57	-57	-0,23	-0,23
189	0,00458	0,0147	0,0049	0,22072	-57	-57	-0,23	-0,23
190	0,00469	0,015	0,0042	0,19946	-57	-57	-0,23	-0,23
191	0,00492	0,0148	0,0029	0,20829	-57	-57	-0,23	-0,23
192	0,00594	0,0147	0,0146	0,20432	-57	-57	-0,23	-0,23

193	0,00487	0,0141	0,0365	0,18729	-57	-57	-0,23	-0,23
194	0,00849	0,0122	0,0261	0,18225	-57	-57	-0,23	-0,23
195	0,00751	0,0124	0,0211	0,18124	-57	-57	-0,23	-0,23
196	0,00934	0,0122	0,0009	0,18037	-57	-57	-0,23	-0,23
197	0,00834	0,0115	-1E-05	0,18243	-57	-57	-0,23	-0,23
198	0,00629	0,0124	0,0126	0,19327	-57	-57	-0,23	-0,23
199	-0,0541	0,0111	0,0063	0,20355	-57	-57	-0,23	-0,23
200	-0,1012	0,0092	-0,0036	0,21529	-57	-57	-0,23	-0,23
201	-0,1592	0,0133	-0,0209	0,20491	-57	-57	-0,23	-0,23
202	-0,1442	0,0079	-0,0201	0,20477	-57	-57	-0,23	-0,23
203	-0,136	0,0061	-0,0222	0,20127	-57	-57	-0,23	-0,23
204	-0,1282	0,0039	-0,0207	0,19607	-57	-57	-0,23	-0,23
205	-0,1247	0,0029	-0,0145	0,19281	-57	-57	-0,23	-0,23
206	-0,1075	-4E-04	-0,0025	0,18944	-57	-57	-0,23	-0,23
207	0,0022	0,0113	-0,0029	0,18133	-57	-57	-0,23	-0,23
208	0,00792	0,0109	0,0036	0,1822	-57	-57	-0,23	-0,23
209	0,00696	0,0123	0,013	0,18624	-57	-57	-0,23	-0,23
210	-0,0495	0,0106	0,0115	0,18452	-57	-57	-0,23	-0,23
211	-0,1147	0,0105	0,0149	0,20629	-57	-57	-0,23	-0,23
212	-0,116	0,0154	-0,0074	0,21266	-57	-57	-0,23	-0,23
213	-0,1451	0,0109	-0,022	0,20591	-57	-57	-0,23	-0,23
214	-0,1358	0,0076	-0,0226	0,20228	-57	-57	-0,23	-0,23
215	-0,1241	0,0046	-0,0216	0,19716	-57	-57	-0,23	-0,23
216	-0,1274	0,0023	-0,0177	0,19183	-57	-57	-0,23	-0,23
217	-0,1101	0,0011	0,0003	0,18887	-57	-57	-0,23	-0,23
218	-0,0952	-6E-04	-0,0005	0,1886	-57	-57	-0,23	-0,23
219	-0,0889	0,0003	-0,003	0,19048	-57	-57	-0,23	-0,23
220	-0,0897	-0,001	-0,0017	0,18807	-57	-57	-0,23	-0,23

221	-0,0881	-0,002	-0,0014	0,17769	-57	-57	-0,23	-0,23
222	-0,0685	0,0035	-0,0043	0,19396	-57	-57	-0,23	-0,23
223	-0,0499	0,0102	-0,0128	0,21007	-57	-57	-0,23	-0,23
224	-0,0418	0,0117	-0,0246	0,20739	-57	-57	-0,23	-0,23
225	-0,0377	0,0116	-0,0265	0,15392	-57	-57	-0,23	-0,23
226	-0,0359	0,0098	-0,0256	0,1787	-57	-57	-0,23	-0,23
227	-0,0337	0,0092	-0,0231	0,2169	-57	-57	-0,23	-0,23
228	-0,0288	0,009	-0,0186	0,20921	-57	-57	-0,23	-0,23
229	-0,0262	0,0076	-0,0164	0,20558	-57	-57	-0,23	-0,23
230	-0,0254	0,0074	-0,0133	0,20463	-57	-57	-0,23	-0,23
231	-0,0867	-0,001	-0,003	0,18968	-57	-57	-0,23	-0,23
232	-0,0873	-0,002	0,0004	0,18477	-57	-57	-0,23	-0,23
233	-0,073	9E-05	-0,0056	0,1878	-57	-57	-0,23	-0,23
234	-0,0512	0,0088	-0,0103	0,20687	-57	-57	-0,23	-0,23
235	-0,0435	0,0114	-0,018	0,19563	-57	-57	-0,23	-0,23
236	-0,0381	0,0123	-0,0278	0,1161	-57	-57	-0,23	-0,23
237	-0,0368	0,011	-0,0253	0,19233	-57	-57	-0,23	-0,23
238	-0,0337	0,0097	-0,0267	0,21518	-57	-57	-0,23	-0,23
239	-0,0306	0,0091	-0,0234	0,21264	-57	-57	-0,23	-0,23
240	-0,0249	0,0087	-0,0196	0,20652	-57	-57	-0,23	-0,23
241	-0,0233	0,007	-0,0148	0,20435	-57	-57	-0,23	-0,23
242	-0,0238	0,0062	-0,0106	0,20058	-57	-57	-0,23	-0,23
243	-0,0228	0,0081	-0,011	0,20031	-57	-57	-0,23	-0,23
244	-0,0215	0,0078	-0,012	0,19697	-57	-57	-0,23	-0,23
245	-0,0219	0,0067	-0,012	0,19812	-57	-57	-0,23	-0,23
246	-0,0232	0,0098	-0,0144	0,20169	-57	-57	-0,23	-0,23
247	-0,027	0,0121	-0,0253	0,21556	-57	-57	-0,23	-0,23
248	-0,0315	0,0144	-0,0289	0,22458	-57	-57	-0,23	-0,23

