



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“VALORACIÓN DE SUSTRATOS VEGETALES, NITRATOS Y
PLOMO PARA MAXIMIZAR LA PRODUCCIÓN DE
BIOELECTRICIDAD EN CELDAS DE COMBUSTIBLE
MICROBIANO”**

Trabajo de titulación

Tipo: proyecto de investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: JHONNY HERNÁN BONILLA DEL POZO

TUTORA: ING. CRISTINA CALDERÓN T.

Riobamba – Ecuador

2018

©2018, Jhonny Hernán Bonilla Del Pozo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: el trabajo de investigación “**Valoración de sustratos vegetales, nitratos y plomo para maximizar la producción de bioelectricidad en celdas de combustible microbiano**”, de responsabilidad del señor JHONNY HERNÁN BONILLA DEL POZO, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Cristina Calderón T.

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

Dr. Marcelo Ramos F.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jhonny Hernán Bonilla Del Pozo, C.I. 060355324-9, 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 29 de noviembre del 2018

Jhonny Hernán Bonilla Del Pozo

C.I. 060355324-9

Yo, Jhonny Hernán Bonilla Del Pozo, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestas en esta Tesis y en el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Jhonny Hernán Bonilla Del Pozo

DEDICATORIA

A mi familia por haberme apoyado incondicionalmente durante toda mi formación académica, y que aportaron con sus conocimientos y realce moral para poder cumplir con mi meta tan anhelada.

Jhonny

AGRADECIMIENTO

Hago mi formal y sincero agradecimiento a las unidades educativas de mi primaria y secundaria donde fue mi formación como ser humano de bien, conjuntamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ayudarme a obtener mi profesión deseada de toda mi vida y pertenecer a la sociedad de conocimientos sabios.

Jhonny

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	5
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Antecedentes de la investigación	5
1.1. Sustrato	6
1.2. Microorganismos Electrogénicos	7
1.3. Bioelectricidad	8
1.4. Vegetales y Frutas	9
<i>1.5.1. Frutas</i>	11
<i>1.5.2. Vegetales</i>	12
1.5. Aguas residuales como sustratos en CCMs	13
<i>1.6.1. Nitratos en agua residual</i>	13
1.6. Metales Pesados	14
1.7. Suelos de paramo	16
1.8. Celdas de Combustible Microbiano	18
<i>1.9.1. Estructura de una CCM</i>	19
<i>1.9.2. Sección Anódica</i>	20
<i>1.9.3. Sección Catódica</i>	21
1.9. Aplicaciones de la CCM	22
CAPÍTULO II	24
2. METODOLOGÍA	24

2.1.	Parte experimental	24
2.1.1.	<i>Localización del suelo de paramo para el estudio</i>	24
2.1.2.	<i>Arquitectura y ensamblaje de carcasas para las CCMs</i>	26
2.2.	Métodos	29
2.2.1.	<i>Muestreo del suelo de páramo</i>	29
2.2.2.	<i>Ensayo para la selección de material de electrodos en configuración simple de CCMs.</i>	32
2.2.3.	<i>Preparación de sustratos para la selección de electrodos en CCMs</i>	33
2.2.4.	<i>Construcción y configuración de las CCMs para la selección de electrodos</i>	37
2.2.5.	<i>Selección de electrodos o MIC para la utilización en la CCMs, por reactivar</i>	39
2.2.6.	<i>Monitoreo de CCMs utilizando vegetales para selección de electrodos</i>	41
2.2.7.	<i>Activación de las CCMs con la utilización de vegetales, nitratos y plomo como sustratos</i>	42
2.2.8.	<i>Ensamblaje y activación de la CCM como grupo control</i>	42
2.2.9.	<i>Ensamblaje y activación de la CCM con vegetales como sustrato</i>	44
2.2.10.	<i>Ensamblaje y activación de la CCM con nitratos como sustrato</i>	47
2.2.11.	<i>Ensamblaje y activación de la CCM con plomo como sustrato</i>	49
2.2.12.	<i>Monitoreo y adquisición de datos para las CCMs reactivadas</i>	53
2.2.13.	<i>Evaluación de voltaje producido por las CCMs, con la utilización de vegetales, nitratos y plomo como sustratos</i>	54
2.2.14.	<i>Propuesta de la mejor configuración de CCM</i>	55
2.2.15.	<i>Ensamblaje de la CCM propuesta, utilizando vegetales como sustrato</i>	56
2.2.16.	<i>Monitoreo y evaluación de producción de bioelectricidad de la CCM de mejor configuración</i>	59
2.3.	Técnicas	60
2.3.1.	<i>Análisis del suelo</i>	60
2.3.2.	<i>Análisis de pH</i>	61
2.3.3.	<i>Análisis de temperatura</i>	61
2.3.4.	<i>Análisis de conductividad</i>	62

2.4.	Lugar de investigación	63
2.4.1.	<i>Equipos y materiales experimentales</i>	64
2.4.2.	<i>Equipos y materiales de laboratorio</i>	68
2.5.	Diseño técnico de la investigación	69
2.6.	Planteamiento de la hipótesis	70
 CAPÍTULO III		72
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	72
3.1.	Resultados de los análisis del suelo de páramo	72
3.2.	Resultados de las CCMs para la Selección de electrodos o MIC	74
3.3.	Resultados de las CCMs para valoración de sustratos	76
3.4.	Comprobación de hipótesis	79
3.4.1.	<i>Resultados de la comparación de medias o promedios</i>	79
3.4.2.	<i>Comprobación de hipótesis textual</i>	85
3.5.	Resultados de la mejor configuración de CCM propuesta en la investigación	87
3.6.	Discusión de resultados	89
CONCLUSIONES		91
RECOMENDACIONES		91
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Sustratos utilizados en CCMS de cámara simple	7
Tabla 1-2: Sustancias para las CCMs de selección de electrodos.....	34
Tabla 2-2: Sustratos de CCMs para la selección de electrodos de 1000 ppm.....	34
Tabla 3-2: Sustratos de CCMs para la selección de electrodos de 500 ppm.....	35
Tabla 4-2: Cálculos de concentración para los sustratos, en la determinación de electrodos.	38
Tabla 5-2: Composición de la disolución del suelo de páramo, en la determinación de electrodos.	38
Tabla 6-2: Constitución para las 4 CCMs en la selección de electrodos	39
Tabla 7-2: Sustancias para la CCM sin sustrato.....	42
Tabla 8-2: Conformación del sustrato en la CCM de frutas y vegetales.....	44
Tabla 9-2: Cálculo para la composición de sustrato frutas y vegetales de concentración.	45
Tabla 10-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM de vegetales.	46
Tabla 11-2: Composición de la cámara anódica en la CCM de vegetales.	46
Tabla 12-2: Cálculo para la concentración de nitratos.....	47
Tabla 13-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM en nitratos.....	48
Tabla 14-2: Contenido de la cámara anódica en la CCM de nitratos.....	49
Tabla 15-2: Cálculo para la concentración de plomo.....	50
Tabla 16-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM de plomo como sustrato.	51
Tabla 17-2: Contenido de la cámara anódica en la CCM de plomo como sustrato.	52
Tabla 18-2: Conformación del sustrato para mejor propuesta de CCM.	56
Tabla 19-2: Cálculo para la composición de sustrato en la mejor propuesta de CCM.	57
Tabla 20-2: Composición para la disolución bacteriana en la mejor propuesta de CCM.	57
Tabla 21-2: Composición de la cámara anódica en la mejor propuesta de CCM.	58
Tabla 22-2: Materiales y equipos experimentales.....	64
Tabla 23-2: Materiales y equipos para medición de pH	68
Tabla 1-3: Resultados de los análisis del suelo de páramo.	72
Tabla 2-3: Resultados para la selección de tipo de electrodo.	74
Tabla 3-3: Resultados para la valoración de sustratos utilizados.....	76
Tabla 4-3: Datos para la obtención de p-valor.....	79
Tabla 5-3: Homogeneidad de varianzas.....	80
Tabla 6-3: Rangos para la comparación de medias.....	82
Tabla 7-3: Datos estadísticos para la comparación de medias.....	82

Tabla 8-3: Comparaciones múltiples de medias o promedios.....	83
Tabla 9-3: Determinación de subgrupos homogéneos.	84
Tabla 10-3: Resultados de bioelectricidad para la CCM propuesta.	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Obtención de bioelectricidad electroquímica.	9
Figura 2-1. Vegetales y Frutas.	11
Figura 3-1. Composición de Frutas.	12
Figura 4-1. Composición de Vegetales.	12
Figura 5-1. Representación de una Celda de Combustible Microbiano.	18
Figura 6-1. Arquitectura y Funcionamiento de las CCMs.	20
Figura 1-2. Esquematación de los materiales que se utilizó en la formación de las CCMs.	29
Figura 2-2. Electrodo de fibra de carbono en CCM con materia orgánica.	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3. Conductividad del suelo de páramo.....	73
Gráfico 2-3. Temperatura del suelo de páramo en °C.....	73
Gráfico 3-3. PH de las muestras del suelo de páramo.....	74
Gráfico 4-3. Resultados de bioelectricidad para la selección de electrodos en voltaje.....	75
Gráfico 5-3. Tendencia polinómica para la selección de electrodos.....	76
Gráfico 6-3. Resultados de datos finales para la determinación de sustrato.....	78
Gráfico 7-3. Líneas de tendencia polinómica finales para la determinación de sustrato.....	79
Gráfico 8-3. Probabilidad de bioelectricidad normal.....	80
Gráfico 9-3. Prueba de varianzas para resultados de bioelectricidad respecto a la concentración...	81
Gráfico 10-3. Producción de bioelectricidad en base a la comparación de promedios.....	85
Gráfico 11-3. Resultados de bioelectricidad de la CCM propuesta.....	88
Gráfico 12-3. Línea de tendencia polinómica de bioelectricidad de la CCM propuesta.....	89

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1-1. Páramo Andino – Chimborazo, Pajonal.....	17
Fotografía 1-2. Lugar de estudio – Páramo, superficie Pajonal.....	25
Fotografía 2-2. Altímetro – ft sobre el nivel del mar.	26
Fotografía 3-2. Diseño de piezas para las CCMs.....	27
Fotografía 4-2. Ubicación de estacas en el cuadrante.....	30
Fotografía 5-2. Inserción del barreno en el punto fijado.	31
Fotografía 6-2. Medición de 20cm a 40cm de profundidad.....	31
Fotografía 7-2. Obtención de la muestra.	32
Fotografía 8-2. Multímetro digital MT 15.....	34
Fotografía 9-2. Pesaje de vegetales.....	36
Fotografía 10-2. Ensamblaje de las CCMs.....	37
Fotografía 11-2. Coctel de microorganismos provenientes de suelo de paramo para las CCMs.....	39
Fotografía 12-2. Apreciación de las CCMs con cobre como electrodos.	40
Fotografía 13-2. Apreciación de las CCMs con tejido de fibra de carbono como electrodos.	40
Fotografía 14-2. Toma de datos utilizando el multímetro digital.	41
Fotografía 15-2. Preparación de la disolución de suelo.	43
Fotografía 16-2. Sustratos para la CCM de frutas y vegetales.....	46
Fotografía 17-2. Pesaje de nitratos para la CCM correspondiente.	48
Fotografía 18-2. Solución de 1000 ppm para nitratos.....	49
Fotografía 19-2. Solución de 1000 ppm para plomo.	51
Fotografía 20-2. Introducción de sustrato plomo a la CCM.	52
Fotografía 21-2. Toma de datos para las CCMs activadas.	54
Fotografía 22-2. Selección del mejor sustrato.	55
Fotografía 23-2. Electrodo de cobre.	56
Fotografía 24-2. Introducción bacteriana a la CCM propuesta.....	59
Fotografía 25-2. Aspecto de la CCM propuesta de la investigación.	60
Fotografía 26-2. Muestras listas para análisis.....	60
Fotografía 27-2. Panel de lectura, pH metro.....	61
Fotografía 28-2. Dosificación de muestra 1:2 suelo agua.....	62
Fotografía 29-2. Lectura de conductividad a la muestra.....	63
Fotografía 30-2. CCMs y multímetro digital.	70

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Registro de trabajo en el laboratorio de protección ambiental 1 de 3.

ANEXO B. registro de trabajo en el laboratorio de protección ambiental 2 de 3.

ANEXO C. Registro de trabajo en el laboratorio de protección ambiental 3 de 3.

ANEXO D. Equipo de monitoreo de voltaje próximo a la medida.

ANEXO E. Suelo de para intervenido por el ser humano.

ANEXO F. Presencia de humedad en el suelo de paramo por la presencia de microorganismos.

ANEXO G. Medición del barreno hasta el máximo de profundidad permitida en el trabajo de investigación.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ESPOCH	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
CCMS	Celdas de Combustible Microbiano
MFC	Microbial fuel cell
DQO	Demanda Química de Oxígeno
MEC	Celda microbiológica electrolítica
CCM	Celda microbiológica combustible
NO₃	Nitratos
H₂O	Agua
NO₂	Nitritos
Pb	Plomo
UE	Comunidad Europea
pH	Potencial de Hidrógeno
g	Gramos
Kg	Kilogramos
KNO₃	Nitrato de Potasio
Pb(NO₃)₂	Nitrato de Plomo
M.O.	Materia Orgánica
V	Diferencia de Potencial
mV	Mili voltios
m	Metro
cm	Centímetro
%	Porcentaje

mL	Mililitros
L	Litros
cm³	Centímetros cúbicos
EEC	Directiva Europea
m. s. n. m.	metros sobre el nivel del mar
PEM	membrana de intercambio de protones
PPM	partes por millón
MIC	Membrana de Intercambio Catiónico
MIP	Membrana de Intercambio Protónico
Ha	Hectárea
CO₂	Dióxido de Carbono
BUGs	Benthic Unattended Genarators
Km/ h	Velocidad de kilómetros por hora
Ft	Longitud en pies
atm	Atmosferas de presión
°C	Grados centígrados de temperatura
μS	Micro Siemens

RESUMEN

Esta investigación se basó en la valoración de sustratos vegetales con frutas, nitratos y plomo para maximizar la producción de bioelectricidad provenientes de la reactivación de celdas de combustible microbiano de configuración simple, con el objetivo de evaluar el voltaje producido y proponer la mejor configuración de las mismas, para lo cual se utilizó suelo de páramo proveniente de la reserva de producción de fauna Chimborazo, ubicado a 4000 msnm con un muestreo de 5 puntos en forma de zigzag, a una profundidad de 20cm a 40cm en la superficie vegetal de Pajonal. Se realizó análisis de suelo, como el pH, conductividad y temperatura; se probó electrodos de cobre y electrodos de tejido de fibra de carbono para la utilización final y el monitoreo, donde el mejor productor y conductor de electrones fueron los electrodos de cobre. Mediante este preámbulo se procedió a la reactivación de las celdas de combustible microbiano, con la utilización de 3 diferentes sustratos, acompañado de un blanco testigo o sin sustrato, determinándose así la influencia de los sustratos sobre los microorganismos electrogénicos, los sustratos utilizados fueron vegetales con frutas, nitratos y plomo que aseguran una mejor eficiencia con respecto al blanco o Celda microbiológica combustible (CCM) sin sustratos, se monitoreó durante 15 días, a una misma concentración de 1000 ppm. Mediante este proceso se pudo realizar la valoración de los 3 sustratos utilizados en esta investigación, el sustrato con el que se generó una mayor cantidad de bioelectricidad es vegetales y frutas con un valor de 0.42V, luego el plomo con un valor de 0.34V y finalmente el sustrato de nitratos con un valor de 0.14V. Finalmente se propone la mejor configuración de celda de combustible microbiano para la máxima producción de bioelectricidad, reactivando la celda con los sustratos de frutas y vegetales, utilizando los electrodos de cobre como ánodo y cátodo. Consiguiendo así que se maximice la obtención de bioelectricidad con un nuevo monitoreo de 7 días, produciendo 0.51V valor mayor que los ensayos anteriores.

Palabras claves: <BIOELECTRICIDAD> <SUSTRATOS> <CELDA DE COMBUSTIBLE MICROBIANO (CCM)> <VALORACIÓN> <INGENIERÍA QUÍMICA>

ABSTRACT

This research was based on vegetable substrates with fruits, nitrates and lead valuation in order to maximize the production of bioelectricity from the reactivation of microbial fuel cells (MFC) of simple configuration. The objective was to assess the voltage produced and propose the best configuration by using moorland soil from Chimborazo fauna production reserve fauna, located at 4000 m above sea level with a sampling of 5 points, a depth of 20 cm to 40 cm on the grassy brush plant cover. The analysis of soil, pH, conductivity and temperature was carried out as well as copper electrodes and fiberglass fabric of carbon electrodes were tested for monitoring, where the best producer and conductor of electrons were the copper electrodes. Based on this preamble, the microbial fuel cells (MFCs) were reactivated by using 3 substrates, with a control blank or without substrate, determining the influence of the substrates on the electrogenic microorganisms. The substrates were vegetables with fruits, nitrates and lead with a greater efficiency with respect to the control blank or MFC without substrates, it was monitored for 15 days in a concentration of 1000 parts per million (ppm). Through this process, the 3 substrates used in this research were evaluated, the substrate which generated a greater amount of bioelectricity was vegetables and fruits with a value of 0.42 V, then the lead with a value of 0.34 V and finally the nitrate substrate with a value of 0.14V. Finally, the best microbial fuel cell configuration is proposed for the maximum bioelectricity production, reactivating the cell with the fruit and vegetable substrates, using the copper electrodes as anode and cathode. Achieving that the bioelectricity production is maximized with a new monitoring of 7 days, producing 0.51V, a higher value than the previous trials.

KEYWORDS: <CHEMISTRY>, <BIOELECTRICITY>, <SUBSTRATES>, <MICROBIAL FUEL CELLS>, <BIOELECTRICITY VALUATION>.

INTRODUCCIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En el Ecuador existen microorganismos con aplicaciones variadas, como para la producción de alimentos, biorremediación de ambiente y microorganismos productores de bioelectricidad, dando prioridad a estudios recientes en universidades y centros tecnológicos pertenecientes al país como la ESPOCH, donde se busca sustituir las fuentes de energía tradicionales como el uso de combustibles no renovables, estos combustibles provocan la contaminación de la atmosfera, en lo que respecta a estos estudios actuales se utilizan celdas de combustible microbiano (CCMs), donde utilizan microorganismos electrogénicamente activos (Logan, 2009). Que pueden ser una fuente de energía eléctrica, y un posible alivio para la contaminación.

Al tratar el tema de la energía eléctrica en el país, ya no existe tanto apremio como en décadas anteriores como en los años 80 y 90, pero al momento las grandes hidroeléctricas construidas recientemente cubren solo una parte de la demanda del país en energía eléctrica, por esta razón hace falta subsistemas que permitan que toda la población tenga electricidad, como por ejemplo las celdas de combustible microbiano (Revelo, et al., 2013), (actualmente 2.8% del país no tienen energía), la mayoría de este porcentaje pertenece a la zona rural. Lo mismo pasa con diferentes países que buscan innovación y producción de energía eléctrica a partir de sustratos, sean estos orgánicos o inorgánicos con microorganismos electrogénicos. (ElComercio, 2016)

Se requiere el desarrollo de investigaciones que busquen aprovechar sustratos óptimos, frente a microorganismos que produzcan energía, para obtener mejores resultados en la producción de bioelectricidad.

En la actualidad, el desarrollo de tecnologías eficientes, baratas y amigables con el ambiente como por ejemplo la utilización de paneles solares o molinos de viento, son opciones viables para cumplir estas características y satisfacer los intereses de todas las partes involucradas, en base a esto existe la investigación y desarrollo de nuevas tecnologías, que se basan en microorganismos capaces de aprovechar metabólicamente ciertos sustratos, como son los desperdicios de alimentos y residuos de fábricas, como aguas contaminadas con metales pesados que son compuestos de interés ambiental, ya que la presencia en gran cantidad, puede generar problemas de impacto ambiental en lugares urbanos y rurales (Hernández Gómez & Sánchez Olvera, 2017).

Los problemas de energía a nivel mundial en zonas desérticas o páramos, muestran las necesidades de promover el desarrollo de nuevas tecnologías para reutilizar residuos de origen orgánico e inorgánico y generar energía sustentable y renovable para el desarrollo de países tercermundistas.

Existen sustratos óptimos para bacterias electrógenas, sean estos de origen orgánico o inorgánico, este estudio se basa particularmente en la investigación de sustratos óptimos para la producción de microorganismos obtenidos de la zona andina del Ecuador.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La humanidad alcanza niveles de población cada vez más altos, lo cual conlleva una demanda constante de energía, esto significa que generarla, llegará a ser demasiado costosa en un futuro no muy lejano (Logroño, 2014), entonces estas investigaciones son claves para el progreso de la sociedad, es necesario buscar otras alternativas como fuente de energía renovable, un ejemplo prometedor son las CCMs. Puesto que son una alternativa de auto sustentabilidad para la generación de energía eléctrica,

Es necesario optimizar la composición del sustrato y el diseño utilizado en las celdas de combustible microbiano para obtener una mayor producción de energía, y realizar diferentes configuraciones, como el intercambio entre sustratos y bacterias electrogénicas, así también como diferentes pruebas de sustratos y sus composiciones, ya sea en su proporcionalidad, concentración o peso. Cada celda debe ir acorde con el sustrato que debe ser consumido, para obtener mejores resultados, caso contrario cuando no está acorde estos dos elementos sería un retroceso, mas no un avance.

Las celdas de combustible microbiana son creadas para ayudar a erradicar la contaminación, las acciones de estos equipos, sistemas o llamadas también matrices ayudan en gran parte a aprovechar los residuos domésticos e industriales (Guambo Galarza & Allauca Caisaguano, 2015), en estas fuentes de carbono, elementos o compuestos inorgánicos llegan a participar del alimento o sustratos para los microorganismos electrogénicos, donde estas bacterias generan bioelectricidad mediante reacciones electroquímicas de óxido-reducción frente a sustratos óptimos para estas bacterias. Con el fortalecimiento de esta investigación de suma importancia para la reducción de los desechos mencionados anteriormente lo que permite obtener energía limpia (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

Un justificativo muy importante es la reducción de la huella de carbono en la generación y consumo de energía más aun en países desarrollados y súper poblados como es el caso de China, uno de los

países que pone en marcha la utilización de nuevas tecnologías como es la energía eólica y la energía solar (Pardo, 2015).

El Ecuador es un país muy diverso y pequeño en donde se puede encontrar una gran variedad de microorganismos a fin de desarrollar estos tipos de investigación y sus determinados sustratos óptimos para su mejor eficiencia de producción de energía (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

El desarrollo económico de los países, su correlación directa con el crecimiento de la demanda de energía eléctrica y la típica asociación con el incremento de la afectación del medio ambiente mediante la creciente emisión de gases de efecto invernadero son una cadena que, si no se toman acciones estratégicas, va a seguir mostrando un impacto devastador de la Variabilidad Climática (Camargo, et al., s.f.).