249	-0,0332	0,0149	-0,0283	0,22013	-57	-57	-0,23	-0,23
250	-0,0181	0,0152	-0,0264	0,21326	-57	-57	-0,23	-0,23
251	-0,0097	0,0152	-0,0229	0,20808	-57	-57	-0,23	-0,23
252	-0,0093	0,0139	-0,021	0,20434	-57	-57	-0,23	-0,23
253	-0,0095	0,0148	-0,0152	0,21692	-57	-57	-0,23	-0,23
254	-0,0085	0,0151	-0,0197	0,2329	-57	-57	-0,23	-0,23
255	-0,0215	0,0084	-0,015	0,19687	-57	-57	-0,23	-0,23
256	-0,0206	0,0073	-0,0112	0,19701	-57	-57	-0,23	-0,23
257	-0,0202	0,0086	-0,0153	0,19975	-57	-57	-0,23	-0,23
258	-0,0244	0,0118	-0,0277	0,21186	-57	-57	-0,23	-0,23
259	-0,0287	0,0136	-0,0309	0,22084	-57	-57	-0,23	-0,23
260	-0,034	0,015	-0,0307	0,22415	-57	-57	-0,23	-0,23
261	-0,0284	0,0158	-0,0254	0,21926	-57	-57	-0,23	-0,23
262	-0,0115	0,0149	-0,0226	0,21088	-57	-57	-0,23	-0,23
263	-0,0095	0,0142	-0,0124	0,20384	-57	-57	-0,23	-0,23
264	-0,0094	0,0134	-0,0184	0,2109	-57	-57	-0,23	-0,23
265	-0,0089	0,0142	-0,0143	0,2245	-57	-57	-0,23	-0,23
266	-0,0079	0,0155	-0,005	0,23745	-57	-57	-0,23	-0,23
267	-0,0086	0,0141	-0,0043	0,24315	-57	-57	-0,23	-0,23
268	-0,0086	0,0138	-0,0028	0,2552	-57	-57	-0,23	-0,23
269	-0,0085	0,0147	-0,0034	0,26928	-57	-57	-0,23	-0,23
270	-0,009	0,0152	-0,0073	0,25713	-57	-57	-0,23	-0,23
271	-0,0084	0,0143	-0,0047	0,26577	-57	-57	-0,23	-0,23
272	-0,0084	0,015	-0,0089	0,27104	-57	-57	-0,23	-0,23
273	-0,0088	0,0145	-0,0144	0,22669	-57	-57	-0,23	-0,23
274	-0,0077	0,0155	-0,0046	0,23715	-57	-57	-0,23	-0,23
275	-0,0087	0,0143	-0,0047	0,24244	-57	-57	-0,23	-0,23
276	-0,0088	0,0139	-0,0038	0,25067	-57	-57	-0,23	-0,23