Cada país con sus diferentes comunidades tiene varias necesidades que cubrir y en teoría no hay que depender de tercero para vivir de manera satisfactoria, por estas razones, las universidades e institutos tecnológicos deben brindar facilidad e incentivos para que se realicen estos tipos de investigación ya que son un gran aporte para la seguridad energética de cada país, región y comunidad, y justificativamente son estudios que favorecen a la universidad que apoyan y auspician este tipo de indagación favoreciendo su respectiva región.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

- Valorar los sustratos de vegetales, nitratos y plomo para maximizar la producción de bioelectricidad en celdas de combustible microbiano.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reactivar las celdas de combustible microbiano de configuración simple.
- Evaluar el voltaje producido en las celdas de combustible microbiano, con los sustratos vegetales, nitratos y plomo.
- Proponer el método de configuración con su medio específico para una maximización en la obtención de energía.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

Desde el principio del desarrollo de la humanidad, se ha presentado varias necesidades de enfrentar diferentes problemas como la alimentación y la vestimenta, entonces a partir del nacimiento de la energía eléctrica se registran cambios, como la industria y el transporte, consecuencia de ello es el cambio climático. Elevándose así la emisión de gases de efecto invernadero, por estas razones los investigadores de grandes universidades del país como es la ESPOCH y la Politécnica Nacional, han empezado investigaciones y estudios utilizando celdas de combustible microbiano (CCMs).

Se tiene varios y relevantes casos de estas investigaciones efectuadas en Latinoamérica en forma de tesis de investigación “producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: andes y amazonia, Ecuador” (Logroño, 2014), o también con artículos publicados de universidades colombianas “Pilas de combustible y su desarrollo” (Corredor Rojas, 2011), que buscan sobrellevar la remoción de materia orgánica, donde varios años atrás se hablaba de aplicaciones que dependen esencialmente del metabolismo microbiano sobre el cual el conocimiento aun es limitado, requiriéndose una mejor comprensión de la compleja ecología microbiana (Logroño, 2014).

En países de desarrollo es importante estudiar otras fuentes de microorganismos y sustratos con variada composición química que pueden ser potenciales combustibles al momento de hacer varias pruebas y combinaciones.

En México se han realizado investigaciones utilizando bacterias extraídas de lodos activos, donde los sistemas de operación fueron de tipo batch y en intervalos de temperatura mesofílica, utilizando agua residual sintética, en celdas de combustible microbiano siempre se crea un par de celdas, para así realizar una comparabilidad de efecto competitivo donde fueron observados durante 120 días y con varios aspectos de medición como DQO y carga orgánica (Alzate, et al., 2009).

En Ecuador y particularmente en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se viene desarrollando investigaciones de CCMs. En los laboratorios pertenecientes a esta institución académica se ha venido desarrollando de una forma consecutiva y ordenada, entonces se plantea esta investigación con la finalidad de conectar este trabajo a otros, efectuados anteriormente.

El inicio de las investigaciones con CCMs de la ESPOCH, parten con la utilización de bacterias pertenecientes a suelos de las regiones en la amazonia y la sierra central del Ecuador (Logroño, 2014).

Entre varias formas para obtener energía a partir de biomasa utilizando microorganismos esta la generación de electricidad mediante el uso de celdas de combustible microbiano (MFC) Microbial fuel cell por su siglas en inglés, es un dispositivo, generalmente compuesto por dos cámaras, capaz de convertir la materia orgánica en electricidad (Rosales Colunga, 2016). En la cámara anódica se degrada la materia orgánica y se libera al medio electrones y protones, los electrones fluyen a través de un circuito externo produciendo electricidad y reaccionan en el cátodo con los protones generándose H₂O como subproducto, adicionalmente se ha reportado la disminución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) presente en desechos orgánicos utilizados como sustratos, los cuales si no son tratados son considerados contaminantes (Rosales Colunga, 2016).

1.1. Sustrato

La selección de sustratos es importante para obtener el máximo beneficio para bacterias electrogénicas pertenecientes a suelos de paramo andino, y de acuerdo al experimento o la investigación que se propone en este trabajo, principalmente con el resultado directamente proporcional a la producción de bioelectricidad (González Chávez, et al., 2001).

En sistemas de CCMS con el fin de producir bioelectricidad, el sustrato constituye un factor esencial para la vitalidad de microorganismos que utilizan la reacción redox, teniendo como objetivo la demanda de energía (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014), alrededor del mundo se obtiene una alta variedad de productos utilizados o desechados, así también como alimentos en descomposición proveniente de fuentes industriales con potencial para la generación de energía eléctrica o bioelectricidad, en los que se encuentra el suero de leche, uno de varios ejemplos que se obtiene a partir de la fabricación de quesos como subproducto principal, el cual es potencialmente contaminante debido a su alta carga orgánica (Rosales Colunga, 2016).

Se emplea una extensa variedad de sustratos desde sustancias puras como por ejemplo la glucosa o acetato hasta mezclas complejas como lixiviados, suero de leche y residuos orgánicos e inorgánicos (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014), a continuación se puede verificar varios sustratos utilizados para producir bioelectricidad en celdas de combustible microbiana de cámara simple con su correspondiente referencia (Ver tabla 1-1).

Tabla 1-1: Sustratos utilizados en CCMS de cámara simple

Sustrato	P max (mW/m ²)	Referencia
Desperdicio de alimentos	207.2**	Kannaiah and Venkata (2011)
Aguas residuales de lácteos	5.7	Ayyaru and Dharmalingam (2011)
Lixiviados	20.9	Vázquez-Larios et al. (2011)
Basura compuesta de alimentos	107.89	Goud et al. (2011)
Farmacéuticas agua residuales	177.36	Velvizhi and Venkata
Aguas residuales penicilina sintético con glucosa	101.2*	Wen et al. (2011)
Aguas residuales de papel	125***	Velásquez et al. (2011)
Aguas residuales lácteos	25***	-
Aguas residuales de cervecería y panadería	10***	-
Aguas residuales de destilerías	245.34	Mohanakrishna et al. (2012)
Efluentes del clarificador primario	13	Ishii et al. (2012)
Aguas residuales de agricultura	13	Nimje et al. (2012)
Aguas residuales domesticas	42	-
Aguas residuales de papel	8	-
Aguas residuales de alimentos / de leche	15	-

*Wm⁻³

**Calculado a partir de la energía y las densidades de corriente.

***mA/m⁻²

Fuente: (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014)

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

1.2. Microorganismos Electrogénicos

Los microorganismos electrogénicos son originarios de distintos sedimentos anaeróbicos, los microorganismos son electrogénicos cuando son capaces de realizar el intercambio de electrones con superficies conductoras, que pueden ser metales o fibras tratadas para el transporte de electrones, las superficies de intercambio de electrones son conocidos como electrodos, y al mismo tiempo producir una corriente eléctrica a partir de la degradación de la materia orgánica o inorgánica presente si fuese el caso. (Busalmen, 2010).

El primer ejemplo de actividad eléctrica con microorganismos fue mostrado por Potter en 1910, lo cual en uno de sus experimentos que realizó fue que a los cultivos de *E. coli* y conjuntamente con la ayuda de electrodos de platino con el fin de generar corrientes eléctricas que por su pequeña magnitud pasaron desapercibidas para la comunidad científica. Este tipo de sucesos no fue tomado en cuenta sino hasta la década de los ochenta, donde en esos periodos de estudio y de nuevas investigaciones, con la ayuda de medidores redox en diferentes pruebas de soluciones fue el detonante para el incremento de la producción de corriente y la potencia de estos sistemas. Estos indicadores redox no son nada más que compuestos solubles que actúan transportando los electrones desde la bacteria pasando por la solución disuelta hasta llegar al electrodo donde este último se convierte en el propulsor para el inicio de circuito eléctrico, re oxidándose y quedando disponible de nuevo para ser reducidos por los microorganismos electrogénicos (Paña, 2017).

Al efectuarse todas estas acciones se constituye así un catalizador ideal para la limpieza de aguas residuales, lixiviados, contaminantes urbanos o también en sitios contaminantes por hidrocarburos, con el beneficio adicional de la recuperación de energía (Busalmen, 2010).

1.3. Bioelectricidad

Actualmente no se ha dado mucho interés en utilizar esta técnica de generar bioelectricidad a partir de microorganismos electrogénicos, pero, si no vemos de punto ambiental, es difícil llegar a la utilización de esta tecnología. Este tema está muy ligado a la electrorremediación ya que es un tratamiento electroquímico que involucra a las aguas residuales y está directamente relacionada con la aplicación de corriente directa o generalmente como un gradiente de potencial bajo de electrones. Cuando se produce este proceso se genera un resultado de transporte de iones o electroósmosis; conjuntamente con el arrastre mecánico de coloides, bacterias y contaminantes orgánicos e inorgánicos, el resultado es la electroósmosis. Gracias a los sustratos ayudan a que sea de mejor provecho para los microorganismos la generación de bioelectricidad (Valdivieso Valdivieso, 2017).

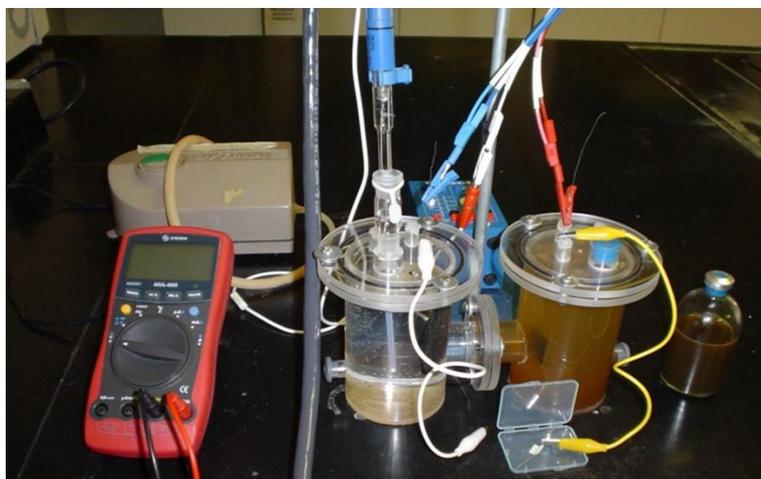


Figura 1-1. Obtención de bioelectricidad electroquímica.

Fuente: Agencia iberoamericana para la difusión de la ciencia y la tecnología

Una parte de esta investigación concierne a temas con metales pesados ya que se utiliza microorganismos para remediar efluentes contaminadas de metales pesados, uno de los estudios publicados anteriormente desde el año 2001, reporta un trabajo denominado, producción de bioelectricidad y biorremediación de Metales Pesados por *Geobacter Sulfurreducens*, pertenecientes a investigaciones de ecología molecular han dado resultados demostrando que *Geobacteraceae* pertenece a un grupo predominante ubicado en el subsuelo y que realiza un papel muy importante en procesos para generar bioelectricidad a partir de biorremediación, utilizando procesos biogeoquímicos de reducción disimilariada de Fe(III) y Mn(IV) (Sepúlveda Asprilla, 2015).

Esta utilización de métodos de remediación se ha caracterizado por un empleo exitoso en acuíferos generalmente subterráneos y suelos contaminados por metales pesados tales como uranio, tecnecio, vanadio y cromo, por lo tanto al ser reducidos a un estado redox más bajo, se precipitan para facilitar su remoción (Sepúlveda Asprilla, 2015).

1.4. Vegetales y Frutas

Los vegetales y las frutas constituyen, con otros grupos de alimentos, la parte esencial de lo que comúnmente se conoce como la dieta mediterránea, (Montaña , et al., 2008), por cual es la gran necesidad que requiere el ser humano de depender de estos alimentos rico en minerales y nutrientes, a la par se obtiene un desperdicio considerable de alimentos por la falta de razón que tienen las

personas en adquirir los alimentos, enfocando la investigación a este tipo de problemas para aprovechar este tipo de residuos con la generación de bioelectricidad.

El hombre como viene haciéndolo durante el inicio de su existencia consume productos alimenticios para obtener energía para realizar sus diferentes actividades, los nutrientes necesarios para subsistir. En cuanto a las vegetales y las frutas utilizadas en esta investigación de bioelectricidad han sido seleccionados de acuerdo a su influencia nutritiva, además de los nutrientes que aportan, los atractivos sabores y colores que presentan (Montaña , et al., 2008).

El ser humano fue adquiriendo y tomando permanencia de control en costumbres alimentarias a las que comúnmente se denomina hábitos alimenticios. De acuerdo con informaciones publicadas existen costumbres que dependen de normas culturales y de la disponibilidad de los frutos o productos alimenticios que estén al alcance de la mano, producidos también por otros factores, en los mencionados hábitos mencionado anteriormente en relación con los alimentos debemos incluir, no solo la elección de los productos alimenticios en sí mismo, sino se puede recalcar la forma de prepararlos, sin despreciar los métodos de conservación y finalmente los métodos en los que son desechados y producen una acumulación inevitable (Montaña , et al., 2008).

Los alimentos de origen vegetal incluyen semillas (cereales, legumbres, frutos secos), tubérculos y raíces, que son ricos en azúcares y aportan gran cantidad de energía junto a nutrientes esenciales, las frutas y hortalizas, que son pertenecientes a grupos de enorme interés alimenticio por los beneficios de su ingesta animal y bacteriano, su riqueza en vitaminas, elementos de minerales y fibra, esta última que no es digerida por el ser humano y comúnmente es ingerida y digerida por seres vivos bacteriológicos o microorganismos que se dedican a degradar y romper moléculas que el hombre no puede hacerlo, hacen que su consumo sea imprescindible para conseguir una alimentación de sobrevivencia, sana y equilibrada (Montaña , et al., 2008). Ya que mismo tiempo que se degrada estos alimentos se puede producir bioelectricidad limpia.



Figura 2-1. Vegetales y Frutas.

Fuente: Sociedad Argentina de Nutrición, 2008.

1.5.1. Frutas

Las frutas son frutos comestibles de ciertas plantas cultivadas, como la pera, manzana, banano, fresa, etc., según la Real Academia Española (2001). El Código Alimentario Español (1991) las define como: “Frutos, infrutescencias o partes carnosas florales que han alcanzado un grado adecuado de madurez y son propias para el consumo humano” (Montaña , et al., 2008).

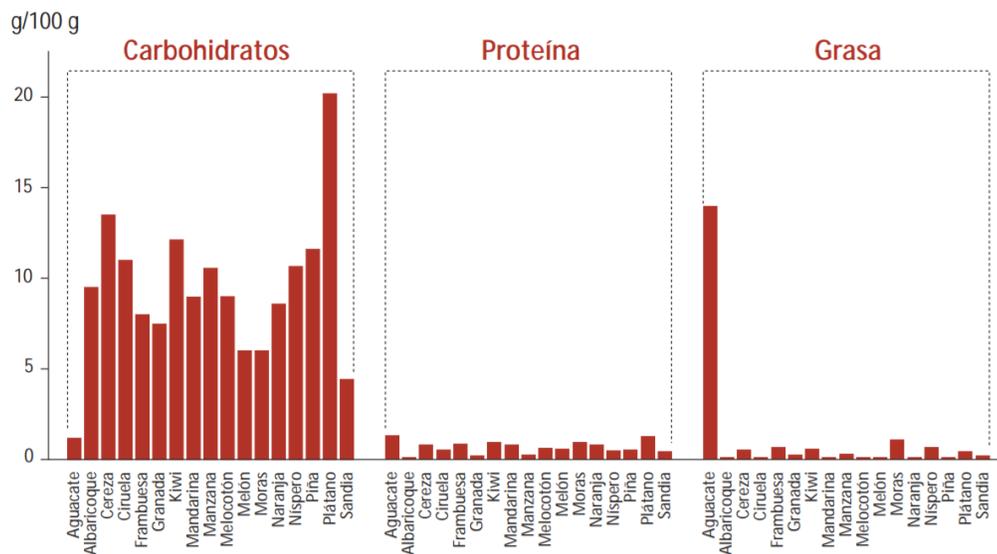


Figura 3-1. Composición de Frutas.

Fuente: Nutrición y salud (Montaña , et al., 2008).

1.5.2. Vegetales

El Código Alimentario Español (C.A.E, 1991) define Vegetales y Hortaliza como: “Cualquier planta herbácea hortícola en razón que se puede utilizar como alimento, ya sea en crudo o cocinada” este organismo también indica que la denominación de verdura distingue a un grupo de hortalizas en las que: “la parte comestible está constituida por sus órganos verdes (hojas tallos o inflorescencias)”. No obstante, a nivel popular, el termino de hortalizas se ha cambiado al nombre de verduras (Montaña , et al., 2008).

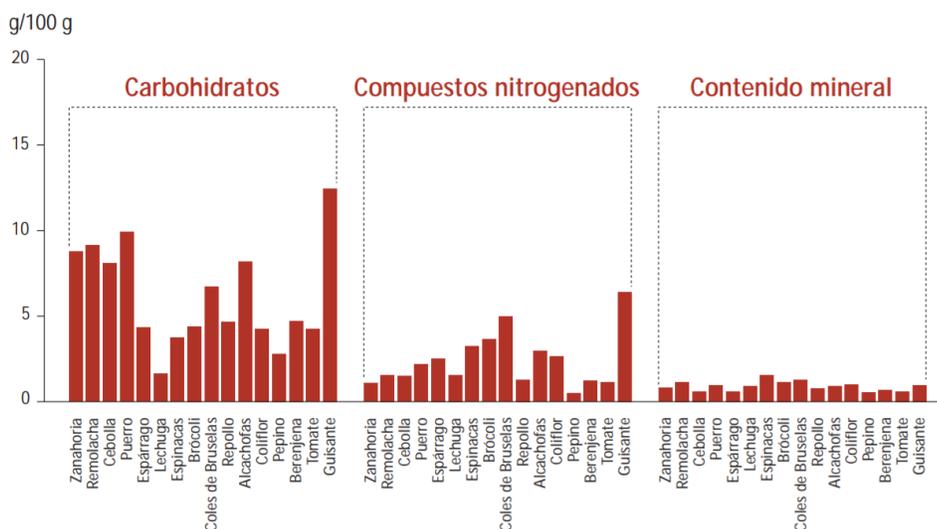


Figura 4-1. Composición de Vegetales.

Fuente: Nutrición y salud (Montaña , et al., 2008).

Cuando hablamos de calidad nutritiva de los alimentos, tenemos que tomar muy en cuenta que entre los nutrientes que son proporcionales, existen los denominados macronutrientes y los micronutrientes; los que se menciona primero se requieren en mayor proporción y son: proteínas, carbohidratos y lípidos que se ha citado anteriormente en las figuras; entre los segundos se incluyen otros componentes que se necesitan en menor cantidad; que son las vitaminas y los elementos minerales, ácidos grasos y aminoácidos esenciales. En la actualidad se da gran importancia a

compuestos bioactivos denominados “fotoquímicos” principalmente con los vegetales (Montaña , et al., 2008).

1.5. Aguas residuales como sustratos en CCMs

En varias sociedades existe la descarga de aguas residuales provenientes del uso cotidiano de poblaciones urbanas y rurales, entonces se recurre al tratamiento bio-electroquímico de las mencionadas aguas residuales que cada vez cobra mayor importancia en cuanto al crecimiento de la población, el cual está destinado a cumplir con varios objetivos; como es la eliminación de contaminantes y simultáneamente valorarlos energéticamente (Paña, 2017).

En donde nace con la idea de CCM, en cuanto a la dinámica de función se basa en la existencia de microorganismos, dado que por su naturaleza son capaces de oxidar la materia orgánica e inorgánica del agua residual, produciendo un flujo de electrones estacionario o no estacionario a un ánodo, el momento que los electrones fluyen se establece una corriente eléctrica hasta la parte del cátodo con la finalidad de cerrar el círculo de corriente, en este último recepta protones que al instante de tomar contacto con el oxígeno se da la formación de H₂O y así exterminar los radicales libres presentes en el circuito (Paña, 2017).

Para que exista la utilidad de la electricidad producida hace falta un gradiente de potencial eléctrico conectadas a los electrodos de cátodo y del ánodo. En referencia al tratamiento de aguas residuales sintéticas o no sintéticas de forma bio-electroquímico presente dos variantes: la primera perteneciente a las celdas microbiológicas electrolíticas (MEC) y a las celdas de combustible microbiana (CCM) (Paña, 2017).

1.6.1. Nitratos en agua residual

Los nitratos son iones formados por tres átomos de oxígeno, uno de nitrógeno y con una carga negativa (NO₃⁻), no presentan ningún color ni sabor y se encuentran en la naturaleza disueltos por varios disolventes comúnmente por el agua. Su presencia natural en las aguas superficiales o subterráneas es consecuencias del ciclo natural del nitrógeno, no obstante, en determinadas zonas ha habido una alteración de este ciclo en el sentido de que se ha producido un aumento en la concentración de nitratos, este fenómeno se produce fundamentalmente a un excesivo uso y abuso de abonos y fungicidas nitrogenados y a su posterior arrastre por las aguas de lluvia, aguas subterráneas

o de riego en zonas rurales y de poca afectación en poblados urbanos. Actualmente en la Comunidad Europea (UE) el nivel máximo permitido de nitratos en aguas potables es de 50 mg/l, siendo 25 mg/l el valor guía (Palomares, 2013).

El suelo es la matriz fundamental donde se encuentra la actividad ilimitada de reacciones químicas y biológicas que dan apertura al desarrollo de la vida, y donde ocurre procesos fundamentales como la mineralización de diferentes elementos y uno de los más significativos que es la fijación de nitrógeno. Hoy en día el nitrógeno se ha transformado en uno de los principales elementos de mayor contaminación presentes en los cuerpos de agua, causando grandes consecuencias como la eutrofización de los ríos, lagos, lagunas y mares, en los ambientes acuáticos en nitrógeno puede ser encontrado en forma de amonio $N-NH_4^+$, nitritos $N-NO_2^-$ o nitratos $N-NO_3^-$, los cuales pueden ser utilizados por las bacterias nitrificantes amonio y nitrito oxidantes y desnitrificantes para su crecimiento y consecuente su utilización como ejecutores de reacciones redox en la producción de bioelectricidad y finalmente para su remoción (Rodríguez Rodríguez, et al., 2017).

Hace un tiempo atrás, a nivel mundial se viene estudiando el desarrollo de nuevos procesos avanzados para el tratamiento biológico de las aguas residuales con la obtención de bioelectricidad, que puedan constituir una alternativa económica y eficaz frente a los procesos clásicos o convencionales (fangos activos, lechos bacterianos, aireación prolongada, entre otros varios con el mismo fin). Una de estas alternativas puede basarse en un reactor biopelícula con soporte permeable a gases (membranas planas o también llamadas fibras sintéticas huecas), que suelen denominarse como reactor biomolecular, otra alternativa es la utilización de celdas de combustible microbiana que han tenido gran aprobación o productividad en laboratorios para tratamientos de aguas contaminadas (Lolmede, et al., 2000).

1.6. Metales Pesados

El termino de metal pesado refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una relativa alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso bajas. Los ejemplos de metales pesados o metaloides, incluyen el mercurio (Hg), cadmio (Cd), arsénico (As), cromo (Cr), talio (Tl), y plomo (Pb), entre otros (Prieto Méndez, et al., 2009).

De acuerdo con el incremento de la población a nivel mundial existen altos niveles presentes de metales pesados en presencia como es el plomo, níquel, manganeso, entre otros que son muy perjudiciales para el entorno de la humanidad, que están presentes en suelos y también en aguas

negras, utilizada a su vez para el riego agrícola que es una de las principales utilidades, estas aguas pueden ser acumulados en estos sistemas de suma importancia para los agricultores. Ya que tienen un carácter no biodegradable, estos residuos pueden ser perjudiciales a tal punto que llegan hacer tóxicos y ejercen directamente con los cultivos y consecuentemente su biodisponibilidad pueden resultar peligrosos. Encontramos un gran número de plantas que presentan la sensibilidad relativa con la presencia de los metales pesados y con la tendencia de acumulación de los metales pesados. Haciendo énfasis en los aspectos de relación con algunas de las características fisicoquímicas de los suelos y la fitotoxicidad por metales (Prieto Méndez, et al., 2009).

Hay varias actividades y utilidades donde están presentes los metales pesados, como al momento de escuchar la radio, al usar una linterna, al arrancar el motor de nuestro automóvil, entonces nunca pesamos que todos estos elementos contienen metales pesados. Por lo tanto, tenemos que ser conscientes de todas las consecuencias que existen cuando los metales se descartan, también tenemos que entender cuando se desecha o tiramos una pila a la basura, el destino de los metales pesados durante la fabricación de pilas y baterías y en otros procesos industriales (Vullo, 2003).

Existen varias afectaciones como en el caso particular de los suelos que afecta la fertilidad y el uso posterior de los mismos, mientras que, en el caso de los acuíferos y aguas superficiales, pueden comprometer seriamente el uso de estos recursos como fuente de agua para el consumo humano. La remediación de estos ambientes contaminados mediante la utilización de métodos químicos involucra procesos de costos excesivamente altos debido a la especificidad requerida para el aislamiento de estos metales y así obtener un mundo libre de contaminación y sano con la vida (Vullo, 2003).

Los metales pesados son sustancias propias de la naturaleza de peso molecular alto, muy difundidos y en muchos casos muy útiles, como, por ejemplo, el plomo que se utiliza mucho para tubería, y el cadmio. Cuando nos referimos a la contaminación, los metales pesados tienen efectos en la salud y tienen la característica de afectar a diferentes órganos de cuerpo humano (Eróstegui Revilla, 2009).

Las medidas sanitarias para controlar la contaminación de los metales pesados, son escasas y lamentablemente la gente tiene que bañarse, tomar agua, etc., es decir que no hay una medida directa como en el caso de hervir el agua en el caso de contaminación por bacterias, así que es imposible tomar una medida directa (Eróstegui Revilla, 2009), en caso que no se puede prevenir la llegada de estos metales al agua o al suelo tenemos las alternativas de la utilización de CCMs de una mejor forma de purificar el agua y al mismo tiempo generar electricidad como valor agregado.

En los últimos años se ha producido un rápido aumento del nivel del plomo en el ambiente y más aún en el alimento más vulnerable para los seres vivos que es el agua, como consecuencia de diversas

actividades antrópicas tales como la fundición, la minería, la fabricación de pinturas, la combustión de combustibles y el reciclaje de baterías ácidas (Cala & Kunimine, 2003).

Las baterías ácidas de plomo desechadas son consideradas residuos peligrosos según la Directiva Europea EEC (1991), el reciclado de estos artículos como residuos es enfocado a sus respectivos depósitos en vertederos o su incineración ya que el porcentaje de metal recuperable puede establecerse en torno al 98%, pero no siempre llega al reciclaje, entonces es importante que se realicen estas investigaciones de saneamiento ambiental en beneficio para la naturaleza y principalmente para el ser humano (Cala & Kunimine, 2003).

1.7. Suelos de paramo

La palabra paramo proviene del latín “paramus”, ubicados en regiones de alta montaña en el norte de los Andes, su límite puede variar de acuerdo a aspectos botánicos y ecológicos (Tapia Cabrera & Pacheco Serrano, 2015).

El paramo andino del Ecuador es único en el mundo, de tal razón que abarca suelos con microorganismos capaces de producir bioelectricidad a partir de un sustrato o medio vital, los territorios de paramos han sido conservados en su mayoría intangibles, y otros han sido modificados desde tiempos inmemoriales, estos espacios cumplen un rol fundamental destacándose su importancia social como espacio con gran diversidad de vida, produciéndose actividades ganaderas y agrícolas, el páramo realiza un rol fundamental como habitat para infinidad de especies, obteniéndose un paisaje único y captador de fuentes de agua para poblaciones de páramo e incluso de ciudades aledañas (Cunalata Rugel & Inca Córdor, 2012).



Fotografía 1-1. Páramo Andino – Chimborazo, Pajonal.

Fuente: Bonilla, Jhonny; 2018

Los páramos del Ecuador presentan una notable biodiversidad debido a tres factores principales: la presencia de la cordillera de los andes y otras sierras menores, la localización ecuatorial, la existencia de una fuente húmeda amazónica y de varias corrientes cálidas y frías frente al litoral (Caranqui, et al., s.f.). En el Ecuador, el páramo cubre alrededor de 1.250.000 ha, equivalente al 6% del territorio nacional (Cunalata Rugel & Inca Cóndor, 2012).

Este ecosistema se encuentra en altitudes típicamente tropical, presentando una gran variedad, utilizando términos generales, se encuentra sobre la línea de bosques continuos, son característico de los bosques andinos y llega hasta donde puede existir plantas por debajo del cubrimiento de nieve. Como límite de altura inferior en el Ecuador comúnmente es de 3.500 msnm, pero las condiciones geológicas, antrópicas y climáticas hacen que este límite varíe, encontrándose así desde 2.800 msnm, especialmente en el sur del país, o hallando bosques cerrados hasta por sobre los 4.000 msnm. Los páramos ecuatorianos han venido evolucionando durante millones de años hasta convertirse en un ecosistema regulador de recursos hídricos sometido a fuertes presiones, demanda fundamental para usos agrícolas, actividades agropecuarias, construcción de infraestructuras como embalses y acequias de comunidades presentes cercanas (Cunalata Rugel & Inca Cóndor, 2012).

Desde hace varios años los suelos de paramo ha sido objeto de estudio, por parte de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Gracias a su biodiversidad de flora y fauna se pueden obtener varios resultados, como es la determinación de carbono y minerales presente en estos terrenos, así

como también fuentes hídricas, que han venido dando estudios de análisis. Debido a nuestra investigación es de carácter ideal para poder cumplir con nuestras metas de estudio, teniendo una confiabilidad muy alta en base a los resultados a obtenerse. Los microorganismos de páramo han dado buenos resultados en investigaciones de bioelectricidad, por consecuencia de las superficies terrenales, que se encuentran intactas por parte de maquinaria y los humanos que habitan en comunidades cercanas.

1.8. Celdas de Combustible Microbiano

Las celdas de combustible microbiano (CCM) comprenden una nueva tecnología alternativa y emergente en combatir la crisis energética mundial. Recientemente los sistemas de innovación para la creación de electricidad han sido el enfoque a nuevos estudios en busca de producir energía limpia a partir de fuentes de carbono orgánico e inorgánico como los seres microscópicos y aguas residuales, estos sistemas operan bajo diferentes matrices o configuraciones utilizando una gran variedad de sustratos y aguas residuales, se ha logrado un buen desempeño a temperaturas extremas produciendo menor cantidad de CO_2 en comparación a tecnologías convencionales en la producción de energía (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

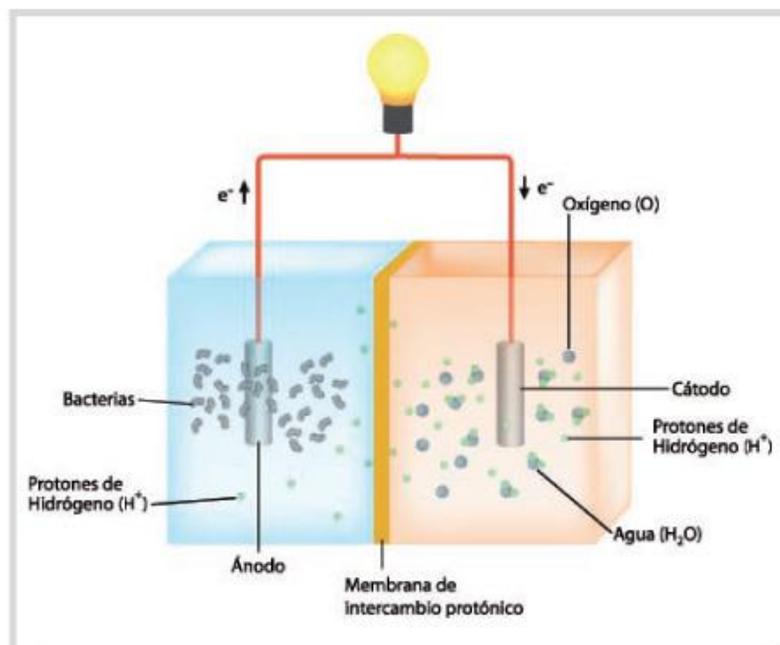


Figura 5-1. Representación de una Celda de Combustible Microbiano.

Fuente: Academia de Ciencias de Morelos, A.C; 2018.

La MFC (Microbial Fuel Cell) funcionan como un dispositivo bioelectroquímico que convierte sustratos de cualquier procedencia en electricidad mediante el metabolismo de los microorganismos electroquímicamente activos. El proceso que se efectúa en estas CCMs, es de la siguiente manera: empezando con los compuestos orgánicos que se oxidan en la sección anódica de la misma, dando lugar a que los electrones producidos por los microorganismos electrogénicos presentes, se transfieren a los electrodos presentes de origen y descarga, pasando por un circuito externo o también llamado diferencial de corriente, mientras tanto los protones se difunden en la membrana de intercambio de protones (PEM) desde la cámara anódica hasta la cámara catódica. Los excesos de protones presentes en la sección catódica tienden a reaccionar con el oxígeno presente de la atmosfera, debido a que, esta última cámara es aeróbica, así llegando al equilibrio electroquímico formando H_2O (Paña, 2017).

1.9.1. Estructura de una CCM

Las MFCs funcionan de manera similar a las más conocidas celdas de combustible basadas en la oxidación de hidrógeno (Sacco, et al., s.f.). Una CCM típicamente está compuesta por dos cámaras como se refleja en la figura 6-1, una anaeróbica y la otra es una cámara o sección aeróbica, en el medio de entre ellas hay un separador. La sección anaeróbica contiene los sustratos orgánicos que, al oxidarse por acción de los microorganismos, generan electrones, protones y CO_2 (Revelo, et al., 2013).

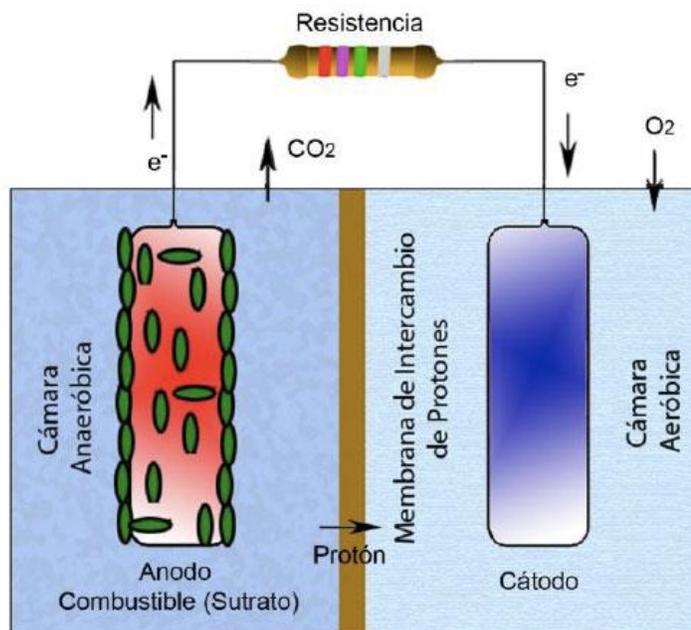


Figura 6-1. Arquitectura y Funcionamiento de las CCMs.

Fuente: (Revelo, et al., 2013).

En cada una de las secciones se coloca un electrodo, el ánodo en la cámara anaeróbica y el cátodo en la cámara aeróbica, una vez que los electrones se liberan en la cámara anódica, éstos son captados por el ánodo, y posteriormente transferidos hacia el cátodo mediante un circuito externo o con la ayuda de un diferenciador de corriente. Simultáneamente, en la sección anódica se generan protones que migran hacia la sección catódica a través del separador, donde se combinan con el oxígeno de la atmósfera para reducirse en la formación de agua con los electrones que captan directamente del cátodo, por la razón que esta reacción no está catalizada por los microorganismos, ya que, el cátodo está presente como abiótico (Revelo, et al., 2013).

Las CCMs son sistemas prometedores por cuanto a su facilidad técnica de llegar con su instalación, el manejo una vez armada y conectada da una mayor simplicidad para su ejecución y producción del recurso renovable. Acoplándose a procesos de remediación ambiental como es el caso del tratamiento de aguas residuales. Funcionando para residuos sólidos orgánicos e inorgánicos, llegando a una prioridad en el campo científico y cumpliendo políticas ambientales actualizadas (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

1.9.2. Sección Anódica

Los materiales con los que se deben construir los ánodos tienen que tener la característica de ser conductores de electricidad, biocompatible y químicamente estables en la solución del reactor. Los ánodos metálicos consistentes de malla de acero inoxidable no corrosivo pueden ser utilizados, así como también placas de cobre, con el fin mejorar el transporte de electrones y producción de bioelectricidad. El material de electrodos más versátil es el carbón, disponible como placas de grafito compact, en barras o granuladas (De León Samayoa, 2016).

En esta sección se da el proceso de oxidación del sustrato presentes en las celdas de combustible microbiano a través de las comunidades microbianas, resultantes como catalizadores para la generación de dióxido de carbono y la liberación de electrones. Estos últimos son captados por el electrodo que esté presente actuando como ánodo, y transfiriéndolos al cátodo. La glucosa es el principal nutriente destinado para el crecimiento bacteriano (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014), produciéndose la siguiente reacción:



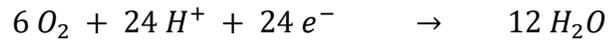
Simultáneamente en la sección anódica se generan protones que se transfieren a la sección catódica mediante una membrana de intercambio protónico (MIP) realizando la combinación con el oxígeno del aire con la razón de reducirse y formando agua. La transferencia de electrones es muy importante en las CCMs porque utilizan distintas vías como citocromos, mediadores y pilis (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014). Por consecuente los electrones emigran del ánodo para arribar a la siguiente sección que es el cátodo.

1.9.3. Sección Catódica

El oxígeno es el aceptor más adecuado para los electrones en una CCM debido a su alto potencial de oxidación, disponibilidad, bajo costo, sustentabilidad, y las carencias de residuos químicos. La elección del material del cátodo afecta de manera importante el desempeño, y su variedad de aplicaciones. Para incrementar la velocidad de reducción del oxígeno, los catalizadores de platino son usualmente usados para oxígeno disuelto o cátodos de difusión de gas (De León Samayoa, 2016).

Por lo tanto, esta sección desempeña un papel sumamente importante en el rendimiento y la eficiencia de las CCMs, dependiendo así de la reacción en concentración de protones con el oxígeno como

aceptor de electrones debido a su potencial estándar de 0.818 mV (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014), de bajo costo y mayor compatibilidad, produciéndose la siguiente ecuación electroquímica.



Deseando un mejor desempeño y aumentando la velocidad de reducción del oxígeno se utiliza catalizadores químicos como el Pt (Platino) dando mejores resultados, pero las consecuencias es que tiene un costo elevado (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

1.9. Aplicaciones de la CCM

Las CCMs tienen varias aplicaciones en comparación con otras tecnologías usadas para la producción de energía a partir de la materia orgánica (Logan & Regan , 2006). Este tipo de tecnología pueden ser implementadas en lugares aislados donde no existe infraestructura eléctrica, produciendo así una energía limpia (De León Samayoa, 2016).

Es una tecnología con el compromiso de generar energía eléctrica alternativa, con remoción de materia orgánica y biorremediación, sin embargo, para aplicaciones prácticas es indispensable mejorar la eficiencia en los procesos bioelectroquímico, con variaciones en sustratos y comunidades bacterianas. Finalmente conseguir un buen desempeño eléctrico (Revelo, et al., 2013).

Las capacidades ambientales de realizar biorremediación para la limpieza de aguas en estación de industrias mineras, que es un apoyo para la comunidad científica, como también tratamiento de sustancias contaminantes como nitratos, sulfuros y sulfatos. Existen aplicaciones destacadas a nivel tecnológico como es el caso de generación de electricidad, con CCM implantados en robots, como los Gastrobots, los mismos que usan la energía de biomasa que ellos mismos recogen, tales como: azúcar, fruta, insectos muertos, hierba mala, etc., existe el desarrollo de sistemas que pueden producir electricidad a partir de materia orgánica presente en sedimentos acuáticos, estos son conocidos como “Benthic Unattended Generators” o “BUGs” estos estudios tiene el propósito de encender dispositivos electrónicos en localizaciones remotas como por ejemplo en los fondos de los océanos (Paña, 2017).

Existe la creación de biosensores utilizados para aplicaciones como es el estudio de correcciones medioambientales, alimenticias y biomédicos. Los biosensores están compuestos por dispositivos analíticos que parten de la combinación de un microorganismo en contacto directo o íntimo hacia un transductor físico en contabilidad a este microorganismo, donde se produce una señal clara y medible en dirección proporcional a la concentración de los analitos. Utilizando estos biosensores como suplentes o sustitutos de las enzimas libres o células libres no viables, preparadas por diferentes métodos de adquisición. Un ejemplo claro tenemos la permeabilización donde las enzimas periplásmicas careciendo de células completas, realizan el monitoreo de aquellas especies que actúan como sustratos o también como inhibidores de los métodos y procesos implicados como las funciones metabólicas de cada célula o más avanzadas como la respiración (Campuzano, 2011).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

Este trabajo tiene técnicas acogidas de investigaciones precedentes, para la caracterización físico química de suelo, técnica de muestreo mediante *gradillas* utilizando medidas de 6m x 6m en los suelos de páramo y técnicas para la comparación de medias o promedios. Provenientes de temas similares a la obtención de bioelectricidad mediante la utilización de celdas de combustible microbiano, ya sean con suelos con microorganismos electrogénicos o también con bacterias puras y cultivables, utilizando el mismo principio que tienen las CCM de configuración simple.

2.1. Parte experimental

2.1.1. Localización del suelo de paramo para el estudio

La ubicación donde se realizó este estudio se encuentra en superficies de difícil acceso, partiendo de la ciudad de Riobamba en la provincia de Chimborazo, el camino de vía Riobamba Guaranda, llegando a la reserva del parque nacional Chimborazo, aproximadamente 1 hora con 20 minutos en carretera asfáltica, pasando por la comunidad de San Juan, se llega a la población de “Casa Cóndor” con las coordenadas de 1°31.929´S como Latitud y 78°50.802´O como Longitud.

En esta ubicación como se muestra en la fotografía 1-2 presenta características como por ejemplo la superficie de 3 cm de profundidad el suelo es sumamente húmedo, por estas y varias razones más la presencia de vida micro bacteriana, en este lugar es potencialmente electrogénico.



Fotografía 1-2. Lugar de estudio – Páramo, superficie Pajonal.

Bonilla, Jhonny; 2018

Con ayuda de un altímetro digital, como se muestra en la fotografía 2-2, se puede captar las diferentes variables que presenta esta ubicación, en equipo de meteorología portátil “Marca Kestrel modelo 3500”, éste equipo nos proporciona información importante como la altura, con un valor de 13185 ft equivalente a 4018.79 metros sobre el nivel del mar, el momento de captación o muestreo de suelo fue a las 10:45 am, la velocidad mínima del viento es de 3.6 km/h, la velocidad máxima de viento arroja en dato de 12.1 km/h, marcando una temperatura de 10.2 °C, humedad del 100 %, punto de rocío de -34.1, y con una presión atmosférica de 615.3 heptopascales, equivalentes a 0.6073 atmosferas de presión.



Fotografía 2-2. Altímetro – ft sobre el nivel del mar.

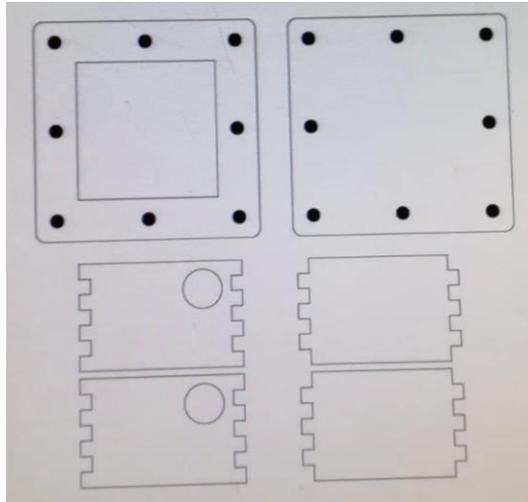
Bonilla, Jhonny; 2018

2.1.2. Arquitectura y ensamblaje de carcasas para las CCMs

Se realizó el diseño por ordenador de las partes que conforman la carcasa de las CCMs, para posteriormente ser cortadas por una máquina laser con una cortadura impecable, por lo cual están conformadas de una base, un cubo y en la parte superior consta de piezas que sostienen los electrodos anódico y catódico. Como se muestra en la fotografía 3-2, el cubo formado tiene una capacidad de 125 mL, resultado de las dimensiones laterales que son 5cm de largo, ancho y altura.

Para la selección de electrodos con los que se va a utilizar principalmente fueron construidas 4 celdas de acrílico con las mismas dimensiones cada una, esto fue con el propósito de generar 2 CCMs utilizando electrodos de Cobre metálico y 2 CCMs con electrodos de tejido de fibra de carbono.

Este material es conocido para uso de la industria publicitaria, donde estas empresas comercializan el material y entregan al cliente de la manera que se desee, gracias a su prolongada duración y la característica que este material no reacciona con sustancias no peligrosas, es de buena selección para ensamblar y hacer funcionar las CCMs.



Fotografía 3-2. Diseño de piezas para las CCMs.

Bonilla, Jhonny; 2018

Cuando ya se obtienen las piezas listas y despegadas del protector de anti rayones, se procede al ensamblaje de los cubos con las dimensiones mencionadas anteriormente, la unión de las piezas se realiza con ayuda del pegamento líquido instantáneo y conjuntamente se añade bicarbonato, esto ayuda para formar un tipo de costra o arcilla y así sellar los vértices para que no exista el paso de agua o cualquier líquido que se vaya a utilizar en la investigación.

Al unir el cubo de 125 mL con la base, existen 2 orificios para insertar cada corcho a cada lado, con la intención de que por el un lado y con ayuda de una jeringa introducir el líquido que va a contener los microorganismos electrogénicos provenientes del suelo de páramo, en cambio que por el lado opuesto del otro corcho de caucho y de igual manera con la ayuda de la jeringa vamos a insertar agua destilada con la presencia del sustrato que en este caso va hacer los vegetales y frutas.

La razón por la cual los corchos son de caucho, es por la característica del caucho de no ceder el paso de líquido que va a estar en la parte interior de la CCM, es decir, sellar la parte interna de la parte externa de forma hermética como se encuentra en el anexo C.