277	-0,0083	0,0143	-0,0027	0,2688	-57	-57	-0,23	-0,23
278	-0,0088	0,0153	-0,0069	0,25895	-57	-57	-0,23	-0,23
279	-0,0088	0,014	-0,0045	0,25915	-57	-57	-0,23	-0,23
280	-0,0087	0,0144	-0,0071	0,27498	-57	-57	-0,23	-0,23
281	-0,0079	0,0151	-0,0051	0,27442	-57	-57	-0,23	-0,23
282	-0,0084	0,0152	-0,0091	0,27726	-57	-57	-0,23	-0,23
283	-0,008	0,0146	-0,0053	0,27306	-57	-57	-0,23	-0,23
284	-0,0085	0,0148	-0,0064	0,27569	-57	-57	-0,23	-0,23
285	-0,0087	0,0146	-0,0074	0,27517	-57	-57	-0,23	-0,23
286	-0,0078	0,0151	-0,0054	0,27409	-57	-57	-0,23	-0,23
287	-0,0082	0,0153	-0,0093	0,27766	-57	-57	-0,23	-0,23
288	-0,0072	0,0167	-0,0091	0,2803	-57	-57	-0,23	-0,23
289	-0,0107	0,0196	-0,0196	0,19233	-57	-57	-0,23	-0,23
290	-0,0164	0,0211	-0,0069	0,07059	-57	-57	-0,23	-0,23
291	-0,0183	0,022	0,0014	-0,00256	-57	-57	-0,23	-0,23
292	-0,0187	0,0213	-0,0024	0,1321	-57	-57	-0,23	-0,23
293	-0,0151	0,0199	-0,0082	0,19392	-57	-57	-0,23	-0,23
294	-0,0169	0,0196	-0,01	-0,00262	-57	-57	-0,23	-0,23
295	-0,0162	0,02	-0,0079	-0,00198	-57	-57	-0,23	-0,23
296	-0,0248	0,0186	-0,0151	-0,00626	-57	-57	-0,23	-0,23
297	-0,0257	0,0176	-0,0176	-0,00097	-57	-57	-0,23	-0,23
298	-0,0118	0,0193	-0,0185	0,17217	-57	-57	-0,23	-0,23
299	-0,0138	0,0206	-0,0182	0,14013	-57	-57	-0,23	-0,23
300	-0,0178	0,0221	0,0041	-0,00216	-57	-57	-0,23	-0,23
301	-0,0194	0,0212	-0,0006	0,03978	-57	-57	-0,23	-0,23
302	-0,0158	0,0207	-0,006	0,19608	-57	-57	-0,23	-0,23
303	-0,0148	0,0197	-0,0102	0,07934	-57	-57	-0,23	-0,23
304	-0,0167	0,02	-0,0085	-0,00248	-57	-57	-0,23	-0,23

305	-0,02	0,0194	-0,0079	-0,00795	-57	-57	-0,23	-0,23
306	-0,0245	0,0187	-0,0178	0,00084	-57	-57	-0,23	-0,23
307	-0,0222	0,0175	-0,0174	0,04458	-57	-57	-0,23	-0,23
308	-0,0106	0,0198	-0,02	0,18568	-57	-57	-0,23	-0,23
309	-0,0186	0,0217	-0,0018	0,02691	-57	-57	-0,23	-0,23
310	-0,0188	0,0217	0,0013	-0,00314	-57	-57	-0,23	-0,23
311	-0,0177	0,0215	-0,0038	0,16608	-57	-57	-0,23	-0,23
312	-0,0143	0,0194	-0,009	0,1566	-57	-57	-0,23	-0,23
313	-0,0242	0,0182	-0,0176	-0,01015	-57	-57	-0,23	-0,23
314	-0,0245	0,0166	-0,018	-0,00475	-57	-57	-0,23	-0,23
315	-0,0228	0,0163	-0,0101	-0,0034	-57	-57	-0,23	-0,23
316	-0,0229	0,0162	-0,019	0,00164	-57	-57	-0,23	-0,23
317	-0,023	0,0148	-0,016	0,00185	-57	-57	-0,23	-0,23
318	-0,0231	0,0145	-0,0043	0,00139	-57	-57	-0,23	-0,23
319	-0,023	0,015	-0,0056	-0,00152	-57	-57	-0,23	-0,23
320	-0,0226	0,0146	-0,0048	-0,00041	-57	-57	-0,23	-0,23
321	-0,0215	0,0145	-0,0029	-0,00434	-57	-57	-0,23	-0,23
322	-0,0209	0,0151	-0,0034	0,03165	-57	-57	-0,23	-0,23
323	-0,0197	0,0165	-0,0054	0,13061	-57	-57	-0,23	-0,23
324	-0,0205	0,0174	-0,0048	0,12859	-57	-57	-0,23	-0,23
325	-0,0171	0,0175	-0,0046	0,12802	-57	-57	-0,23	-0,23
326	-0,0116	0,0183	-0,0027	0,12701	-57	-57	-0,23	-0,23
327	-0,0048	0,0191	-0,005	0,05463	-57	-57	-0,23	-0,23
328	-0,0031	0,0191	-0,0051	-9,5E-05	-57	-57	-0,23	-0,23
329	-0,0029	0,0193	-0,0033	0,00189	-57	-57	-0,23	-0,23
330	-0,0032	0,0193	-0,004	-0,00653	-57	-57	-0,23	-0,23
331	-0,004	0,0191	-0,0038	-0,00235	-57	-57	-0,23	-0,23
332	-0,0042	0,019	-0,0037	-0,00235	-57	-57	-0,23	-0,23