La composición de la CCM de configuración simple va de forma ascendente y en la forma que va a ser mencionada: después del cubo, donde se va a producir la reacción de óxido - reducción por parte de las bacterias, ubicamos un cuadrado de acrílico con orificio para que ascienda los microorganismos conjuntamente con el sustrato, consecuentemente para que tengan contacto con el electrodo, el mismo que receptorá los electrones desprendidos de esta cámara anódica, a continuación, ubicamos un caucho con las mismas dimensiones y apariencia de acrílico antes mencionado, con la finalidad de

sellar bien los espacios entre las capas de acrílico, dando ninguna oportunidad a las fugas que se puedan desarrollar entre el acrílico y el electrodo de la cámara anódica, por lo que es obvio, el siguiente paso de instalación es la placa de cobre para las 2 CCMs que van a ser utilizadas con este material, y respectivamente con el tejido de fibra de carbono para las 2 CCMs, después de estos electrodos para cada caso, se ubica otra capa de caucho para evitar la fugas y aislar los electrodos, al tener listos estos materiales y correctamente ubicados, se procede a colocar 3 piezas de acrílico con hueco, razón por la cual el electrodo de esta cámara no va a estar pegado a la pared de la sección anódica, debido a que interfiere en la producción de voltaje, generando un corte circuito entre la producción y el monitoreo de voltaje, el resultado puede llegar a ser cero. A continuación se coloca papel celofán que es el responsable de separar las 2 cámaras, la anódica y la catódica, este material tiene que cubrir toda la superficie y actuar como membrana de intercambio protónico (MIP), dado que sus dimensiones son 8cm x 8cm y asilan la sustancia líquida, el sustrato y los microorganismos de la parte superior, que es nada más que la cámara catódica y permitiendo solamente el paso de protones para que se mantenga el equilibrio, haciendo funcionar de manera correcta la CCM. Después viene otro caucho que ya sabemos su efecto, a continuación, se coloca el electrodo que va a estar en la cámara catódica, independientemente si es de cobre o de tejido de fibra de carbono, y finalmente ubicamos un cuadrado de acrílico con hueco en el centro para cubrir al electrodo que va a tomar contacto con el aire y para ser testigo de la oxidación provocada por el oxígeno y la formación de H_2O .

Como se observa en la figura 1-2, el material 1, representa los electrodos de la celda de combustible microbiano, el material 2, representa los cauchos que detiene las fugas, el material 3, representa la membrana de intercambio de protones (MIP), que en este caso se utilizó papel celofán, el material 4, representa la parte anódica de la CCM y está formada por el material de acrílico y el material 5 representa la sección catódica la cual está formada por el material de acrílico.

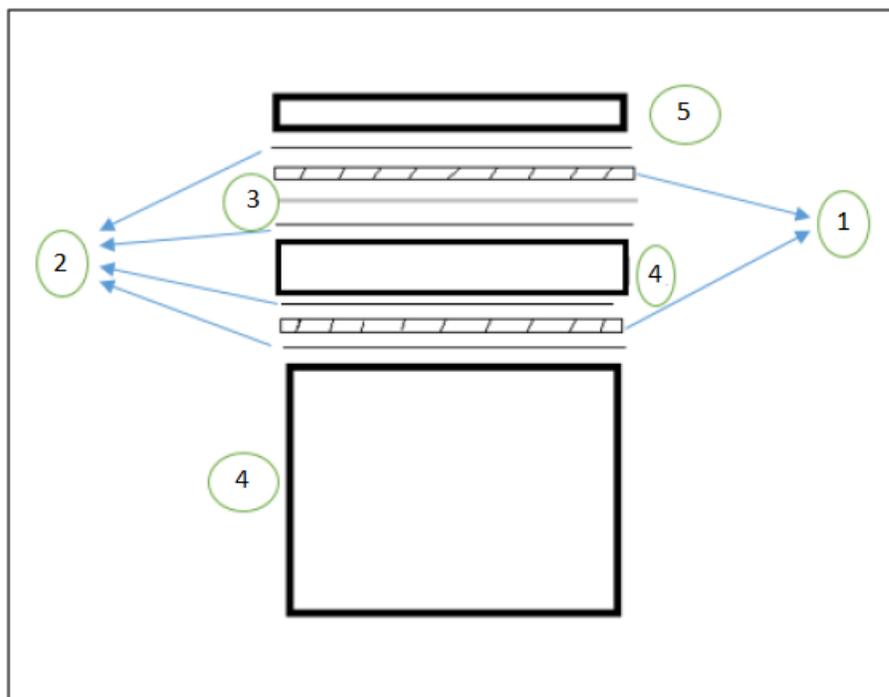


Figura 1-2. Esquematación de los materiales que se utilizó en la formación de las CCMs.

Bonilla, Jhonny; 2018

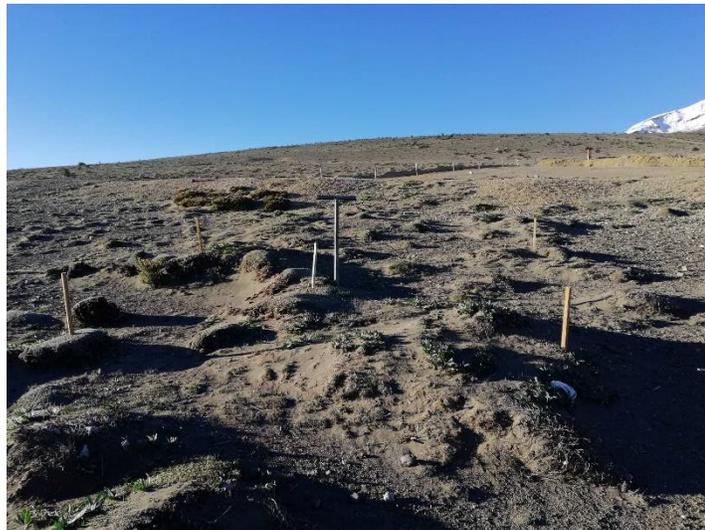
En los filos de los 4 lados que tiene cada cuadrante de acrílico vamos a encontrar 8 orificios de 0.5 cm de diámetro, en estos orificios se insertan 8 tornillos, de principio a fin de cada CCM, esto se realiza con el propósito de sostener firmemente cada parte y pieza de la que está hecha en ensamblada, una de las obligaciones del ajuste de estas tuercas, es el aislamiento de los electrodos, tanto en la sección catódica y también en la sección anódica, otro deber de la sostenibilidad firme es eliminar las fugas que se puedan perpetrar al momento del ingreso de las sustancias que van a estar presentes en la división anódica.

2.2. Métodos

2.2.1. Muestreo del suelo de páramo

Teniendo en cuenta que este suelo tiene sus propias características físicas y químicas, siendo fundamental para esta investigación el alto contenido de materia orgánica, fósforo y potasio (Guambo Galarza & Allauca Caisaguano, 2015), considerando una asepsia rigurosa con el propósito de no

afectar la materia orgánica y su composición con seres microscópicos, los cuales van hacer quienes efectúen la degradación vía oxido reducción para la obtención de bioelectricidad, procedemos con la ubicación exacta antes mencionada, los materiales que van a tener contacto con la materia orgánica, deben estar listos para su uso, como es el caso del barreno y un instrumento que me facilite retirar el producto del mismo. Posteriormente hacemos uso del equipo de protección personal, con ayuda de las estacas de madera procedemos a insertarlas en el suelo con una distancia de 6x6 metros formando un cuadrado como se ilustra en la siguiente fotografía 4-2, la quinta estaca se inserta en la mitad del cuadrante.



Fotografía 4-2. Ubicación de estacas en el cuadrante.

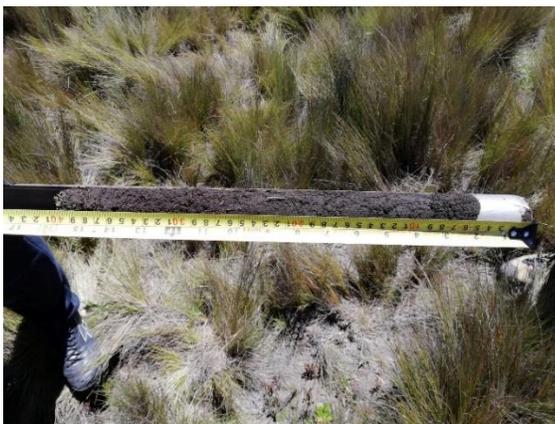
Bonilla, Jhonny; 2018



Fotografía 5-2. Inserción del barreno en el punto fijado.

Bonilla, Jhonny; 2018

Esta técnica es conocida como grillas de muestreo (Guambo Galarza & Allauca Caisaguano, 2015), en cada posición donde se encuentran las estacas procedemos a realizar un muestreo puntual, insertando el barreno de forma perpendicular con la superficie, como se observa en la fotografía 5-2, y obteniendo la muestra en una profundidad de 20 a 40 cm, en la fotografía 6-2, mediante el uso del instrumento para retirar la muestra del suelo, procedemos a ubicarlas en las diferentes fundas con su respectivo etiquetado.



Fotografía 6-2. Medición de 20cm a 40cm de profundidad.

Bonilla, Jhonny; 2018



Fotografía 7-2. Obtención de la muestra.

Bonilla, Jhonny; 2018

Después de obtener las 5 muestras del cuadrante cada una con un peso aproximado de 1 kg, se debe lograr no afectar la temperatura a las que están acostumbrados los microorganismos, utilizando un cooler para el transporte hasta el laboratorio donde se realizarán los diferentes análisis físicos y químicos,

2.2.2. Ensayo para la selección de material de electrodos en configuración simple de CCMs

Las celdas de combustible microbiano que se van a efectuar en esta investigación, han venido produciendo óptimos resultados, y es por ello que se sigue con investigaciones procesadas en la ESPOCH, acerca de CCMs, este trabajo confiere varias pruebas de investigaciones como desde los inicios de crear bioelectricidad entre microorganismos de especies provenientes de la sierra y del oriente ecuatoriano, hasta trabajos alcanzados con bacterias puras en pequeñas celdas de una sola cámara.

Partiendo de estudios con la utilización de fuentes de carbono y glucosa, utilizando material orgánico como sustrato, que constituyen una fuente de carbono entre proteínas, fibra y lípidos se tuvo en cuenta que todos aquellos productos provenientes de la naturaleza poseen gran cantidad de microorganismos,

degradando todos los compuestos orgánicos complejos bajo distintas condiciones entre temperatura y hábitat de cada ser (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014), dando como resultado la utilización en CCMs gracias a su fácil acceso y originarios de desperdicios domésticos, como también residuos de mercados.

Los estudios restantes como preámbulo a esta investigación, son estudios en donde se utilizaron metales pesados como Cromo, magnesio y plomo, de los cuales con el plomo se obtuvo mejores resultados. Considerando también la utilización de bacterias puras en CCMs donde el sustrato utilizado fue nitratos, como fuente dietética para poblaciones que han sido afectadas por contaminantes pertenecientes a la industria agraria, se replicó en este caso investigativo

El material a utilizarse en este estudio ha sido seleccionada a base de los preámbulos antes mencionados, por lo tanto las CCMs debieron contener el material principal para el transporte de electricidad o de electrones, tales como el Cobre, Grafito como se muestra en la figura 2-2, o entre otros (Paña, 2017).



Figura 2-2. Electrodo de fibra de carbono en CCM con materia orgánica.

Fuente: (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

2.2.3. Preparación de sustratos para la selección de electrodos en CCMs

El material primordial para las CCM de configuración simple, es la carcasa de las celdas y sus electrodos, denominados como acrílico transparente de 3mm de espesor, para los electrodos se realizó una selección entre tejido de fibra de carbono y Cobre como tal.

Ha venido haciéndose algunas modificaciones en las anteriores CCMs como es la adecuación en una sola cámara sin la necesidad de mantener sumergido al electrodo cátodo en el agua o con la fase catódica, sino que simplemente va a estar en contacto con el aire, empleando el oxígeno como aceptor de electrones (Paña, 2017). A continuación, en la tabla 1-2 se enlista las sustancias que estuvieron presentes en la cámara anódica que se necesitó para poder armar las CCMs, realizando el primer proceso que es la selección de electrodos, antes de poner en marcha la valoración de sustratos vegetales, nitratos y plomo para la maximización de producción de bioelectricidad, con el uso de equipo de multímetro digital mostrándose en la fotografía 8-2.



Fotografía 8-2. Multímetro digital MT 15.

Bonilla, Jhonny; 2018

Tabla 1-2: Sustancias para las CCMs de selección de electrodos

Sustancias para una CCM	Cantidad
Agua purificada cualquiera en este caso (Vivant)	3 L
Suelo de páramo	8 gramos

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Tabla 2-2: Sustratos de CCMs para la selección de electrodos de 1000 ppm

Vegetales y frutas como sustratos para 1000 ppm			
Frutas	Cantidad (g)	Vegetales	Cantidad (g)

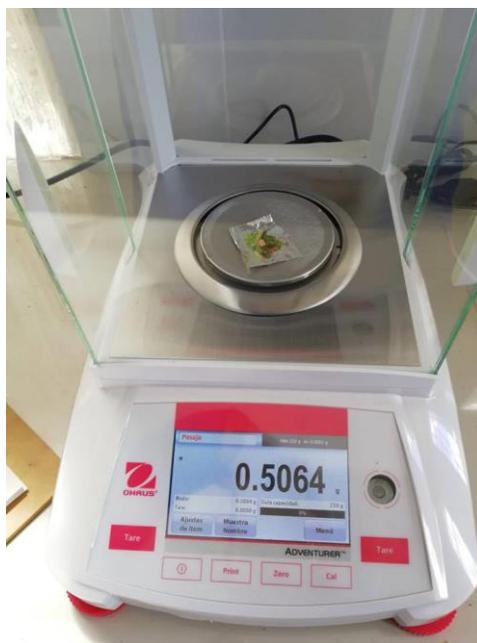
Banano	0.1	Haba	0.1
Manzana	0.1	Choclo	0.1
Uva	0.1	Lechuga	0.1
Piña	0.1	Zapallo	0.1
Sandia	0.1	Tomate	0.1
Total frutas	0.5	Total vegetales	0.5
Total frutas y vegetales		1 gramo	

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Tabla 3-2: Sustratos de CCMs para la selección de electrodos de 500 ppm

Vegetales y frutas como sustratos para 500 ppm			
Frutas	Cantidad (g)	Vegetales	Cantidad (g)
Banano	0.05	Haba	0.05
Manzana	0.05	Choclo	0.05
Uva	0.05	Lechuga	0.05
Piña	0.05	Zapallo	0.05
Sandia	0.05	Tomate	0.05
Total frutas	0.25	Total vegetales	0.25
Total frutas y vegetales		0.5 gramos	

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018



Fotografía 9-2. Pesaje de vegetales.

Bonilla, Jhonny; 2018

Los sustratos tales como frutas y vegetales fueron obtenidas del mercado popular San Alfonso, de la ciudad de Riobamba, esto es una prueba que los sustratos que necesitamos para las CCMs tienen que ser disponibles de residuos sólidos orgánicos, donde que estos productos son desechados a la basura, si es que no se les da un tratamiento o uso adecuado.

Estos sustratos se utilizaron por la razón que, se ha desarrollado en base a estudios anteriores, se ha venido utilizando estos sustratos y para obtener resultados imparciales se realizaron las mismas concentraciones para cada electrodo a monitorearse y el pesaje de los sustratos como se observa en la fotografía 9-2.

La valoración de sustratos parte de investigaciones previas, todas las anteriores pertenecientes al mismo sistema de investigación, generar bioelectricidad mediante microorganismos electrogénicos con su debido sustrato para cada CCM, ya que solo se han efectuado ensayos con un solo tipo de sustrato, esta investigación se realiza con la finalidad de una comparación eminentemente para los sustratos utilizados en ensayos anteriores.

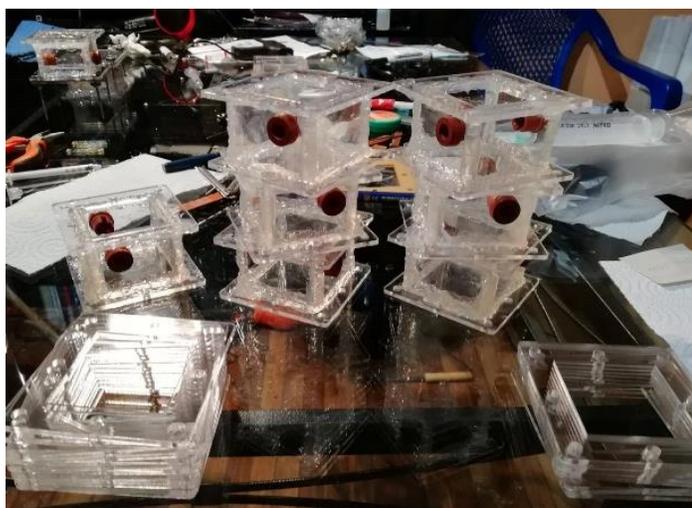
Para la investigación secundaria tomada en cuenta, la fuente de producción de bioelectricidad se trata de la configuración de matrices de CCMs con la utilización de una única bacteria aislada y reproducida, denominada cepa *Pseudomona* spp, en el desarrollo de esta investigación se utilizó como

sustrato de las CCMs aguas residuales sintéticas conformadas por nitratos, utilizando cámaras de contenido para 125 mL en cada CCM, los ensayos realizados en un tiempo de 15 días, la utilización de este sustrato se efectuó mediante la problemática de aguas contaminadas para la utilización de regadíos agrícolas y consecuentemente buscando un remediación ambiental (Paña, 2017).

Concluyendo con el ultimo sustrato tomado en cuentas, la investigación previa fue con la utilización de metales pesados como sustratos utilizados en CCMs con la batería aislada perteneciente la familia de la anterior investigación, los sustratos procesados en este ensayo son elementos como el zinc, cromo y plomo, entonces debido a que este último elemento proceso mejores resultados en esta investigación fue tomado solo en cuenta el plomo, esta investigación se realizó en un tiempo de monitoreo de 15 días, utilizando concentraciones máximas permitidas por la constitución del ecuador y con leyes que rigen normativas ambientales (Echeverría, et al., 2016).

2.2.4. Construcción y configuración de las CCMs para la selección de electrodos

Cuando ya se encuentre construidas las 4 CCMs, como se muestra en la fotografía 10-2, como son 2 para cada tipo de electrodos, se procedió a la preparación de la muestra de suelo en forma de disolución, y de igual manera al sustrato en forma de disolución, esto se realizó por razones de flexibilidad al momento de la introducción, con ayuda de jeringas y por medio de los corchos de anti fugas, al momento de la introducción de los líquidos o las disoluciones hay que tomar en cuenta las diferencias de presión que se presenten dentro y fuera de la división anódica de cada CCMs.



Fotografía 10-2. Ensamblaje de las CCMs.

Bonilla, Jhonny; 2018

Siguiendo con el proceso, las soluciones a utilizarse en esta parte de la investigación, existen 2 disoluciones que van hacer introducidas en las CCMs, la primera es la disolución del sustrato, que, en este caso, es el de frutas con vegetales, para la siguiente disolución es la constituida por el suelo de paramo y agua destilada.

Para la preparación de los sustratos de 1000 ppm y 500 ppm, se debe aplicar los siguientes cálculos:

Tabla 4-2: Cálculos de concentración para los sustratos, en la determinación de electrodos.

Para 500 ppm
$\text{Concentración de partes por millón (ppm)} = \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}}$ $= \frac{500 \text{ mg de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 500 \text{ ppm}$
Para 1000 ppm
$\text{Concentración de partes por millón (ppm)} = \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}}$ $= \frac{1000 \text{ mg de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}}$ $= \frac{1 \text{ g de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 1000 \text{ ppm}$

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Con respecto a la preparación de la disolución donde van a estar los microorganismos electrogénicos, es decir, el suelo de páramo y como disolvente agua purificada (Vivant), es constituida de la siguiente manera:

Tabla 5-2: Composición de la disolución del suelo de páramo, en la determinación de electrodos.

SUSTANCIA	CANTIDAD
Suelo de páramo de 4000 msnm	2 gramos
Agua purificada (Vivant)	50 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Cuando ya se tenga listo el coctel de microorganismo con sus correspondientes sustratos, el siguiente paso es la inserción de las 2 sustancias a las celdas o cajas de acrílico con todos los elementos de una celda de combustible microbiano listos y en posición correcta, sin intento de fuga.



Fotografía 11-2. Coctel de microorganismos provenientes de suelo de paramo para las CCMs.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.2.5. Selección de electrodos o MIC para la utilización en la CCMs, por reactivar

Empezando con la primera disolución de frutas y vegetales, se crea una solución de 1000 ppm para las 2 primeras CCMs y 500 ppm para las siguientes 2 CCMs, tenemos que tomar en cuenta que los electrodos a utilizarse en este primer ensayo de toma de datos de bioelectricidad mediante un voltímetro, siendo de la siguiente manera.

Tabla 6-2: Constitución para las 4 CCMs en la selección de electrodos

Tipo de electrodo Concentración	Cobre	Tejido de fibra de Carbono
500 ppm	Una CCM para 500 ppm con electrodo de cobre	Una CCM para 500 ppm con electrodo de Tejido de fibra de Carbono
1000 ppm	Una CCM para 1000 ppm con electrodo de cobre	Una CCM para 1000 ppm con electrodo de Tejido de fibra de Carbono

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Como cada celda de acrílico tiene un volumen interno de 125 mL, entonces la conformación de cada celda de combustible microbiano, está constituida por 123 mL de sustrato y 2 mL de suelo de paramo de sus respectivas disoluciones.

Las CCMs con los electrodos de cobre anódico y catódico tiene la apariencia como esta en la fotografía 12-2.



Fotografía 12-2. Apreciación de las CCMs con cobre como electrodos.

Bonilla, Jhonny; 2018

Y para las CCMs con los electrodos de tejido de fibra de carbono anódico y catódico tiene la apariencia como esta en la siguiente fotografía 13-2. Se debe evitar eliminar el aire presente en el interior de cada CCM, para la incorporación de las sustancias al interior de las mismas, se realiza con la ayuda de jeringas plásticas, introduciendo la aguja de cada jeringa por el corcho de caucho, para así una vez extraída la aguja quede sellada la parte externa e interna de cada CCM.

Conformadas de esta manera las 4 CCM para su posterior monitoreo de producción de bioelectricidad, y en base a los resultados arrojados, podremos seleccionar el material del electrodo que va hacer utilizado en el siguiente paso, mediante su desempeño como tal.



Fotografía 13-2. Apreciación de las CCMs con tejido de fibra de carbono como electrodos.

Bonilla, Jhonny; 2018

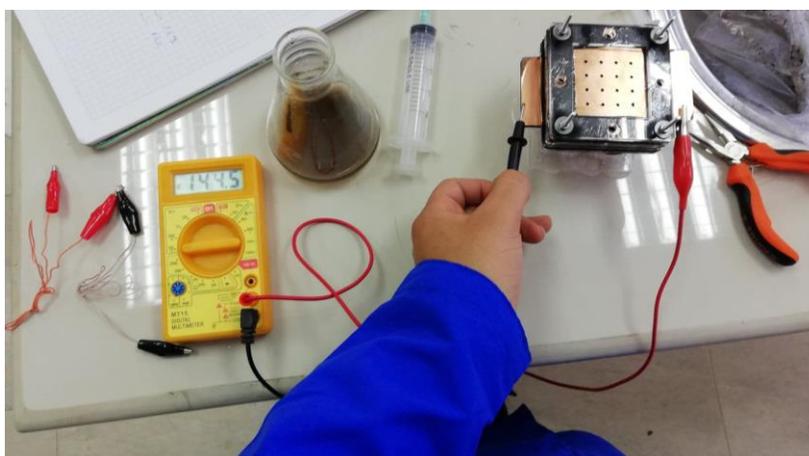
2.2.6. Monitoreo de CCMs utilizando vegetales para selección de electrodos

Midiendo el pH del sustrato a utilizarse en este ensayo, nos determina un valor de 7.8 para la solución de frutas y vegetales, verificando que la cámara anódica se encuentre sin aire, las CCM se lleva a un monitoreo de producción de bioelectricidad, este monitoreo se lleva a cabo en el laboratorio de contaminación ambiental perteneciente a la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, con la ayuda del multímetro digital conectamos al conector positivo de equipo directamente con el cátodo de la CCM, con el conector negativo del equipo en cambio conectamos al electrodo de la cámara anódica anaeróbica.

De esta manera la perilla del multímetro digital se conduce hasta alcanzar la escala mínima de DCV (V), que es donde el equipo lee de forma directa y digital la producción de voltios, sí la demanda de voltaje es mayor al intervalo marcado en la escala que esta introducida en el multímetro digital, debidamente arrastramos la perilla al siguiente nivel de equipo para descartar el error indicado por el equipo y así marcar el voltaje superior producido por la CCM.

El monitoreo o la toma de datos se los hizo de forma manual, en un tiempo de 8 horas con intervalos de 30 minutos para las 4 CCM configuradas, obteniendo como datos 16 valores para cada CCM, entonces con un total de 64 valores entre todas las CCMs configuradas para la selección de electrodos, como se muestra en la fotografía 14-2.

A continuación, se muestra de forma gráfica la maniobra que se realizó en la medida de valores de la CCM y con ayuda del multímetro digital MT 15.



Fotografía 14-2. Toma de datos utilizando el multímetro digital.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.2.7. Activación de las CCMs con la utilización de vegetales, nitratos y plomo como sustratos

La primera investigación hace realce a la utilización de materia orgánica como fuente de sustrato para la producción de bioelectricidad en CCMs contenidas en diferentes tamaños y volúmenes, compuestas por suelos de paramo provenientes del sector Pichan Central pertenecientes a la Provincia de Chimborazo, utilizando 3 matrices de diferentes tamaños, conteniendo frutas y vegetales con un peso total de 1000g y con una duración de 60 días (Armas Chugcho & Ramirez Yambombo, 2014).

De acuerdo a resultados obtenidos de la producción de bioelectricidad para la selección adecuada, se realiza la activación de CCMs definitivas que van hacer monitoreadas por un tiempo de 15 días, tomadas en cuenta por 15 valores para cada CCM contenido los sustratos correspondientes para cada una, en un proceso donde se compara directamente con un blanco, es decir, que una de las CCMs no constara con el sustrato, dada la situación que solo estará contenida del suelo de páramo, y agua purificada (Vivant). Para los 3 restantes CCMs estarán compuestas de sustratos y el suelo de páramos, todas con la misma concentración y misma cantidad bacteriana, con el fin llegar a la equidad entre sustratos de vegetales con frutas, nitratos y plomo respectivamente, en un volumen total de 125 mL, dado que es la máxima capacidad de volumen perteneciente en la cámara anódica en cada CCM que será monitoreada mediante un multímetro digital.

2.2.8. Ensamblaje y activación de la CCM como grupo control

Se realiza una CCM perteneciente al blanco de comparación, con el propósito del efecto que realiza el sustrato sobre las bacterias electrogénicas, para la CCM sin sustrato se utilizó los materiales situados en la tabla de materiales y equipos experimentales.

Tabla 7-2: Sustancias para la CCM sin sustrato.

Sustancias	Cantidad
Suelo de páramo de 4000 msnm	2 g
Agua destilada para la solución bacteriana	50 mL
Agua purificada (Vivant) para la CCM	123 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018



Fotografía 15-2. Preparación de la disolución de suelo.

Bonilla, Jhonny; 2018

Al contener todos los equipos y sustancias necesarias, se procede al ensamblaje de la celda de combustible microbiano específicamente para la configuración de cero sustratos, solamente las bacterias provenientes del suelo de páramo disueltas en agua destilada, para ello se realiza la mezcla de H₂O y suelo de páramo en un Erlenmeyer de 250 mL, contenidas en las siguientes proporciones: pesando 2 gramos de suelo de paramo de 4000 msnm con 50 mL de agua destilada, esta mezcla se homogeniza por un tiempo de 10 minutos, notando que el disolvente se encuentre de una tonalidad oscura, por la razón de haber un gran contenido de precipitado.

El siguiente paso es ajustar los tornillos de la CCM ensamblada para evitar la presencia de fugas, una vez que se realizó esto, continuamos con la introducción de las sustancias, como se ofrece el protocolo de la siguiente secuencia:

- ✓ Por el primer corcho introducir 20 mL de agua destilada con la jeringa
- ✓ Realizar el mismo paso por 3 ocasiones.
- ✓ Por el corcho secundario introducir 2 mL del agua de suelo de páramo, con la jeringa de 3 mL.
- ✓ Posteriormente introducir los 63 mL restantes por el corcho del agua destilada, es decir, por el corcho primario.

- ✓ Para este paso se efectúa de la siguiente manera, 3 veces con la ayuda de la jeringa de 20 mL y los restantes 3 mL con la ayuda de otra jeringa que no haya sido contaminada por el suelo de paramo.
- ✓ Todos estos utensilios deben estar esterilizados.

De esta forma se llena la cámara anódica de esta CCM que no contiene el sustrato, y por lo tanto cabe de forma precisa los 125 mL pertenecientes a esta sección, ya que el electrodo de cobre de la cámara anódica se encuentra cubierta por los microorganismos electrogénicos y el agua destilada, una mezcla concretada homogéneamente.

Una nota muy importante es la diferencia de presión, interna y externa a la cámara anódica, ya que al momento que se introduce el líquido, en la parte interna aumenta la presión de tal cámara, entonces, lo recomendable es extraer el aire presente en esta zona, de acuerdo con la gravedad y la bomba se sección, que en este caso es la jeringa que se está utilizando, realizando este procedimiento la diferencia de presión de la parte interna y externa de la CCM va aproximarse a cero, con la finalidad de que no exista desbordes o fugas y evitar la presencia de oxígeno en la cámara anódica, realizando el electrodo anódico un mejor trabajo.

2.2.9. Ensamblaje y activación de la CCM con vegetales como sustrato

Para los sustratos pertenecientes a la familia de productos orgánicos, presentamos las frutas y vegetales, al realizar esta configuración de CCM tomamos aspectos relevantes que ayuda a esta investigación, ya que es un caso primordial por la facilidad que le damos a los microorganismos en la producción de bioelectricidad con la aportación de fuentes vitamínicas, fibra, glucosa, etc., para esta CCM necesitamos los materiales que están citados en la tabla 22-2 de materiales y equipos experimentales.

Para esta CCM el sustrato tiene una concentración de 1000 ppm que va hacer el igualitario para todos los sustratos de los 3 CCM restantes.

La composición de la solución del sustrato está determinada por los siguientes productos de la tabla 8-2 y realizando los cálculos respectivos de la tabla 9-2.

Tabla 8-2: Conformación del sustrato en la CCM de frutas y vegetales.

Vegetales y frutas como sustratos para 1000 ppm

Frutas	Cantidad (g)	Vegetales	Cantidad (g)
Banano	0.1	Haba	0.1
Manzana	0.1	Choclo	0.1
Uva	0.1	Lechuga	0.1
Piña	0.1	Zapallo	0.1
Sandia	0.1	Tomate	0.1
Total frutas	0.5	Total vegetales	0.5
Total frutas y vegetales		1 gramo	
Mas H ₂ O destilada		1000 mL	

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Tabla 9-2: Cálculo para la composición de sustrato frutas y vegetales de concentración.

Concentración en 1000 ppm de frutas y vegetales como sustratos
$\begin{aligned} \text{Concentración de partes por millón (ppm)} &= \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}} \\ &= \frac{1000 \text{ mg de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} \\ &= \frac{1 \text{ g de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Antes de realizar el corte con el cuchillo de las frutas y vegetales se procede a un enjuague riguroso con agua destilada para quitar todo rastro de ceniza, tierra o agente externo a los productos orgánicos, después de realizar este procedimiento, el cuchillo sirve para obtener trozos muy pequeños entre pulpas y cortezas de las frutas y vegetales, esto se realiza con la finalidad de ayudar a disolverse el producto después del pesaje en el agua destilada.

Recordemos que la parte catódica o el electrodo de cobre que se encuentra realizando el papel de cátodo tiene que estar en contacto con el oxígeno proveniente del aire atmosférico y para la cámara anódica donde se producen las reacciones de oxidación-reducción estas conformadas de las soluciones y sustancias que se encuentran en la siguiente tabla 10-2.

Tabla 10-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM de vegetales.

Sustancias	Cantidad
Suelo de para de 4000 msnm	2 g
Agua purificada (Vivant)	50 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Después de constatar de estar bien sellado la cámara anódica perteneciente a esta CCM, realizamos el mismo procedimiento que se hizo para la CCM sin sustrato, teniendo en cuenta el diferencial de presión de la parte interna con la parte externa, entonces insertamos la cantidad de soluciones como indica en la Tabla 11-2 y se observa los sustratos disponibles en la fotografía 16-2.

Tabla 11-2: Composición de la cámara anódica en la CCM de vegetales.

Sustancias en disolución	Cantidad
Solución bacteriana proveniente de paramo a 4000 msnm	2 mL
Solución del sustratos frutas y vegetales	123 mL
Total de contenido en la cámara anódica	125 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018



Fotografía 16-2. Sustratos para la CCM de frutas y vegetales.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.2.10. Ensamblaje y activación de la CCM con nitratos como sustrato

Para la activación de la CCM con nitratos de carbono, se realizó estudios preliminares, siguiendo el método de la formación de agua residual sintética es conformada de agua purificada (Vivant) y el compuesto de nitrato de potasio, dando la característica de pertenecer al grupo de fertilizantes de mayor utilización de la industria y trabajo agronómico (Paña, 2017). Dando resultados exitosos en la producción de bioelectricidad, con una bacteria en específico, pero como esta investigación trata de la valoración de sustratos para la producción de bioelectricidad, no es necesario un riguroso estudio a los microorganismos que se utiliza, mientras tanto el enfoque va específicamente para los sustratos, y para ello en el diseño experimental se especifica rigurosamente que los sustratos de cada celda de combustible microbiano, se tenga una igualdad de concentración, para garantizar la investigación dirigida especialmente para los sustratos a valorarse.

Para preparar la celda de combustible microbiano es necesario contar con los materiales y equipos tomados en cuenta en la siguiente tabla, realmente es el mismo procedimiento que se realizó para la celda de combustible de frutas y vegetales, pero con la diferencia, que en este caso se utilizara otro tipo de sustrato.

Utilizando el mismo procedimiento de ensamblaje que para la anterior celda de combustible microbiana, nos enfocamos con la preparación de la CCM se emplea nitratos como sustrato, en el mercado nacional este compuesto está formado de la formulación de nitrato de potasio (KNO_3), como esta sustancia la obtenemos en estado sólido, es necesario disolver en el disolvente universal, gracias a su alto nivel de disolubilidad con el agua.

La concentración del sustrato para la celda de combustible microbiano de 1000 ppm como todos los sustratos, se realiza siguiendo los cálculos y utilizando la formula presente en la Tabla 12-2, para mayor exactitud y con la utilización del laboratorio de protección ambiental de investigación, hacemos uso de la balanza analítica como se muestra en la fotografía 17-2.

Tabla 12-2: Cálculo para la concentración de nitratos.

Concentración en 1000 ppm de KNO_3
$\begin{aligned} \text{Concentración en partes por millón (ppm)} &= \\ \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}} &= \frac{1000 \text{ mg de } KNO_3}{1 \text{ litro de agua destilada}} \\ &= \frac{1 \text{ g de } KNO_3}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 1000 \text{ ppm de nitratos} \end{aligned}$



Fotografía 17-2. Pesaje de nitratos para la CCM correspondiente.

Bonilla, Jhonny; 2018

Se utiliza la misma mezcla de agua con suelo de páramo que se utilizó para las dos anteriores celdas de combustible microbiano, debido a que solo se utiliza 2 mL para CCM, es decir, la proporción que se presenta tabla 13-2, como en casos pasados, antes de introducir a la cámara anódica de la CCM realizamos una homogenización con un tiempo de 5 minutos, se realiza esta ejecución con la finalidad de ascender los precipitados del Erlenmeyer que contienen esta sustancia.

Tabla 13-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM en nitratos.

Sustancias	Cantidad
Suelo de para de 4000 msnm	2 g
Agua purificada (Vivant)	50 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Para la introducción del contenido a la cámara anódica correspondiente a esta celda de combustible microbiano, utilizamos la proporción presente en la tabla 19-2, de forma gráfica en la fotografía 18-2, siguiendo los pasos previamente anunciados en la conformación de la CCM utilizando frutas y vegetales como sustratos. Al momento de disolver el sustrato se requiere agitar con la varilla de agitación prolongadamente la solución por al menos 5 minutos para que tenga una consistencia

homogénea y el sustrato esté presente en todas las partes y direcciones de del líquido con la correspondiente concentración.



Fotografía 18-2. Solución de 1000 ppm para nitratos.

Bonilla, Jhonny; 2018

Como dato importante debemos evitar que todas las CCMs configuradas hasta este momento no presente ninguna cantidad de oxígeno en la cámara anódica y las sustancias que estén en la misma se encuentren sobrepasando el electrodo de cobre anódico.

Tabla 14-2: Contenido de la cámara anódica en la CCM de nitratos.

Sustancias en disolución	Cantidad
Solución bacteriana proveniente de paramo a 4000 msnm	2 mL
Solución del sustrato con KNO_3	123 mL
Total de contenido en la cámara anódica	125 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

2.2.11. Ensamblaje y activación de la CCM con plomo como sustrato

Con estudios y ensayos realizados a microorganismos capaces de absorber metales pesados en efluentes pertenecientes de industrias mineras, los investigadores en biosorción se convirtieron en ejes activos a través de numerosos biosorbentes en los que se proponen diferentes orígenes para la eliminación de metales y / o colorantes, en los últimos años la atención con investigaciones hacia los métodos biológicos para conseguir el tratamiento de efluentes, se encuentran en los procesos de

comercialización (Echeverría, et al., 2016). Con la utilización de metales pesados como es este caso se utiliza el plomo, para investigaciones de remediación, produciendo un valor agregado como es la generación de bioelectricidad, se ejecuta de estudios previos la utilización de este metal, formando agua sintética a partir del nitrato de plomo ($Pb(KNO_3)_2$) obteniéndolo de forma comercial a este metal pesado, con mejores resultados en ensayos previos. Para preparar esta CCM se necesitan los materiales que se encuentran citados en la tabla 22-2 de materiales y equipos experimentales, similar a las anteriores CCMs con sustratos diferentes y mayor coincidencia con la utilización de nitratos como sustrato.

Para la concentración del sustrato de plomo se realizó el mismo calculo correspondiente a los dos anteriores sustratos, ya que todos tienen la misma concentración de 1000 ppm y se lo realizó utilizando la siguiente formula de la tabla 15-2, al instante de que se obtuvo la sustancia con el disolvente, fue necesario con la varilla de agitación, agitar la solución por alrededor de 10 minutos, este tiempo es mayor al tiempo utilizado en nitratos por la razón de que el nitrato de plomo no es tan soluble como el nitrato de potasio, y en concentraciones no muy mayores es altamente toxico para cualquier ser vivo.

Tabla 15-2: Cálculo para la concentración de plomo.

<p>Concentración en 1000 ppm para el $Pb(KNO_3)_2$</p>
$\begin{aligned} \text{Concentración en partes por millón (ppm)} &= \\ \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}} &= \frac{1000 \text{ mg de } Pb(KNO_3)_2}{1 \text{ litro de agua destilada}} \\ &= \frac{1g \text{ de } Pb(KNO_3)_2}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 1000 \text{ ppm de plomo} \end{aligned}$

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

La sustancia debe estar bien disuelta como se lo observa en la siguiente fotografía 19-2, con el fin de que el fluido tenga la misma concentración en todo el recipiente y así no altere los resultados de la investigación al momento de realizar el monitoreo y la comparación con los otros sustratos.



Fotografía 19-2. Solución de 1000 ppm para plomo.

Bonilla, Jhonny; 2018

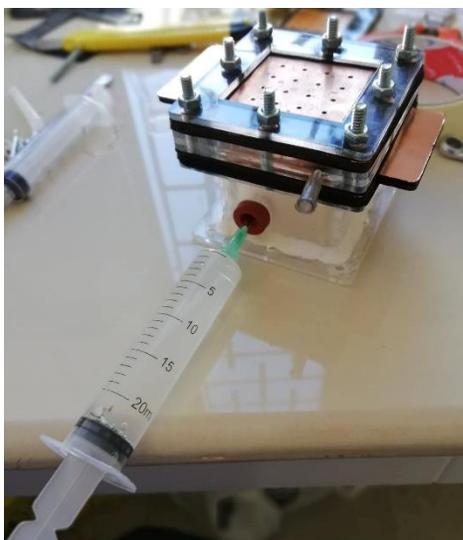
Con el mismo procedimiento de los anteriores casos como para los nitratos y frutas, vegetales. Utilizamos la solución bacteriana, acogemos e introducimos los microorganismos sin antes agitar de forma prolongada esta solución con la misma finalidad de realizar el ascenso del precipitado en el Erlenmeyer de 250 mL compuesta de la misma cantidad perteneciente a la tabla 22-2.

Tabla 16-2: Composición para la disolución bacteriana en la CCM de plomo como sustrato.

Sustancias	Cantidad
Suelo de para de 4000 msnm	2 g
Agua purificada (Vivant)	50 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

En la fotografía 23-2 se puede notar la ejecución de la inserción del líquido que contiene el plomo como sustratos a través de una jeringa y por el corcho de caucho que solo es para inserte el sustrato, debido a que por la parte posterior se encuentre el corcho de caucho por donde vamos a introducir la población bacteriana de suelo de páramo, y a medida que se ingrese la sustancia debemos aspirar el aire presente en el interior de esta sección.



Fotografía 20-2. Introducción de sustrato plomo a la CCM.

Bonilla, Jhonny; 2018

Para el contenido de la cámara anódica de la celda de combustible microbiano con la capacidad de generar bioelectricidad utilizando plomo, un metal pesado como sustrato, está conformada de la manera como se estipula en la tabla 17-2, y antes de realizar la succión del sustrato en necesario agitar el recipiente que este lo contiene, y de la misma forma utilizar jeringas nuevas para cada sustrato y cada CCMs, evitando la contaminación, como se observa la fotografía 20-2.

Tabla 17-2: Contenido de la cámara anódica en la CCM de plomo como sustrato.

Sustancias en disolución	Cantidad
Solución bacteriana proveniente de paramo a 4000 msnm	2 mL
Solución del sustrato con $(Pb(KNO_3)_2)$	123 mL
Total de contenido en la cámara anódica	125 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

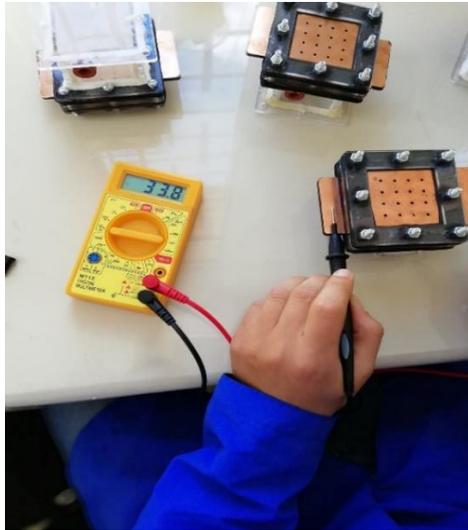
Teniendo listos las 4 CCMs y realizando todos los pasos consecutivos, estamos listos para la adquisición de datos, se los realizará con la ayuda del equipo denominado multímetro digital, que tiene como característica medir el voltaje producido en cada celda de combustible microbiano, la forma y el tiempo de cómo se realiza el monitoreo y la adquisición de datos de forma manual se lo describe en el literal 2.2.11.

2.2.12. Monitoreo y adquisición de datos para las CCMs reactivadas

Verificando que la cámara anódica de cada celda de combustible microbiano se encuentre sin aire, las CCMs se llevan a un monitoreo de producción de bioelectricidad, este monitoreo se lleva a cabo en el laboratorio de Protección Ambiental perteneciente a la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, con la ayuda del multímetro digital conectamos al conector negativo de equipo directamente con el ánodo de la CCM, con el conector positivo del equipo en cambio conectamos al electrodo de la cámara catódica aeróbica para cada CCM.

De esta manera la perilla del multímetro digital se conduce hasta alcanzar la escala mínima de VCD (V), que es donde el equipo lee de forma directa y digital la producción de voltios, si la demanda de voltaje es mayor al intervalo marcado en la escala que esta introducida en el multímetro digital, debidamente arrastramos la perilla al siguiente nivel de equipo para descartar el error indicado por el equipo y así marcar el voltaje superior producido por la CCM.

El monitoreo o la toma de datos se los hizo de forma manual, durante un tiempo de 15 días, lo cual este tiempo fue el periodo que se hizo funcionar todas las CCMs simultáneamente, con la finalidad de realizar la comparación entre sí, en este caso es de comparación de sustratos. Todos los días de monitoreo se realizó la medición en el intervalo de horario de entre las 10:00 horas y 11:00, la razón por la cual se realizó la lectura en este intervalo de tiempo del día, es para garantizar la equidad para todas la CCM de su respectivo sustrato utilizadas en esta investigación. Obteniendo para este ensayo un total de 15 valores en todos los días para cada CCM, con un total de 60 valores entre todas las CCMs reactivadas, así se determinó si el sustrato interviene o afecta en la producción de bioelectricidad. Esto ayudó para valorar el mejor sustrato con el cual se propondrá la mejor propuesta de configuración para la celda de combustible microbiano, con los mejores caracteres y buenos resultados.



Fotografía 21-2. Toma de datos para las CCMs activadas.

Bonilla, Jhonny; 2018

En la fotografía 21.2., se muestra de forma gráfica la maniobra que se realizó para la medida de valores de la CCM con la utilización de sustratos, el blanco de comparación, usando como electrodos las placas de cobre y con ayuda del multímetro digital MT 15.

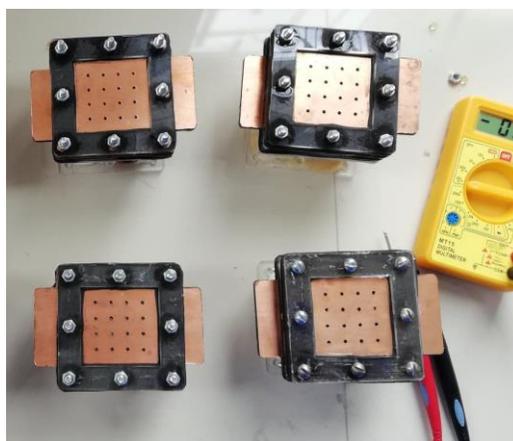
2.2.13. Evaluación de voltaje producido por las CCMs, con la utilización de vegetales, nitratos y plomo como sustratos

Una vez obtenidos los datos de producción de bioelectricidad emanadas por las bacterias electrogénicas provenientes de los suelos de páramos a una altura de 4000 msnm, a través de la reacción electroquímica de óxido – reducción y degradando el sustrato introducido para cada ocasión, cada valor es introducido en una hoja de cálculo de programa Excel, realizando el cálculo de sumatoria, promedio y compactación de datos, adjuntado graficas dinámicas para una mejor resolución de lectura de resultados. Mediante colores para cada resultado de sustrato y prolongando la recta polinómica.