333	-0,0037	0,0193	-0,0033	-0,00475	-57	-57	-0,23	-0,23
334	-0,0046	0,0191	-0,0024	0,00208	-57	-57	-0,23	-0,23
335	-0,0048	0,0178	-0,0019	-0,00727	-57	-57	-0,23	-0,23
336	-0,0052	0,0183	-0,004	-0,00544	-57	-57	-0,23	-0,23
337	-0,005	0,0185	-0,0014	-0,00369	-57	-57	-0,23	-0,23
338	-0,0041	0,0175	-0,004	-0,00456	-57	-57	-0,23	-0,23
339	-0,0045	0,0162	-0,0033	-0,00062	-57	-57	-0,23	-0,23
340	-0,0066	0,015	-0,0013	-0,00304	-57	-57	-0,23	-0,23
341	-0,0066	0,0154	-0,0009	-0,00385	-57	-57	-0,23	-0,23
342	-0,0071	0,0149	-0,0028	-0,00223	-57	-57	-0,23	-0,23
343	-0,0057	0,0143	-0,0028	-0,00309	-57	-57	-0,23	-0,23
344	-0,0051	0,0137	-0,0025	-0,0044	-57	-57	-0,23	-0,23
345	-0,0032	0,0146	-0,0045	0,00041	-57	-57	-0,23	-0,23
346	-0,0013	0,0143	-0,0029	-0,00269	-57	-57	-0,23	-0,23
347	0,00103	0,0153	-0,0022	-0,00511	-57	-57	-0,23	-0,23
348	0,00197	0,0164	-0,0017	-0,00333	-57	-57	-0,23	-0,23
349	0,00335	0,0178	-0,0044	-0,00321	-57	-57	-0,23	-0,23
350	0,00218	0,0195	-0,0032	-0,00023	-57	-57	-0,23	-0,23
351	0,00389	0,0213	-0,004	-0,00051	-57	-57	-0,23	-0,23
352	0,00368	0,0208	-0,0038	0,00348	-57	-57	-0,23	-0,23
353	0,00348	0,0213	-0,0037	0,00041	-57	-57	-0,23	-0,23
354	0,00308	0,0213	-0,004	-0,00133	-57	-57	-0,23	-0,23
355	0,00229	0,0213	-0,0044	-0,00411	-57	-57	-0,23	-0,23
356	0,00216	0,0203	-0,0044	0,00045	-57	-57	-0,23	-0,23
357	0,00216	0,0209	-0,0039	-0,00423	-57	-57	-0,23	-0,23
358	0,00101	0,0201	-0,0037	-0,00131	-57	-57	-0,23	-0,23
359	0,00087	0,0201	-0,0048	-0,00246	-57	-57	-0,23	-0,23
360	0,00145	0,02	-0,0051	-0,00818	-57	-57	-0,23	-0,23

361	0,00053	0,0189	-0,0043	-0,00585	-57	-57	-0,23	-0,23
362	0,00118	0,0178	-0,0063	0,00442	-57	-57	-0,23	-0,23
363	0,0003	0,0166	-0,0065	0,00053	-57	-57	-0,23	-0,23
364	-9E-05	0,0165	-0,0068	-0,00644	-57	-57	-0,23	-0,23
365	0,00014	0,0172	-0,0085	-0,00436	-57	-57	-0,23	-0,23
366	-0,0006	0,0167	-0,0093	0,0008	-57	-57	-0,23	-0,23
367	-1E-05	0,0166	-0,0091	-0,00932	-57	-57	-0,23	-0,23
368	-0,0002	0,0159	-0,0078	0,00026	-57	-57	-0,23	-0,23
369	0,00072	0,0166	-0,0085	-0,00546	-57	-57	-0,23	-0,23
370	0,0003	0,0168	-0,0074	-0,00356	-57	-57	-0,23	-0,23
371	0,00141	0,0171	-0,0075	-0,00116	-57	-57	-0,23	-0,23
372	0,00229	0,0178	-0,0051	0,00093	-57	-57	-0,23	-0,23
373	0,00204	0,019	-0,0042	-0,00072	-57	-57	-0,23	-0,23
374	0,0024	0,0205	-0,0045	4E-05	-57	-57	-0,23	-0,23
375	0,00243	0,0209	-0,0043	-0,00486	-57	-57	-0,23	-0,23
376	0,00241	0,0214	-0,0034	-0,00152	-57	-57	-0,23	-0,23
377	0,00272	0,0212	-0,0039	-0,00302	-57	-57	-0,23	-0,23
378	0,00298	0,021	-0,0038	-0,00505	-57	-57	-0,23	-0,23
379	0,00308	0,0211	-0,0035	0,00122	-57	-57	-0,23	-0,23
380	0,00312	0,021	-0,0041	-0,00283	-57	-57	-0,23	-0,23
381	0,00199	0,0206	-0,0039	-0,00156	-57	-57	-0,23	-0,23
382	0,00216	0,0205	-0,0039	-0,0025	-57	-57	-0,23	-0,23
383	0,00183	0,0197	-0,004	0,00145	-57	-57	-0,23	-0,23
384	0,00183	0,0197	-0,0038	-0,00356	-57	-57	-0,23	-0,23
385	0,00157	0,0189	-0,0028	-0,00263	-57	-57	-0,23	-0,23
386	0,00153	0,0178	-0,0035	-0,00377	-57	-57	-0,23	-0,23
387	0,00126	0,0167	-0,0027	-0,00208	-57	-57	-0,23	-0,23
388	0,00103	0,0164	-0,0036	-0,00396	-57	-57	-0,23	-0,23

389	0,00139	0,0144	-0,0051	-0,00041	-57	-57	-0,23	-0,23
390	3,1E-05	0,0137	-0,0067	-0,00271	-57	-57	-0,23	-0,23
391	0,00043	0,0147	-0,0053	-0,00097	-57	-57	-0,23	-0,23
392	0,00149	0,0163	-0,0039	0,00082	-57	-57	-0,23	-0,23
393	0,0026	0,0176	-0,003	-0,00154	-57	-57	-0,23	-0,23
394	0,00167	0,0162	-0,0021	-0,00191	-57	-57	-0,23	-0,23
395	0,00204	0,0154	-0,0013	-0,00028	-57	-57	-0,23	-0,23
396	0,00227	0,0146	-0,0013	-0,00333	-57	-57	-0,23	-0,23
397	0,00099	0,0135	-0,0015	-0,00609	-57	-57	-0,23	-0,23
398	0,00054	0,0164	-0,0027	-0,00094	-57	-57	-0,23	-0,23
399	0,00066	0,0159	-0,0035	-0,00087	-57	-57	-0,23	-0,23
400	0,00032	0,0145	-0,0045	-0,00233	-57	-57	-0,23	-0,23
401	9,4E-05	0,014	-0,007	-0,003	-57	-57	-0,23	-0,23
402	0,00143	0,0149	-0,006	0,0036	-57	-57	-0,23	-0,23
403	0,00078	0,0156	-0,0034	-0,00509	-57	-57	-0,23	-0,23
404	0,00143	0,017	-0,0026	0,0032	-57	-57	-0,23	-0,23
405	0,00181	0,017	-0,0014	-0,00331	-57	-57	-0,23	-0,23
406	0,00204	0,0161	-0,0019	-0,00218	-57	-57	-0,23	-0,23
407	0,00233	0,0148	-0,0011	-0,00129	-57	-57	-0,23	-0,23
408	0,00072	0,0137	-0,0009	0,00034	-57	-57	-0,23	-0,23
409	0,0012	0,0135	-0,0012	-0,00075	-57	-57	-0,23	-0,23
410	0,0013	0,0131	-0,0019	-0,00264	-57	-57	-0,23	-0,23
411	0,00064	0,0122	-0,001	-0,00243	-57	-57	-0,23	-0,23
412	0,00068	0,0111	-0,0022	-0,0045	-57	-57	-0,23	-0,23
413	-0,0003	0,0105	-0,0017	-0,005	-57	-57	-0,23	-0,23
414	-5E-05	0,0105	-0,0015	0,00224	-57	-57	-0,23	-0,23
415	0,00033	0,0116	-0,0012	-0,00275	-57	-57	-0,23	-0,23
416	0,00032	0,0135	-0,0006	-0,00561	-57	-57	-0,23	-0,23