Mientras que una línea de tendencia polinómica utilizada para resaltar datos adquiridos, es una línea curva que facilita sus resultados y en general conlleva a la utilización cuando los datos fluctúan, como, por ejemplo, para analizar las pérdidas y ganancias de un conjunto de datos con gran dispersión o para este caso la ganancia y perdida de voltaje al producir bioelectricidad. Por lo tanto, el orden del

polinomio puede otorgarse mediante al nmero de fluctuaciones de los datos obtenidos o también de acuerdo a la función de los valores máximos y mínimos que nos otorgué la curva a tratar los resultados (Microsoft, 2007), otorgando una mejor comparación entre resultados que están en el siguiente capítulo.

Los valores obtenidos y comparados en unidades de voltaje, determinan si los sustratos utilizados y propuestos influyen en los microorganismos para una mejor producción de bioelectricidad, si es así, cuál de todos los sustratos utilizados, es el mejor, para concluir con la principal configuración de celda de combustible microbiano, observándose de la parte superior en la fotografía 22-2, produciéndose una satisfactoria obtención de bioelectricidad en relación y comparación con investigaciones anteriores de este mismo tipo.



Fotografía 22-2. Selección del mejor sustrato.

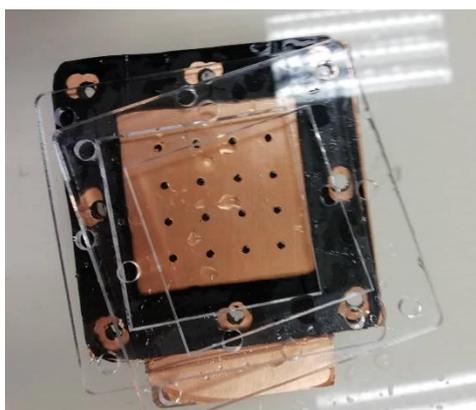
Bonilla, Jhonny; 2018

2.2.14. Propuesta de la mejor configuración de CCM

Cuando ya se tiene una visión de la mejor celda de combustible microbiano, mediante la adquisición de datos y resultados demandador hasta esta parte de la investigación, se procede la toma de decisiones, dado por hecho que entre las CCMs utilizadas con sustratos y la CCM que no se usó ningún sustrato, entonces la mayor producción de bioelectricidad fue de parte de las CCMs que se utilizó sustratos de vegetales, nitratos y plomo. Mientras que la mejor producción de bioelectricidad que se generó entre estos sustratos utilizados, fue por parte de las frutas y vegetales.

Para ello se realiza la última etapa de esta investigación, la cual se procede a la reactivación de la mejor CCM donde es, con la utilización de frutas y vegetales, este proceso se realiza con la finalidad de dar a conocer la forma de la mejor CCM y su producción de forma cuantitativa de bioelectricidad.

Para este paso a seguir es necesario la utilización de todos los elementos que forman parte de la CCM donde las frutas y vegetales son protagonistas como sustratos, otro de los materiales principales para esta CCM que se va a monitorear es la utilización de electrodos de cobre, como se observa el electrodo de la parte superior en la fotografía 23-2, ya que recordemos que fueron los mejores actuadores en la producción de bioelectricidad en comparación con el tejido de fibra de carbono.



Fotografía 23-2. Electrodo de cobre.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.2.15. Ensamblaje de la CCM propuesta, utilizando vegetales como sustrato

Como estamos hablando de la mejor CCM. que nos va a brindar la mayor producción de bioelectricidad y con resultados anteriores a este ensayo, se considera las mismas cantidades de sustratos entre frutas y vegetales, como se está presente en la siguiente tabla.

Tabla 18-2: Conformación del sustrato para mejor propuesta de CCM.

Vegetales y frutas como sustratos para 1000 ppm			
Frutas	Cantidad (g)	Vegetales	Cantidad (g)
Banano	0.1	Haba	0.1
Manzana	0.1	Choclo	0.1
Uva	0.1	Lechuga	0.1

Piña	0.1	Zapallo	0.1
Sandía	0.1	Tomate	0.1
Total frutas	0.5	Total vegetales	0.5
Total frutas y vegetales		1 gramo	
Mas H ₂ O destilada		1000 mL	

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

En tanto para concentración que se utilizará en este ensayo, serán los mismos 1000 ppm con que se ha venido desarrollando esta investigación, para obtener la concentración deseada, tendremos que utilizar la ecuación figada en la siguiente tabla 19-2.

Tabla 19-2: Cálculo para la composición de sustrato en la mejor propuesta de CCM.

Concentración en 1000 ppm de frutas y vegetales como sustratos
$\begin{aligned} \text{Concentración de partes por millón (ppm)} &= \frac{\text{mg de soluto}}{1 \text{ litro de disolvente}} \\ &= \frac{1000 \text{ mg de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} \\ &= \frac{1 \text{ g de frutas y vegetales}}{1 \text{ litro de agua destilada}} = 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Correspondiente a los microorganismos electrogénicos utilizados para la producción de bioelectricidad en esta CCM, se utiliza las sustancias y cantidades presentes en la siguiente tabla, dando una prioridad a la muestra de carácter fresco, también realizando una agitación entre el soluto y el disolvente, con un tiempo de 5 minutos para alcanzar la mayor homogeneidad posible.

Tabla 20-2: Composición para la disolución bacteriana en la mejor propuesta de CCM.

Sustancias	Cantidad
Suelo de para de 4000 msnm	2 g
Agua purificada (Vivant)	50 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Después del ajuste de las 8 tuercas que conforman la instalación de las 2 cámaras de la respectiva CCM, entre la cámara anódica y catódica se debe realizar una minuciosa observación por donde puede realizarse algún tipo de fuga de líquido, para lo consecuente es necesario presionar todas las capas de cada cámara en la CCM, con respecto al electrodo de cobre presente en la parte catódica es necesario que no tenga la más mínima cantidad de contacto con el agua, ya que tiene que tomar contacto netamente con el oxígeno del aire, con respecto a la cámara anódica, es netamente anaeróbica ya que la cantidad justa que tiene este espacio coincide con la cantidad que está presente en la tabla 21-2 donde se encuentra las sustancias que forman la parte anódica y donde se produce la bioelectricidad en consecuente a las reacciones de óxido - reducción que efectúan los seres microscópicos unicelulares bio electrogénicos.

Tabla 21-2: Composición de la cámara anódica en la mejor propuesta de CCM.

Sustancias en disolución	Cantidad
Solución bacteriana proveniente de paramo a 4000 msnm	2 mL
Solución del sustratos frutas y vegetales	123 mL
Total de contenido en la cámara anódica	125 mL

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

Para introducir el total de 125 mL de sustancias en la cámara anódica debemos tomar muy en cuenta la diferencia de presión que se produce entre esta cámara y el exterior presente en la fotografía 24-2. Para lograr una óptima introducción de sustancias, con la ayuda de las jeringas se debe controlar la presión que se mantiene dentro de la cámara, esta es la única alternativa por la razón que en la parte exterior no se puede controlar la presión, entonces la jeringa actúa de la misma forma que una bomba de succión.

Dado que, a medida que se introducen las sustancias hacia la cámara anódica, se debe realizar la expulsión de aire presente en la misma cámara anódica, con una sola meta, extraer todo el aire y evitar las fugas que por consecuencias de la diferencia de presión se produzca en la celda de combustible microbiano de frutas y vegetales como sustratos propuesta para la mejor producción de bioelectricidad.



Fotografía 24-2. Introducción bacteriana a la CCM propuesta.

Bonilla, Jhonny; 2018

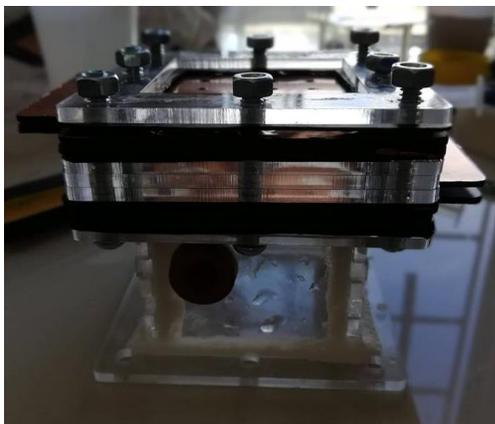
2.2.16. Monitoreo y evaluación de producción de bioelectricidad de la CCM de mejor configuración

Este monitoreo o adquisición de datos se realiza mediante un multímetro que nos brinda resultados en unidades de voltaje, de la misma marca y modelo que se ha realizado a los ensayos anteriores, con el equipo mencionado se procede a la medición de voltaje para esta CCM, con los cable de este equipo se toma contacto con los electrodos de cobre de la CCM propuesta para la mayor producción de bioelectricidad, el cable va conectado al cátodo de la CCM y el cable negro o positivo va conectado a la parte anódica de la CCM, obteniéndose en el display del equipo de medida un valor mayor a cero, acorde al número de voltios que la celda de combustible microbiano emende en ese instante.

El tiempo de monitoreo o de adquisición de datos para esta CCM de mejor configuración se realiza por un tiempo de 7 días, entonces se toman valores diarios, donde este valor es tomado a la misma hora de cada día, para este caso se realizó entre las horas de 10 y 11 horas de cada día, obteniéndose al final de este monitoreo un total de 7 datos o valores con respecto a este ensayo de monitoreo de voltaje.

La apariencia de la celda de combustible microbiano se encuentra en la fotografía 25-2, donde presenta la parte catódica y anódica con sus respectivos electrodos de cobre metálico.

Consecuentemente de estos valores se realizará un análisis de datos y conformación de graficas estadísticas para determinar la valoración de voltaje o bioelectricidad producida por esta CCM que resulta ser la mejor de esta investigación



Fotografía 25-2. Aspecto de la CCM propuesta de la investigación.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.3. Técnicas

2.3.1. Análisis del suelo

La mayoría de análisis para suelo que se realizan, han sido para índice de fertilidad, con el fin de aportar investigaciones en diferentes ubicaciones con respecto a los productos que se cosechan en la zona estudiada. El suelo de páramo que se ha muestreado debe pasar por un análisis químico de pH, así también con los análisis físicos en este caso la temperatura y la conductividad, este último mencionado, refleja la capacidad de cationes presentes en la muestra de suelo, mientras mayor es su conductividad, mayormente se prolonga su capacidad de producir bioelectricidad y directamente proporcional a la materia orgánica, como presentes las 6 muestras de suelo para análisis en la fotografía 26-2.



Fotografía 26-2. Muestras listas para análisis.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.3.2. Análisis de pH

Se necesitan 6 vasos de precipitación para realizar la medición del pH, los 5 primeros para las muestras procedentes de cada punto de suelo de páramo, en cada vaso de precipitación se adiciona 10 gramos de muestra, con respecto al sexto vaso de precipitación, se adiciona 2 gramos de cada muestra provenientes de los 5 puntos, así suman los 10 gramos para cada análisis de pH, ya que el ultimo vaso contiene una mezcla o un promedio equivalente de todas las muestras recogidas.



Fotografía 27-2. Panel de lectura, pH metro.

Bonilla, Jhonny; 2018

Siguiendo con la lectura del pH de las muestras, la preparación acoge el agua destilada en un equivalente de 2 a 1; es decir por cada 10 gramos de suelo de páramo se añade 20 mililitros de agua destilada, que posteriormente con ayuda de la varilla de agitación, la mezcla debe estar lo más homogéneamente posible, para así obtener mejores resultados en cuanto a la muestra de su análisis. Después de la lectura para cada medida de pH, con ayuda de la pisseta rociamos agua destilada sobre el electrodo de medida perteneciente al equipo, esto con la finalidad de quitar cualquier rastro de la muestra anterior, para proceder con una adecuada lectura en la nueva muestra.

2.3.3. Análisis de temperatura

Utilizando la misma dosis y muestras del análisis de pH, se procede a medir la temperatura con ayuda de un termómetro digital, realizando el mismo procedimiento de preparación que se efectuó con la lectura para pH, mediante los siguientes materiales.

Entre el agua destilada y la muestra debe tener la misma consistencia de dosificación que en el ensayo anterior, es decir de 2 a 1; removiendo y agitando hasta obtener una mezcla homogénea, mostrado en la fotografía 28-2, procurando que el termómetro entre de manera suave hasta la parte central del vaso de precipitación, por ende, hasta la mitad de la muestra, ya que existen microorganismos que pueden llegar a marcar temperaturas extremadamente altas o bajas.



Fotografía 28-2. Dosificación de muestra 1:2 suelo agua.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.3.4. Análisis de conductividad

La conductividad está marcada por unidades de media de uS (micro Siemens), ya que es un indicativo para conocer la facilidad de poder transmitir la corriente eléctrica por parte de un material o sustancia, que en este caso se trata de materia orgánica presente en el suelo de páramo, se trata del desprendimiento de electrones que presenta estas sustancias, logrando identificar el movimiento y flujo eléctrico que presentan las muestras preparadas, observando la fotografía 29-2. La conductividad eléctrica también depende mucho de la configuración presente en cada muestra como son los microorganismos o los materiales que los conforman, y de la temperatura que se está expuesto tal muestra.

Utilizando los materiales y equipos citados en la tabla anterior, y siguiendo el mismo mecanismo de preparación de las 6 muestras de suelo provenientes de los 2 análisis anteriores, continuamos midiendo la conductividad, ya que estas muestras tienden a precipitar, tenemos que esta con constante agitación, una vez obtenida la mezcla homogenizada, se procede con la introducción del equipo, llegando hasta la mitad de la misma, en el inicio de la lectura nos vamos a encontrar con datos sumamente volátiles, por consecuente a ello tenemos que ser precavidos con los datos arrojados por el equipo, mientras se espera hasta obtener una lectura constante y con poca alteración.



Fotografía 29-2. Lectura de conductividad a la muestra.

Bonilla, Jhonny; 2018

No podemos olvidar que, al finalizar la lectura de cada una de las muestras debemos lavar con agua destilada el equipo para no tener errores y que la lectura sea de forma limpia y segura para las próximas muestras a medirse.

2.4. Lugar de investigación

El suelo de páramo ha venido siendo objeto de mucho interés para el estudio a nivel profesional en el área ambiental, gracias a su biodiversidad en bienes y servicios ambientales, tanto como indicadores biológicos por su poca intervención agrícola y humana, por la razón que presenta una gran cantidad de carbono orgánico total y minerales teniendo una gran importancia para esta investigación y para todos los estudios relacionados a la producción de bioelectricidad (Guambo Galarza & Allauca Caisaguano, 2015). Por ende, este estudio de equipamiento y monitoreo a todas las celdas de combustible microbiano utilizadas en toda la investigación, se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis Instrumental y en el laboratorio de Protección Ambiental; los dos laboratorios pertenecientes a la Facultad de Ciencias aledaños al edificio principal de tal facultad, desarrollado en la Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo, este centro académico se encuentra en la zona urbana de la ciudad de Riobamba capital de la Provincia de Chimborazo, una de las 24 Provincias de la Republica de Ecuador.

2.4.1. Equipos y materiales experimentales

En la tabla 22-2 se describe la necesidad que tiene esta investigación en cuando a los materiales, quipos y cantidades en cada etapa de la misma:

Tabla 22-2: Materiales y equipos experimentales

ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN		MATERIALES Y EQUIPO	CANTIDAD UTILIZADA
Materiales y equipos para la obtención del suelo de páramo	Hasta el arribo de la ubicación, donde se extrae la muestra a utilizarse	Equipo para montaña	1
		Altímetro	1
		Paraguas en caso	1
	Muestreo del suelo de páramo	Mochila para implementos	1
		Estacas de 60 cm de largo con filo puntiagudo	5
		Flexómetro de 10 metros de longitud	1
		Bolsas de sellado al vacío Ziploc (20x30)cm	5
		Etiquetas para las bolsas de muestra enumeradas del 1 al 5	5
		Combo o martillo	1
		Soga, piola o cuerda	1
		Barreno para más de 40cm de profundidad	1
		Guantes quirúrgicos	1
		Gafas	1
		Alcohol	2 L
		Mascarillas	1
Bolsa de basura plástica grande	2		
Cuchara de metal mediana	1		
Materiales de CCMs para la selección de electrodos	Materiales y equipo		Cantidad
	Acrílico transparente de 3 mm de grosor	1 plancha de 1.5m x 1.5m	

	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Guantes	1
	Pinza tipo alicate	1
	Tornillos y tuercas de 0.5 cm	32
	Tejido de fibra de carbono de 8cm x 8cm	4
	Planchas de cobre de 8cm x 8cm	4
	Cauchos para evitar fugas	16
	Papel celofán (actuador como separador de cámaras anódica y catódica)	4
	Pegamento liquido instantáneo (2 g)	15
	Bicarbonato	1 lb
	Jeringa de 3 mL	4
	Jeringa de 50 mL	4
	Erlenmeyer 1000mL	1
	Erlenmeyer 250mL	1
	Varilla de agitación	2
	Cuchillo	1
	Espátula	1
	Corchos de 1 cm de diámetro	8
Equipos de CCMs para la selección de electrodos	Equipos	Cantidad
	Cortadora a láser de acrílico	1
	Multímetro digital MT 15	1
	Balanza analítica	1
materiales y equipos para la CCM sin sustrato.	Materiales y equipos	Cantidad
	Celda de acrílico (5x5x5)cm	1
	Electrodos de cobre	2
	MIP	1
	Tornillo – tuerca	8
	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Espátula	1
	Jeringa de 3 mL	2
	Jeringa de 20 mL	1
	Erlenmeyer 250 mL	1
	Balanza analítica	1

	Papel aluminio (7x7)cm	1
	Cauchos anti fugas	4
	Erlenmeyer 1000 mL	1
materiales y equipos para la CCM con vegetales como sustrato.	Materiales y equipos	Cantidad
	Celda de acrílico (5x5x5)cm	1
	Electrodos de cobre	2
	MIP	1
	Tornillo – tuerca	8
	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Espátula	2
	Jeringa de 3 mL	2
	Jeringa de 20 mL	1
	Erlenmeyer 250 mL	1
	Balanza analítica	1
	Papel aluminio (7x7)cm	3
	Cauchos anti fugas	4
	Erlenmeyer 1000 mL	1
	Cuchillo	1
	Guantes de látex par	1
Materiales y equipos para la CCM utilizando nitratos como sustrato.	Materiales y equipos	Cantidad
	Celda de acrílico (5x5x5)cm	1
	Electrodos de cobre	2
	MIP	1
	Tornillo – tuerca	8
	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Espátula	2
	Jeringa de 3 mL	2
	Jeringa de 20 mL	1
	Erlenmeyer 250 mL	1
	Balanza analítica	1
	Papel aluminio (7x7)cm	2
	Cauchos anti fugas	4
	Erlenmeyer 1000 mL	1

	Corcho para la introducción de sustancia	2
	Guantes de látex par	1
Materiales y equipos para la CCM utilizando plomo como sustrato.	Materiales y equipos	Cantidad
	Celda de acrílico (5x5x5)cm	1
	Electrodos de cobre	2
	MIP	1
	Tornillo – tuerca	8
	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Espátula	2
	Jeringa de 3 mL	2
	Jeringa de 20 mL	1
	Erlenmeyer 250 mL	1
	Balanza analítica	1
	Papel aluminio (7x7)cm	2
	Cauchos anti fugas	4
	Erlenmeyer 1000 mL	1
	Corcho para la introducción de sustancia	2
	Guantes de látex par	1
Materiales y equipos para mejor propuesta de CCM.	Materiales y equipos	Cantidad
	Celda de acrílico (5x5x5)cm	1
	Electrodos de cobre	2
	MIP	1
	Tornillo – tuerca	8
	Mandil	1
	Mascarilla	1
	Espátula	2
	Jeringa de 3 mL	2
	Jeringa de 20 mL	1
	Erlenmeyer 250 mL	1
	Balanza analítica	1
	Papel aluminio (7x7)cm	3
	Cauchos anti fugas	4
	Erlenmeyer 1000 mL	1

	Cuchillo	1
	Guantes de látex par	1

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

2.4.2. Equipos y materiales de laboratorio

En base a los equipos y materiales pertenecientes al laboratorio están presentes en la tabla 23-2 en cuanto concierne a los materiales utilizados junto con sus cantidades.

Tabla 23-2: Materiales y equipos para medición de pH

ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN	MATERIALES, EQUIPO Y CANTIDAD	
Materiales y equipos para medición de pH, del suelo de páramo	Materiales y equipos	Cantidad
	pH metro	1
	Vasos de precipitación de 100 mL	6
	Espátula	1
	Balanza analítica	1
	Agua purificada (Vivant)	1 L
	Varilla de agitación	1
	Piseta	1
	Par de guantes de látex	1
Materiales y equipos para medir la temperatura, del suelo de páramo	Materiales y equipos	Cantidad
	Termómetro digital	1
	Vasos de precipitación de 100 mL	6
	Espátula	1
	Balanza analítica	1
	Agua purificada (Vivant)	1 L
	Varilla de agitación	1
	Piseta	1
	Mascarilla	1
Par de guantes de látex	1	
Materiales y equipos para conductividad del suelo de páramo	Materiales y equipos	Cantidad
	Conductímetro (uS)	1
	Vasos de precipitación de 100 mL	6

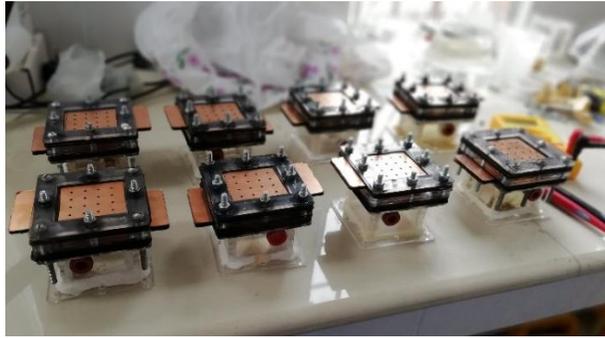
	Espátula	1
	Balanza analítica	1
	Agua purificada (Vivant)	1 L
	Varilla de agitación	1
	Piseta	1
	Mascarilla	1
	Par de guantes de látex	1

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

2.5. Diseño técnico de la investigación

El proyecto que se ha desarrollado en esta investigación, proviene de la reactivación de celdas de anteriores investigaciones con temas similares, para lo cual se utilizó suelo de páramo proveniente de la reserva de producción de fauna Chimborazo, ubicado a 4000 msnm con un muestreo de 5 puntos en forma de zigzag, a una profundidad de 20cm a 40cm en la superficie vegetal de Pajonal. Se determinó ensayos de análisis de suelo entre ellos el pH, conductividad y temperatura; se probó dos tipos de electrodos para la utilización final entre electrodos de cobre y electrodos de tejido de fibra de carbono, donde el mejor productor y conductor de electrones fue de parte de los electrodos de cobre. Mediante este preámbulo se procedió a la reactivación de las celdas de combustible microbiano con la utilización de 3 diferentes sustratos acompañado de un blanco testigo, determinándose así su influencia sobre los microorganismos electrogénicos, dato que, los sustratos como los vegetales, nitratos y plomo aseguran su mejor eficiencia con respecto al blanco o CCM sin sustratos, todo esto en la producción de bioelectricidad con una duración de 15 días. Mediante este proceso se pudo realizar la valoración de todos 3 sustratos utilizados en este ensayo, con todos los datos registrados en la herramienta de análisis numérico denominado Excel, donde, con la ayuda de gráficos y parámetros de cálculo obtenemos el resultado de mejores valores y promedios, con estos resultados se propone la utilización de métodos y herramientas estadísticas para desarrollar una comparación de medias; empezando por la prueba de normalidad, prueba de varianzas homogéneas, por ende basta que una de las dos pruebas no se cumpla para desarrollar la comparación de medias por el método de la prueba de Kruskal – Wallis, ya que es una prueba no paramétrica, debido a que no se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas. Nos ofrece toda la información en base a la agrupación de conjuntos de intervalos mediante una comparación múltiple y ajustada entre medias o promedios. Finalmente se propone la mejor configuración de CCM para la máxima producción de bioelectricidad, reactivando la celda con los sustratos de frutas y vegetales y utilizando los electrodos de cobre como

ánodo y cátodo. Consiguiendo así que se maximice la obtención de bioelectricidad en comparación con los ensayos anteriores.