417	-0,0003	0,0126	-0,0007	-0,00515	-57	-57	-0,23	-0,23
418	0,00058	0,0122	-0,0017	-0,00607	-57	-57	-0,23	-0,23
419	0,00089	0,0112	-0,0003	-0,00615	-57	-57	-0,23	-0,23
420	0,00051	0,011	-0,0006	-0,00197	-57	-57	-0,23	-0,23
421	0,00147	0,0107	-0,001	0,0013	-57	-57	-0,23	-0,23
422	0,00034	0,012	-0,0012	-0,00324	-57	-57	-0,23	-0,23
423	0,00137	0,0117	-0,0014	-0,00099	-57	-57	-0,23	-0,23
424	0,00055	0,0111	-0,0004	0,0007	-57	-57	-0,23	-0,23
425	-0,0002	0,0102	-0,0011	0,00084	-57	-57	-0,23	-0,23
426	0,00114	0,0117	-0,0025	-0,00358	-57	-57	-0,23	-0,23
427	0,00126	0,0134	-0,0006	-0,00187	-57	-57	-0,23	-0,23
428	0,00116	0,0137	7E-05	-0,00404	-57	-57	-0,23	-0,23
429	0,00018	0,0127	0,0001	-0,00319	-57	-57	-0,23	-0,23
430	0,00085	0,0113	-0,0003	-0,00064	-57	-57	-0,23	-0,23
431	-0,0002	0,0108	-0,0013	-0,00246	-57	-57	-0,23	-0,23
432	-1E-05	0,0101	-0,0016	-0,00452	-57	-57	-0,23	-0,23
433	-0,0002	0,0084	-0,0007	-0,00116	-57	-57	-0,23	-0,23
434	-3E-05	0,0089	-0,0014	-0,00369	-57	-57	-0,23	-0,23
435	-0,0005	0,0087	-0,0008	-0,00066	-57	-57	-0,23	-0,23
436	0,00016	0,0086	-0,0002	-0,00175	-57	-57	-0,23	-0,23
437	-0,0006	0,0072	-0,0011	-0,0006	-57	-57	-0,23	-0,23
438	-0,0006	0,0079	-0,0022	-0,00302	-57	-57	-0,23	-0,23
439	3,1E-06	0,0091	-0,0009	0,00191	-57	-57	-0,23	-0,23
440	0,00091	0,0104	-0,0003	-0,00534	-57	-57	-0,23	-0,23
441	-0,0003	0,0087	-3E-05	0,00137	-57	-57	-0,23	-0,23
442	-4E-05	0,0091	-0,0013	0,00076	-57	-57	-0,23	-0,23
443	-0,0003	0,0083	-0,0017	-0,00141	-57	-57	-0,23	-0,23
444	0,00018	0,0086	-0,0013	-0,00168	-57	-57	-0,23	-0,23

445	-0,0003	0,0081	-0,0019	-0,0022	-57	-57	-0,23	-0,23
446	0,00027	0,0094	-0,0009	-8,3E-05	-57	-57	-0,23	-0,23
447	0,00124	0,0103	-0,0005	-0,00037	-57	-57	-0,23	-0,23
448	0,00199	0,0105	-0,0012	-0,00383	-57	-57	-0,23	-0,23
449	0,00193	0,0106	-0,0004	-0,00164	-57	-57	-0,23	-0,23
450	0,0021	0,011	-0,0007	0,00034	-57	-57	-0,23	-0,23
451	0,00172	0,0105	-0,001	-0,00256	-57	-57	-0,23	-0,23
452	0,00195	0,0106	-0,0005	-0,00317	-57	-57	-0,23	-0,23
453	0,00191	0,0105	-0,0008	-0,00145	-57	-57	-0,23	-0,23
454	0,00204	0,0106	-0,0009	-0,00348	-57	-57	-0,23	-0,23
455	0,00185	0,0105	-0,0005	-0,00076	-57	-57	-0,23	-0,23
456	0,00209	0,0102	-0,0021	-0,00844	-57	-57	-0,23	-0,23
457	0,00114	0,0133	0,0042	-0,00207	-57	-57	-0,23	-0,23
458	-0,0002	0,013	0,0009	-0,00617	-57	-57	-0,23	-0,23
459	0,00101	0,0131	0,0039	-0,00183	-57	-57	-0,23	-0,23
460	-0,0001	0,013	0,0007	-0,00596	-57	-57	-0,23	-0,23
461	0,00097	0,0131	0,0041	-0,00126	-57	-57	-0,23	-0,23
462	-5E-05	0,0131	0,0006	-0,00605	-57	-57	-0,23	-0,23
463	0,00065	0,0131	0,0035	-0,00177	-57	-57	-0,23	-0,23
464	7,3E-05	0,0128	0,0014	-0,00494	-57	-57	-0,23	-0,23
465	0,00082	0,0132	0,0032	-0,00314	-57	-57	-0,23	-0,23
466	-0,0003	0,0129	0,0004	-0,00769	-57	-57	-0,23	-0,23
467	0,00078	0,0129	0,0039	-0,00241	-57	-57	-0,23	-0,23
468	-0,0001	0,013	0,0011	-0,00553	-57	-57	-0,23	-0,23
469	0,00089	0,013	0,0038	-0,00204	-57	-57	-0,23	-0,23
470	-0,0004	0,0129	0,0003	-0,00731	-57	-57	-0,23	-0,23
471	0,00091	0,013	0,0037	-0,00139	-57	-57	-0,23	-0,23
472	-7E-05	0,0131	0,0015	-0,0064	-57	-57	-0,23	-0,23