Fotografía 30-2. CCMs y multímetro digital.

Bonilla, Jhonny; 2018

2.6. Planteamiento de la hipótesis

Hipótesis textual

La utilización de 3 sustratos en las CCMs sí influye en la producción de bioelectricidad.

Hipótesis estadística

Las CCMs con sustratos producen el mismo valor que la CCM que no contiene algún sustrato.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

Al menos una CCM con sustrato diferente produce mayor bioelectricidad que una CCM sin sustrato.

Las concentraciones de sustratos utilizados en las CCMs influyen en la producción de voltaje con la obtención de resultados cuantitativos.

$$H_1: \mu_1 < \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

Para el presente estudio nos interesa saber si los diferentes sustratos a mismas concentraciones influyen en la producción de Bioelectricidad, para ello se ha contrastado la siguiente hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j \text{ para algun } i \neq j$$

Donde:

μ_1 = CCM sin sustrato

μ_2 = CCM con sustrato de frutas y vegetales

μ_3 = CCM con sustrato de nitratos

μ_4 = CCM con sustrato de plomo

Variables dependientes: Generación de bioelectricidad (mV).

Variables independientes: variedad de sustratos, como vegetales/frutas, nitratos y plomo (ppm).

Factor de Interés: Sustratos (Vegetales, Nitrato y Plomo)

Variable Respuesta: Bioelectricidad

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados de los análisis del suelo de páramo

En la parte experimental de muestreo del suelo de páramo se obtuvo 5 muestras de diferentes puntos en el área de 6 x 6, donde a cada una de estas se realizó los análisis que se muestra en la siguiente tabla. Existe un sexto análisis, ya que es la mezcla de todas las muestras anteriores como muestra en los resultados.

Tabla 1-3: Resultados de los análisis del suelo de páramo.

Altura	4000 msnm	Tipo se suelo	pajonal
muestra	μS	temp. ($^{\circ}\text{C}$)	ph
1 de 5	203	18.7	7.09
2 de 5	237	18.5	7.26
3 de 5	312	17.8	7.01
4 de 5	378	17.9	7.24
5 de 5	393	18.6	7.33
mezcla 1-5	346	18.6	7.15
total	1869	110.1	43.08
pro. 6 total	311.50	18.35	7.18

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

En la gráfica 1-3, que forma los resultados de análisis de conductividad para las muestras de suelo de paramo a 4000 msnm.

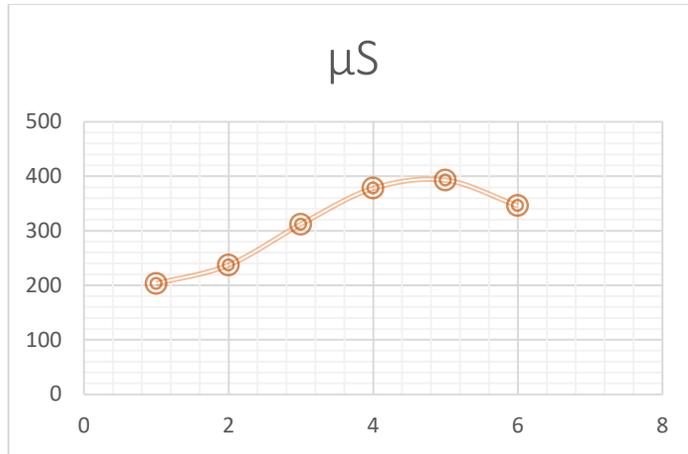


Gráfico 1-3. Conductividad del suelo de páramo.

Bonilla Jhonny, 2018

Se indica la gráfica 2-3, que forma los resultados de análisis de temperatura en °C para las muestras de suelo de paramo a 4000 msnm.

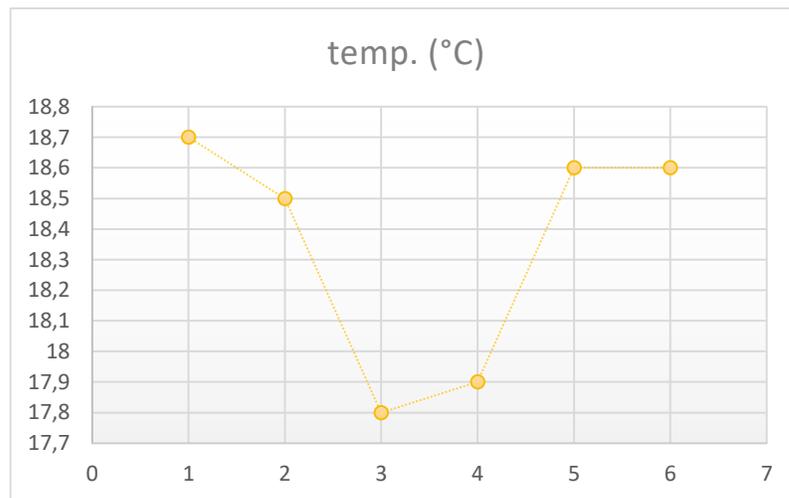


Gráfico 2-3. Temperatura del suelo de páramo en °C.

Bonilla Jhonny, 2018

A continuación, se indica la gráfica 3-3, que forma los resultados de medición de pH en las muestras de suelo de paramo a 4000 msnm.

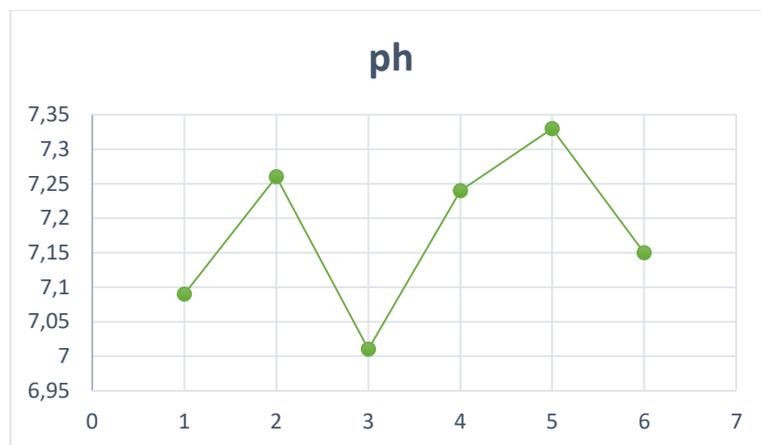


Gráfico 3-3. PH de las muestras del suelo de páramo.

Bonilla Jhonny, 2018

3.2. Resultados de las CCMs para la Selección de electrodos o MIC

En los datos obtenidos en forma de producción de bioelectricidad con las CCM utilizando 2 tipos de electrodos anódicos y catódicos, se muestra en la siguiente tabla los resultados, tanto para las CCM con tejidos de fibra de carbono, como para las CCM con electrodos de cobre. El monitoreo se llevó a cabo como muestra el tiempo determinado en la tabla 2-3, donde los resultados fueron otorgados favorables para el cobre como mejor producción de bioelectricidad y es el electrodo que se utiliza en posteriores ensayos de monitoreo.

Tabla 2-3: Resultados para la selección de tipo de electrodo.

RESULTADOS DE BIOELECTRICIDAD PARA LA SELECCIÓN DE ELECTRODOS EN (V)					
Cantidad	Tiempo	cobre		tejido de fibra de carbono	
		500 ppm	1000 ppm	500 ppm	1000 ppm
1	0 horas y 30 min	0.024	0.087	0.014	0.028
2	1 horas y 00 min	0.035	0.074	0.018	0.024
3	1 horas y 30 min	0.051	0.084	0.017	0.036
4	2 horas y 00 min	0.076	0.096	0.016	0.045
5	2 horas y 30 min	0.062	0.104	0.017	0.053
6	3 horas y 00 min	0.085	0.116	0.018	0.058
7	3 horas y 30 min	0.081	0.148	0.029	0.046
8	4 horas y 00 min	0.092	0.242	0.059	0.069
9	4 horas y 30 min	0.092	0.276	0.051	0.075
10	5 horas y 00 min	0.118	0.296	0.075	0.086
11	5 horas y 30 min	0.162	0.337	0.072	0.089
12	6 horas y 00 min	0.148	0.348	0.083	0.102

13	6 horas y 30 min	0.175	0.338	0.084	0.108
14	7 horas y 00 min	0.162	0.345	0.069	0.112
15	7 horas y 30 min	0.182	0.387	0.085	0.114
16	8 horas y 00 min	0.204	0.405	0.074	0.108
	sumatoria	1.749	3.683	0.781	1.153
	promedios	0.11	0.23	0.05	0.07

Realizado por: Bonilla Jhonny, 2018

En el gráfico 4-3, se ilustra de forma comparativa los datos obtenidos en este ensayo, razón por la cual se aprecia de manera redundante la mejor producción de bioelectricidad, dando como prioridad la utilización de cobre como electrodos en la valoración de sustratos para la obtención de bioelectricidad mejorando la adquisición de datos en los siguientes ensayos.

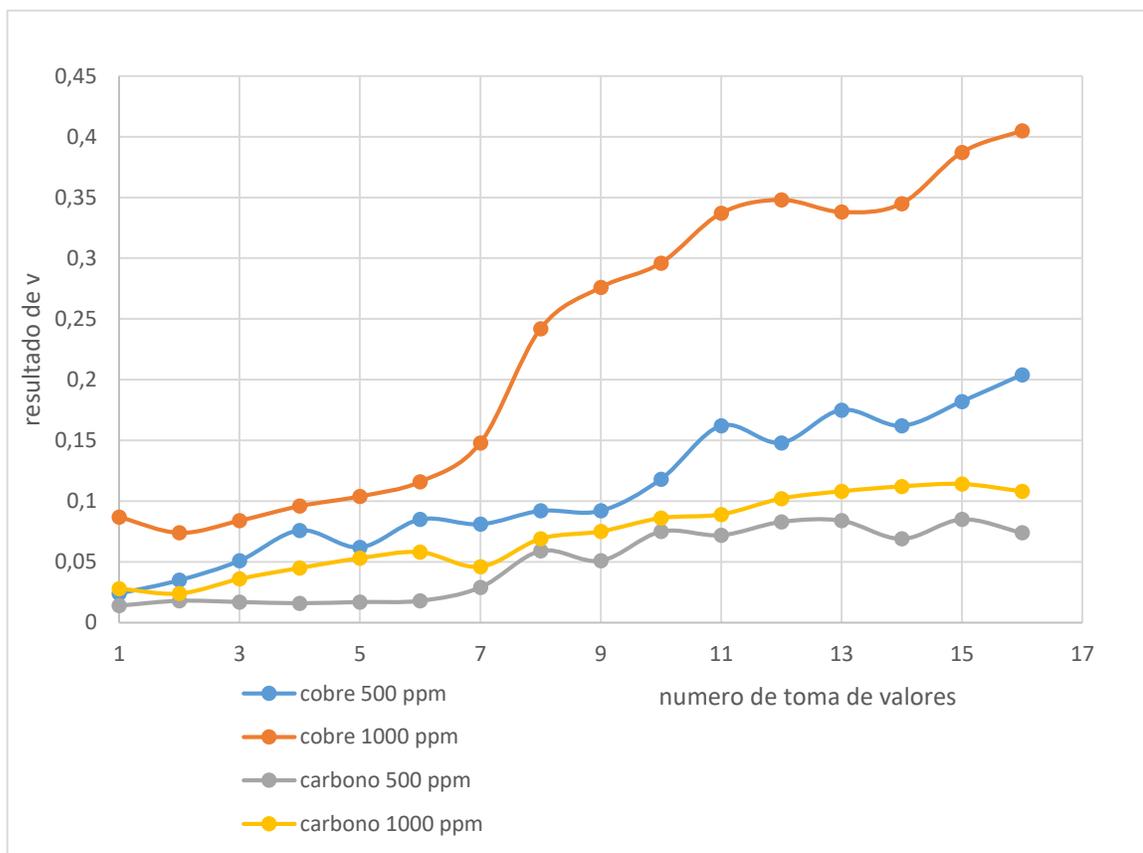


Gráfico 4-3. Resultados de bioelectricidad para la selección de electrodos en voltaje.

Bonilla Jhonny, 2018

Realizando las líneas de tendencia polinómica como se ilustra en el gráfico 5-3, se muestra la mejor producción de bioelectricidad dando como ganador en la utilización de electrodos y con el fin de

mejorar la demanda de bioelectricidad al material de cobre tanto en la cámara anódica como en la cámara catódica, así utilizar al cobre como membranas en monitoreo en base a la activación de celdas de combustible microbiano utilizando sustratos. Dedicándose al camino de obtener la celda de combustible microbiano propuesta en esta investigación.

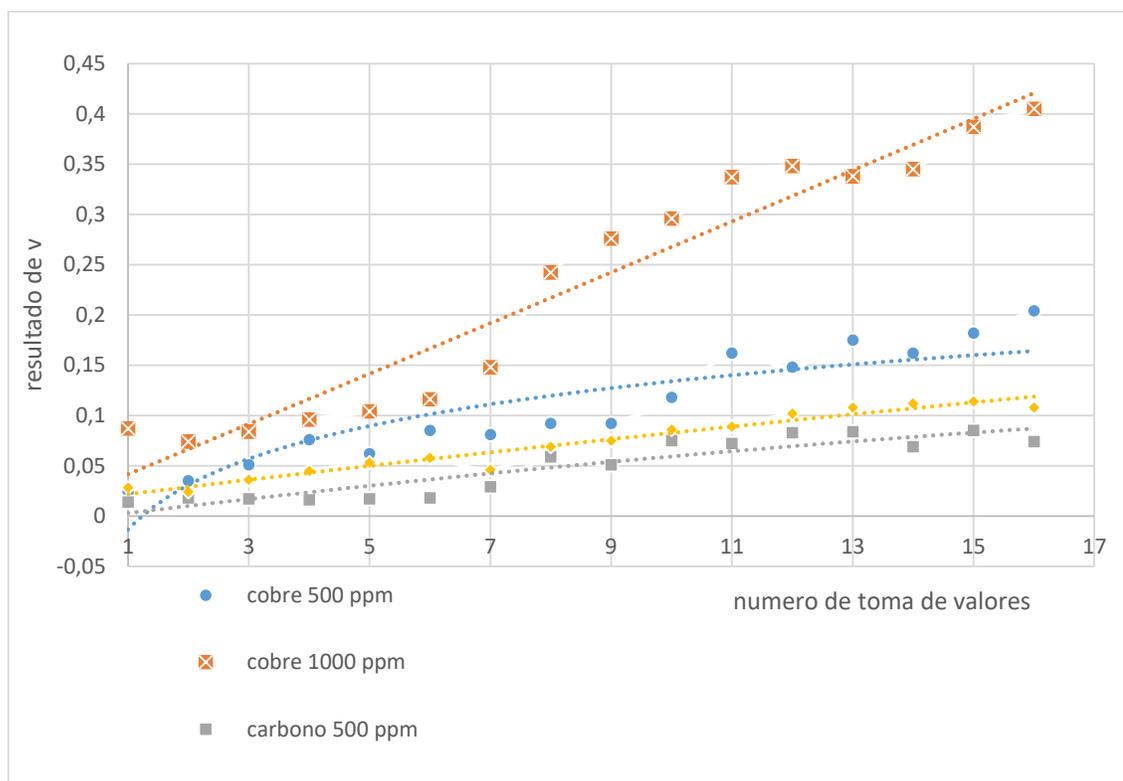


Gráfico 5-3. Tendencia polinómica para la selección de electrodos.

Bonilla Jhonny, 2018

3.3. Resultados de las CCMs para valoración de sustratos

En la tabla 3-3 se muestra los resultados obtenidos del monitoreo manual de las CCM activadas para la determinación del mejor sustrato con el propósito de proponer la mejor configuración de celda de combustible microbiano a partir de suelos de páramo y sustratos orgánicos e inorgánicos en este trabajo de investigación.

Tabla 3-3: Resultados para la valoración de sustratos utilizados.

RESULTADOS DE BIOELECTRICIDAD EN (V)				
<i>DIA</i>	<i>blanco</i>	<i>vegetales</i>	<i>nitratos</i>	<i>plomo</i>

1	0.043	0.604	0.062	0.135
2	0.074	0.615	0.085	0.095
3	0.062	0.572	0.097	0.703
4	0.104	0.518	0.142	0.406
5	0.082	0.489	0.107	0.328
6	0.083	0.481	0.127	0.321
7	0.091	0.396	0.129	0.331
8	0.107	0.381	0.116	0.341
9	0.115	0.386	0.191	0.348
10	0.111	0.334	0.204	0.354
11	0.086	0.324	0.182	0.379
12	0.074	0.297	0.157	0.346
13	0.077	0.293	0.159	0.328
14	0.082	0.275	0.168	0.319
15	0.091	0.261	0.148	0.314

sumatoria	1.282	6.226	2.074	5.048
promedio	0.09	0.42	0.14	0.34

Bonilla Jhonny, 2018

Para el gráfico 6-3, se ilustra las mejores producciones de bioelectricidad, donde está entre los sustratos de frutas y vegetales y plomo, pero con datos reales y promedios finales de determina como ganador a la producción de bioelectricidad en la CCM donde se utilizó frutas y vegetales como sustratos.

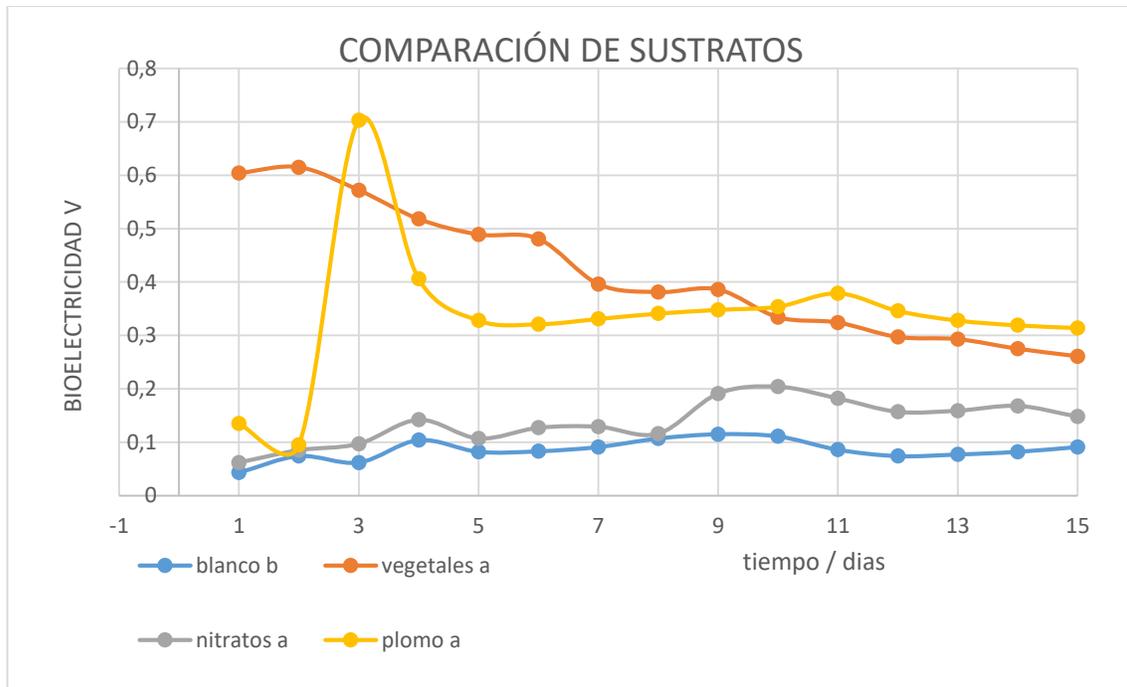


Gráfico 6-3. Resultados de datos finales para la determinación de sustrato.

Bonilla Jhonny, 2018

Determinando las líneas de tendencia polinómicas para cada resultado de sustratos, se verifica que existe una posible homogeneidad entre dos sustratos, los cuales es para plomo y para frutas y vegetales. Con datos detallados en la tabla 3-3 dando como mejor producción de bioelectricidad a los sustratos de frutas y vegetales, pero como existe esta incógnita de homogeneidad se realiza en consecuencia una prueba de comparación de medias o promedios.

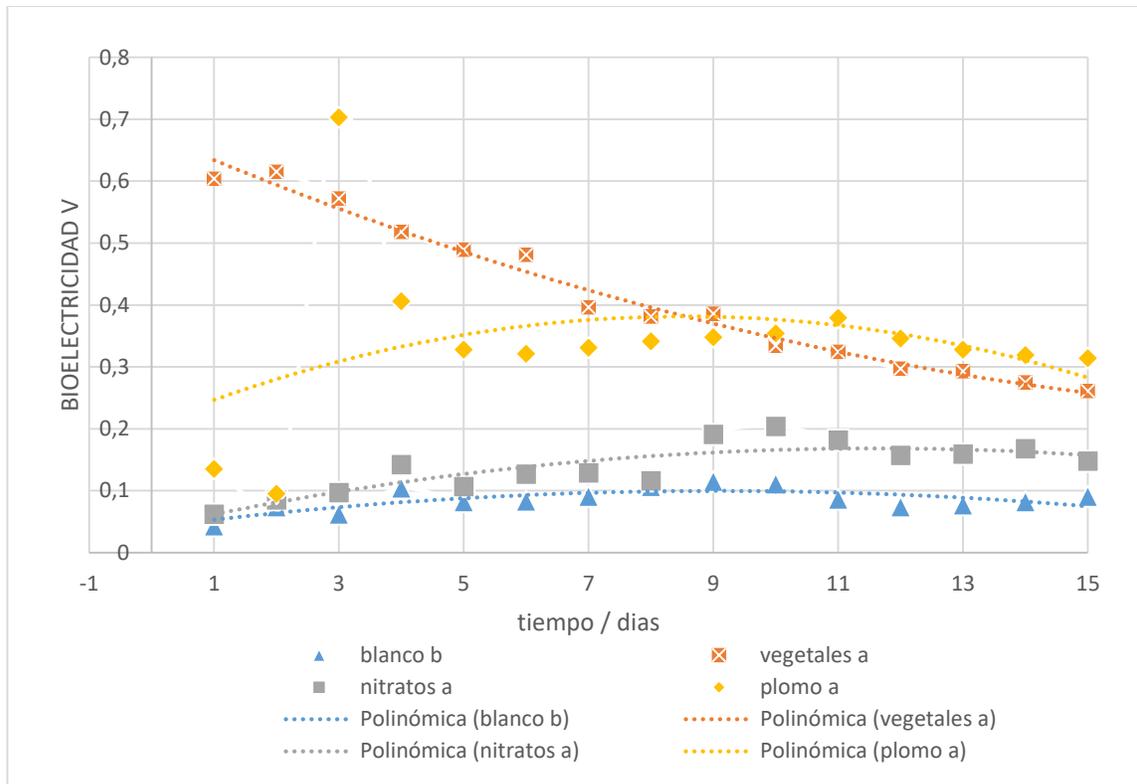


Gráfico 7-3. Líneas de tendencia polinómica finales para la determinación de sustrato.