473	0,00085	0,013	0,0031	-0,002	-57	-57	-0,23	-0,23
474	1E-05	0,0131	0,0014	-0,00563	-57	-57	-0,23	-0,23
475	0,00089	0,013	0,0035	-0,00266	-57	-57	-0,23	-0,23
476	-9E-05	0,013	0,0016	-0,005	-57	-57	-0,23	-0,23
477	0,00089	0,013	0,0032	-0,00273	-57	-57	-0,23	-0,23
478	-0,0002	0,0129	0,0018	-0,00492	-57	-57	-0,23	-0,23
479	0,00087	0,013	0,0027	-0,00256	-57	-57	-0,23	-0,23
480	-0,0002	0,013	0,0019	-0,00606	-57	-57	-0,23	-0,23

ANEXOS I Resumen Estadístico Análisis De Resultados Medias Por Día

DIA 1

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
REPETICION	9,2E-04	1	9,2E-04	1,89	0,2633
TRATAMIENTO	149958,47	3	49986,16	102495491,05	<0,0001
Error	1,5E-03	3	4,9E-04		
Total	149958,47	7			

Test: Tukey Alfa=0, 05 DMS= 0,10657

TRATAMIENTO Medias RANGO

4	101,14	A
1	0,03	B
2	0,01	B
3	-267,74	C

($p > 0,05$)

C.V: 0,05

DIA 2

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
REPETICION	1,1E-03	1	1,1E-03	2,68	0,2001
TRATAMIENTO	127210,45	3	42403,48	106945689,45	<0,0001
Error	1,2E-03	3	4,0E-04		
Total	127210,46	7			

Error: 0,0004 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

4,00	43,30	A
2,00	0,03	B
1,00	0,02	B
3,00	-273,90	C

CV: 0.03

DIA 3

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 3,3E-03 1 3,3E-03 1,44 0,3157

TRATAMIENTO 155179,78 3 51726,59 22660321,64 <0,0001

Error 0,01 3 2,3E-03

Total 155179,79 7

Error: 0,0023 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00	0,09	A
1,00	-0,01	A
4,00	-4,24	B
3,00	-323,00	C

CV: 0.06

DIA 4

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 0,01 1 0,01 1,86 0,2658

TRATAMIENTO 57051,67 3 19017,22 2577305,79 <0,0001

Error 0,02 3 0,01

Total 57051,71 7

Error: 0,0074 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

4,00	28,33	A
2,00	0,13	B
1,00	0,02	B
3,00	-183,70	C

DIA 5

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 0,02 1 0,02 2,69 0,1993

TRATAMIENTO 24615,37 3 8205,12 1248404,23 <0,0001

Error	0,02	3	0,01
<u>Total</u>	<u>24615,41</u>	<u>7</u>	

Error: 0,0066 gl: 3
TRATAMIENTO Medias RANGO

4,00	3,38	A
2,00	0,12	B
1,00	0,06	B
3,00	-126,88	C

DIA 6

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	1,5E-05	1	1,5E-05	0,18	0,7032
TRATAMIENTO	111821,12	3	37273,71	424278545,25	<0,0001
Error	2,6E-04	3	8,8E-05		
<u>Total</u>	<u>111821,12</u>	<u>7</u>			

Error: 0,0001 gl: 3
TRATAMIENTO Medias n E.E.

2,00	0,01	2	0,01	A
1,00	3,4E-03	2	0,01	A
3,00	-104,70	2	0,01	B
4,00	-289,46	2	0,01	C

DIA 7

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	1,0E-03	1	1,0E-03	1,41	0,3202
TRATAMIENTO	2964,77	3	988,26	1374407,12	<0,0001
Error	2,2E-03	3	7,2E-04		
<u>Total</u>	<u>2964,77</u>	<u>7</u>			

DIA 8

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	2,5E-03	1	2,5E-03	1,23	0,3485
TRATAMIENTO	4361,96	3	1453,99	727695,50	<0,0001
Error	0,01	3	2,0E-03		

Total 4361,97 7

Error: 0,0007 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00 0,03 A

1,00 1,3E-03 A

4,00 -24,94 B

3,00 -46,03 C

DIA 9

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 0,01 1 0,01 2,21 0,2342

TRATAMIENTO 4361,30 3 1453,77 337718,55 <0,0001

Error 0,01 3 4,3E-03

Total 4361,32 7

Error: 0,0020 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00 0,07 A

1,00 0,01 A

4,00 -23,00 B

3,00 -57,00 C

DIA 10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 0,01 1 0,01 1,89 0,2628

TRATAMIENTO 4361,22 3 1453,74 305789,62 <0,0001

Error 0,01 3 4,8E-03

Total 4361,24 7

Error: 0,0043 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00 0,10 A

1,00 -0,03 A

4,00 -23,00 B

3,00 -57,00 C

DIA 11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V. SC gl CM F p-valor

REPETICION 0,01 1 0,01 1,41 0,3210

TRATAMIENTO 4363,26 3 1454,42 238751,43 <0,0001

Error 0,02 3 0,01

Total 4363,29 7

Error: 0,0048 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00	0,09	A
1,00	-0,02	A
4,00	-23,00	B
3,00	-57,00	C

DIA 12

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	0,01	1	0,01	1,24	0,3461
TRATAMIENTO	4366,45	3	1455,48	171599,57	<0,0001
Error	0,03	3	0,01		
<u>Total</u>	<u>4366,49</u>	<u>7</u>			

Error: 0,0061 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00	0,10	A
1,00	-4,4E-03	A
4,00	-23,00	B
3,00	-57,00	C

DIA 13

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	1,7E-03	1	1,7E-03	2,38	0,2206
TRATAMIENTO	4358,59	3	1452,86	1985143,37	<0,0001
Error	2,2E-03	3	7,3E-04		
<u>Total</u>	<u>4358,60</u>	<u>7</u>			

Error: 0,0085 gl: 3

TRATAMIENTO Medias RANGO

2,00	0,13	A
1,00	3,2E-03	A
4,00	-23,00	B
3,00	-57,00	C

DIA 14

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	4,6E-04	1	4,6E-04	2,99	0,1821
TRATAMIENTO	4356,77	3	1452,26	9487482,32	<0,0001
Error	4,6E-04	3	1,5E-04		
<u>Total</u>	<u>4356,77</u>	<u>7</u>			

DIA 15

Cuadro de Análisis de la Varianza

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	4,8E-05	1	4,8E-05	1,12	0,3675
TRATAMIENTO	4356,46	3	1452,15	34238418,91	<0,0001
Error	1,3E-04	3	4,2E-05		
<u>Total</u>	<u>4356,46</u>	<u>7</u>			

DIA 16**Cuadro de Análisis de la Varianza**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	5,4E-05	1	5,4E-05	1,57	0,2988
TRATAMIENTO	4356,50	3	1452,17	42555443,83	<0,0001
Error	1,0E-04	3	3,4E-05		
<u>Total</u>	<u>4356,50</u>	<u>7</u>			

DIA 17**Cuadro de Análisis de la Varianza**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	3,2E-05	1	3,2E-05	1,32	0,3344
TRATAMIENTO	4356,48	3	1452,16	59873164,59	<0,0001
Error	7,3E-05	3	2,4E-05		
<u>Total</u>	<u>4356,48</u>	<u>7</u>			

DIA 18**Cuadro de Análisis de la Varianza**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	1,2E-05	1	1,2E-05	0,68	0,4691
TRATAMIENTO	4356,35	3	1452,12	84132062,02	<0,0001
Error	5,2E-05	3	1,7E-05		
<u>Total</u>	<u>4356,35</u>	<u>7</u>			

DIA 19**Cuadro de Análisis de la Varianza**

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	8,0E-06	1	8,0E-06	0,79	0,4408
TRATAMIENTO	4356,30	3	1452,10	143355420,76	<0,0001
Error	3,0E-05	3	1,0E-05		

<u>Total</u> 4356,30 7

DIA 20

Cuadro de Análisis de la Varianza
--

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
REPETICION	5,0E-06	1	5,0E-06	0,16	0,7182
TRATAMIENTO	4356,47	3	1452,16	45909755,47	<0,0001
Error	9,5E-05	3	3,2E-05		
<u>Total</u>	<u>4356,47</u>	<u>7</u>			