Bonilla Jhonny, 2018

3.4. Comprobación de hipótesis

3.4.1. Resultados de la comparación de medias o promedios

PRUEBA DE NORMALIDAD

H_0 : Los datos provienen de una distribución normal

H_1 : Los datos no provienen de una distribución normal

Tabla 4-3: Datos para la obtención de p-valor.

	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Estadístico	gl	Sig.

BIOELECTRICIDAD	,105	45	,200*
-----------------	------	----	-------

Bonilla Jhonny, 2018

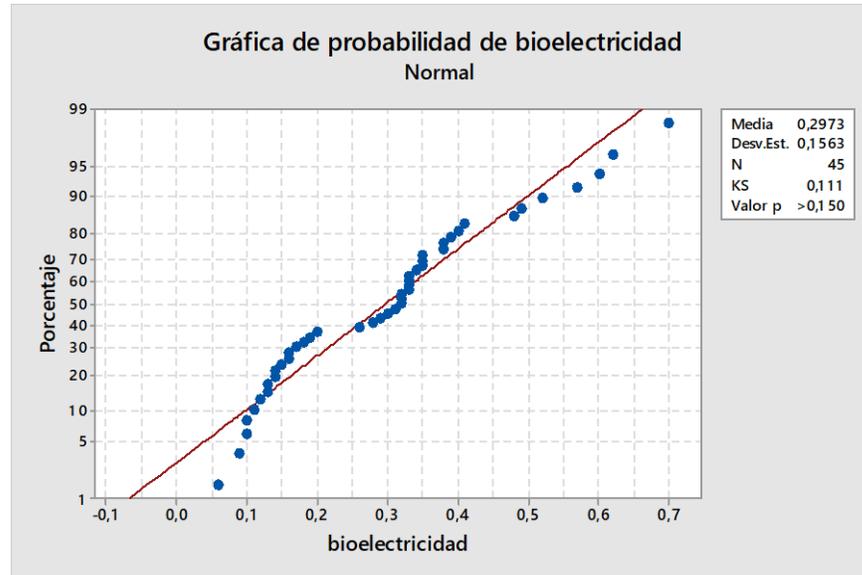


Gráfico 8-3. Probabilidad de bioelectricidad normal.

Bonilla Jhonny, 2018

La tabla anterior presenta un p-valor de 0,2 mayor a 0,05, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula. Esto nos indica que los datos provienen de una distribución anormal.

PRUEBA DE VARIANZAS HOMOGÉNEAS

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \sigma_4^2$$

H₁: Al menos una es diferente

Tabla 5-3: Homogeneidad de varianzas.

Prueba de homogeneidad de varianzas
Bioelectricidad

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,757	2	42	,032

Bonilla Jhonny, 2018

De la tabla anterior el p-valor es 0,032 menor a 0.05 lo que indica que se rechaza la hipótesis de homogeneidad de las varianzas y se concluye que las concentraciones no tienen varianzas homogéneas.

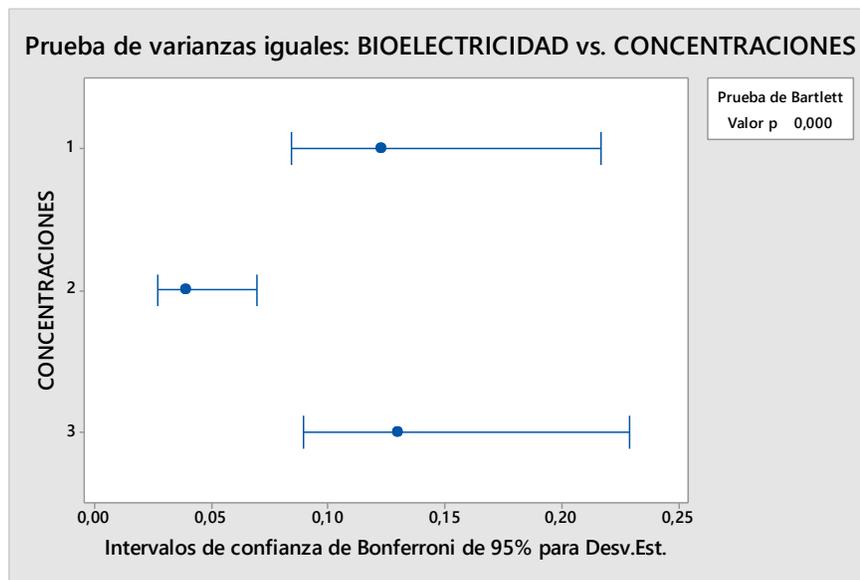


Gráfico 9-3. Prueba de varianzas para resultados de bioelectricidad respecto a la concentración.

Bonilla Jhonny, 2018

Con los análisis de los supuestos (Normalidad y homogeneidad de varianzas), se observa que no se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas, por este motivo se aplica una prueba no paramétrica para la comparación de medias.

COMPARACIÓN DE MEDIAS

PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS

Desarrollo:

Factor de Interés: Sustratos (Vegetales, Nitrato y Plomo)

Variable Respuesta: Bioelectricidad

Planteamiento de Hipótesis:

Para el presente estudio nos interesa saber si los sustratos influyen en la producción de Bioelectricidad, para ello se ha contrastado la siguiente hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j \text{ para algun } i \neq j$$

RESOLUCIÓN

Tabla 6-3: Rangos para la comparación de medias.

Rangos			
	CONCENTRACIONES	N	Rango promedio
BIOELECTRICIDAD	VEGETALES	15	32,60
	NITRATO	15	9,40
	PLOMO	15	27,00
	Total	45	

Bonilla Jhonny, 2018

Tabla 7-3: Datos estadísticos para la comparación de medias.

Estadísticos de prueba ^{a,b}	
	BIOELECTRICIDAD
Chi-cuadrado	25,490
gl	2
Sig. asintótica	,000
a. Prueba de Kruskal Wallis	

b. Variable de agrupación: CONCENTRACIONES

Bonilla Jhonny, 2018

Región de rechazo

Si $p - valor < 0,05$, se rechaza la hipótesis nula

Decisión

Obteniendo que **p-valor** es menor a 0,05, se rechaza la hipótesis nula.

Con el presente análisis se llega a la conclusión de que la comparación de sustratos utilizados en la producción de bioelectricidad difiere significativamente. Así pues, podemos afirmar que se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la utilización de sustratos, en la producción de bioelectricidad.

Tabla 8-3: Comparaciones múltiples de medias o promedios.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Bioelectricidad						
HSD Tukey						
(I) conc	(J) conc	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Vegetales	Nitrato	,27680*	,03882	,000	,1825	,3711
	Plomo	,07853	,03882	,119	-,0158	,1728
Nitrato	Vegetales	-,27680*	,03882	,000	-,3711	-,1825
	Plomo	-,19827*	,03882	,000	-,2926	-,1040
Plomo	Vegetales	-,07853	,03882	,119	-,1728	,0158
	Nitrato	,19827*	,03882	,000	,1040	,2926
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.						

Bonilla Jhonny, 2018

Subgrupos homogéneos

Tabla 9-3: Determinación de subgrupos homogéneos.

Bioelectricidad			
HSD Tukey ^a			
Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Nitrato	15	,1383	
Plomo	15		,3365
Vegetales	15		,4151
Sig.		1,000	,119
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.			

Bonilla Jhonny, 2018

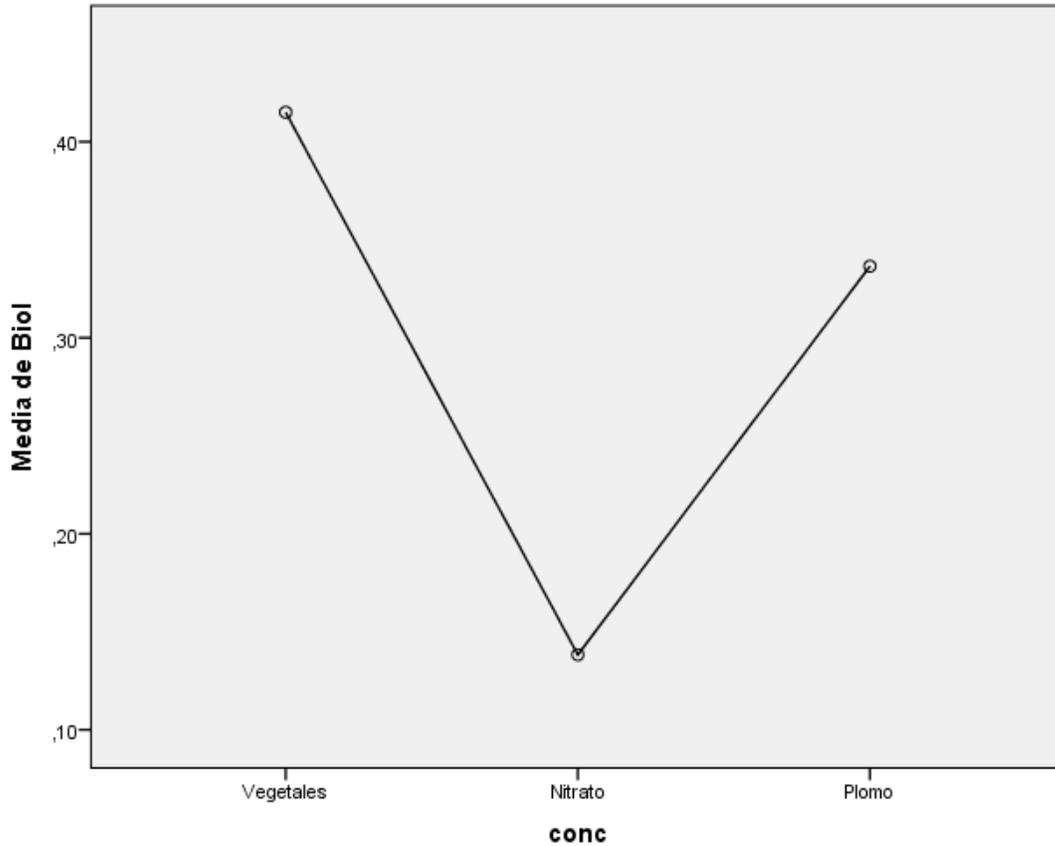


Gráfico 10-3. Producción de bioelectricidad en base a la comparación de promedios.

Bonilla Jhonny, 2018

En la tabla anterior se observa un grupo homogéneo; el grupo homogéneo se encuentra en plomo y vegetales esto nos indica que sus medias son estadísticamente iguales, observando así una diferencia de medias no significativa ya que el valor p (0,119) es mayor a 0,05.

3.4.2. Comprobación de hipótesis textual

Hipótesis textual

La utilización de 3 sustratos diferentes en las CCMs sí influye en la producción de bioelectricidad.

Hipótesis estadística

Las CCMs con sustratos producen el mismo valor que la CCM que no contiene algún sustrato.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

Al menos una CCM con sustrato diferente produce mayor bioelectricidad que una CCM sin sustrato.

Las concentraciones de sustratos utilizados en las CCMs influyen en la producción de voltaje con la obtención de resultados cuantitativos.

$$H_1: \mu_1 < \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

Donde:

μ_1 = CCM sin sustrato

μ_2 = CCM con sustrato de frutas y vegetales

μ_3 = CCM con sustrato de nitratos

μ_4 = CCM con sustrato de plomo

Variables dependientes: Generación de bioelectricidad (mV).

Variables independientes: Concentración de sustratos (ppm).

Factor de Interés: Sustratos (Vegetales, Nitrato y Plomo)

Variable Respuesta: Bioelectricidad

Resolución

La hipótesis nula menciona que todas las configuraciones de CCMs reactivadas producen la misma bioelectricidad, con sustratos y sin sustratos, es decir los niveles de producción son iguales; mientras que la hipótesis alterna nos dice que las configuraciones de CCMs con la utilización de sustratos es mayor a la restante o a la que no tiene sustrato.

De esta forma se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

3.5. Resultados de la mejor configuración de CCM propuesta en la investigación

Cuando ya se tiene una visión de la mejor celda de combustible microbiano, de acuerdo a la mayor producción de bioelectricidad, usando los materiales, equipos y sustancias como sustratos de acuerdo a los ensayos realizados anterior mente, se puede tener claro la forma de cómo va a estar formado una CCM con el fin de tener una producción constante y sobresaliente en relación a las demás CCMs que se utilizaron como proceso de selección.

Realizando la activación de la mejor CCM o la CCM propuesta en esta investigación, como dato oficial se obtiene al mejor sustrato para la producción de bioelectricidad, encaminado los resultados favorables a la utilización de frutas y vegetales, dando resultados esperados como se ilustra en la tabla10-3 produciendo los mejores resultados de bioelectricidad determinados en esta investigación, por ende los mejores resultados adquiridos se producen en base a la utilización de electrodos anódicos y catódicos utilizando el metal cobre y como sustratos las frutas y vegetales.

Tabla 10-3: Resultados de bioelectricidad para la CCM propuesta.

RESULTADOS DE BIOELECTRICIDAD EN V DE LA CCM PROPUESTA	
día	frutas y vegetales
1	0.485
2	0.526
3	0.614
4	0.497
5	0.489
6	0.456
7	0.468

sumatoria	3.535
promedio	0.51

Bonilla Jhonny, 2018

De forma gráfica se representa los resultados de los valores adquiridos mediante el método manual para la CCM planteada y definida en unidades de voltaje que concluye esta investigación con resultados favorables y contundentes en valores positivos y significativos.

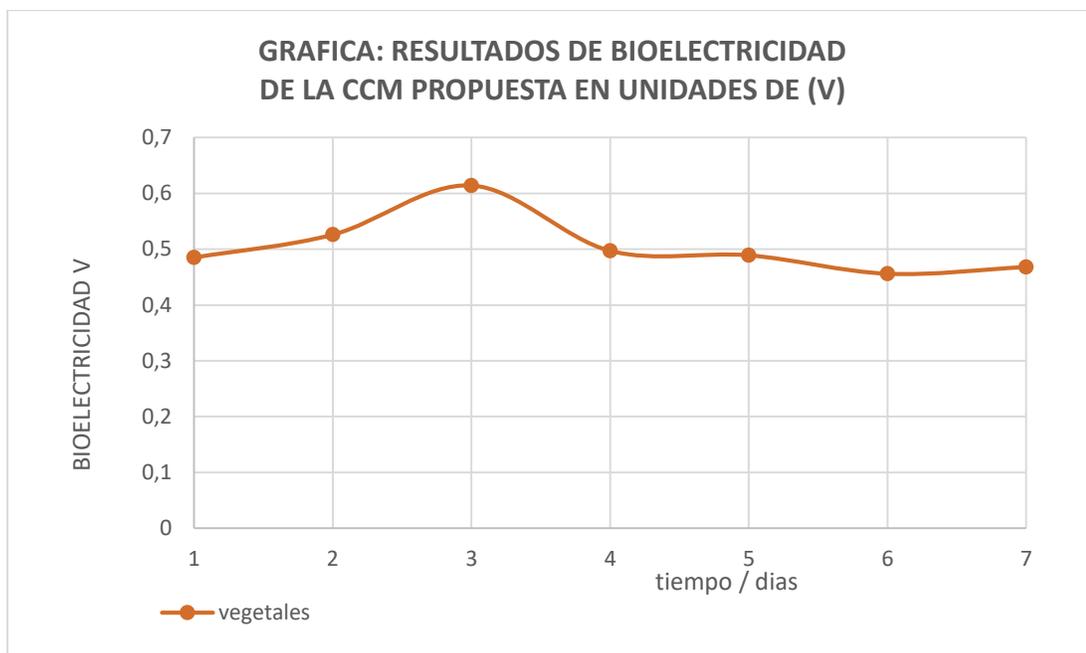


Gráfico 11-3. Resultados de bioelectricidad de la CCM propuesta.

Bonilla Jhonny, 2018

La línea de tendencia para los resultados finales de este trabajo de investigación representados en el siguiente gráfico, representa la propuesta definida por el autor pertinente. Dando como resultados óptimos y mejores que los esperados en el planteamiento de esta investigación.

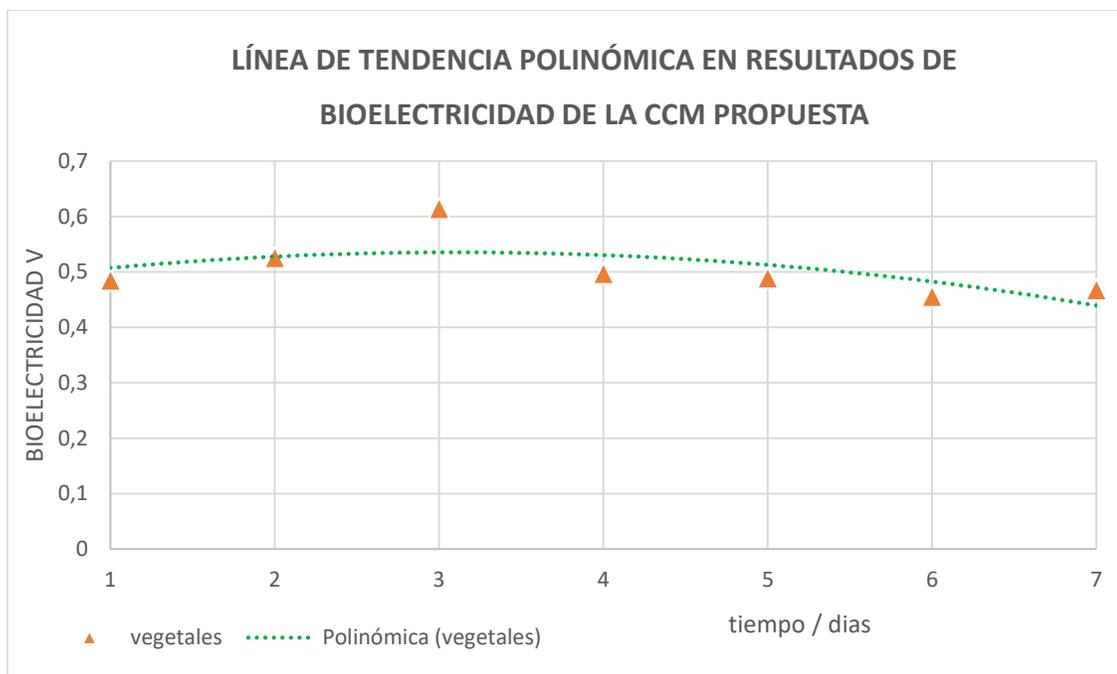


Gráfico 12-3. Línea de tendencia polinómica de bioelectricidad de la CCM propuesta.

Bonilla Jhonny, 2018

Dando como la mejor propuesta a la CCM de bacterias electrogénicas provenientes del suelo de páramo, utilizando frutas y vegetales como sustratos, con electrodos de cobre para su conductividad de electrones y con la cámara anódica de 125 centímetros cúbicos de volumen.

3.6. Discusión de resultados

Una celda de combustible microbiano es de forma sencilla una pila que emite energía eléctrica a través de un voltaje determinado, su funcionalidad hace referencia al transporte de electrones desde la cámara anódica hasta la cámara catódica, mediante una serie de microorganismos electrogénicos, y emanando agua a la atmosfera, por estas razones el estudio con estos tipos de tecnología hace que aumente con el pasar del tiempo y se produzca energía limpia y renovable. Con el uso de sustratos orgánicos e inorgánicos según los resultados obtenidos en esta investigación, resaltamos con claridad que una CCM produce mejores resultados, siempre y cuenta conste con sustratos, a comparación de una CCM que contenga ningún sustrato va hacer menor la producción de bioelectricidad,

Los resultados obtenidos para una CCM que no contiene algún tipo de sustratos, el voltaje llegó a un promedio de 0.09V, muy por debajo para las CCMs que utilizaron sustratos orgánicos e inorgánicos. Para las CCMs que se utilizó sustratos el voltaje producido se presenta en el siguiente orden, 0.14V para la CCM con nitratos como sustratos, 0.34V para CCM con plomo como sustrato y finalmente con 0.42V para la CCM con frutas y vegetales como sustratos. Estos datos son producidos en un lapso de 15 días, con una concentración de 1000 ppm para cada sustrato y determinados los promedios finales en cada una de las CCMs.

Estos resultados se obtuvieron porque en las frutas y vegetales existen azúcares, fibra y algunas otras fuentes de energía con respecto a los otros 2 sustratos. Por esta razón se considera un buen conjunto entre el suelo de paramo y el mejor sustrato, en esta investigación se generó valores mayores a los presentados por otras investigaciones en la ESPOCH, con respecto a bioelectricidad, ya que en este trabajo se utilizaron electrodos de cobre, y no como en otros trabajos que solo se utilizó tejido de fibra de carbono.

Para la utilización de los electrodos a utilizarse en esta investigación, se nominó a 2 tipos de materiales, los cuales son: el cobre metálico y grafito que viene en presentación de tejidos de fibra de carbono. Para la selección de electrodos se realizó el ensayo preliminar mediante 16 tomas de datos en un tiempo de 08 horas, arrojando los siguientes datos de forma de promedio obtenemos, 0.23V para cobre y 0.07 para tejido de fibra de carbono, ya que los resultados son claros, la configuración propuesta en esta investigación se redacta de la siguiente manera.

En base a los resultados escritos en esta discusión la mejor CCM y propuesta en este trabajo de investigación, está constituida por una CCM de configuración simple, electrodos anódico y catódico utilizando cobre metálico, empleando suelo de paramo a 4000 msnm y aprovechando el mejor sustrato estudiado que son las frutas y vegetales. Obteniéndose un flujo de datos satisfechos y contenidos en un lapso de 7 días, por lo tanto, se alcanzó un promedio de 0.51V y un máximo de 0.614V para tal CCM. En cuanto a los análisis adquiridos para el suelo de paramo utilizado se determinó valores, tales como: 7.18 para pH, 18.35°C para temperatura y 311.50 μ S como valores de conductividad, realizados en promedio para las 6 muestras provenientes de dicha altura

CONCLUSIONES

- Las celdas de combustible microbiano utilizando como sustratos vegetales, nitratos y plomo de configuración simple, contenidas en la cámara anódica el sustrato y suelo de paramo en un volumen de 125 mL, fueron reactivadas exitosamente con la finalidad de producir bioelectricidad.
- Se monitoreo el voltaje producido por las celdas de combustible microbiano, evaluando la producción de bioelectricidad, el sustrato con el que se generó una mayor cantidad de bioelectricidad es vegetales con un valor de 0.42V, luego el plomo con un valor de 0.34V y finalmente el sustrato de nitratos con un valor de 0.14V.
- La propuesta planteada en esta investigación, de mejor configuración para celdas de combustible microbiano, está comprendida, como sustratos las frutas y vegetales consumidas por los microorganismos electrogénicos del suelo de paramo de 4000 msnm y utilizando como electrodos catódico y anódico placas de cobre metálico.

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones secuenciales a este trabajo, determinando mejores sustratos de origen natural o sintético para poder obtener mejores resultados en la producción de bioelectricidad.
- Investigar los mejores microorganismos electrogénicos, con el propósito de elevar la producción de energía y proponer mejoras en las configuraciones de celdas de combustible microbiano, en cuanto al diseño, volumen y eficiencia de las mismas.
- Buscar diferentes opciones para membranas de intercambio protónico y electrónico, o comúnmente electrodos para obtener mejores resultados y descartar algún tipo de pérdida en la producción de bioelectricidad.
- Proponer mejoras en el material y diseño de ensamblaje de las celdas de combustible microbiano con el fin de utilizar materiales inertes y de menor costo en futuras configuraciones.

BIBLIOGRAFÍA

Alzate, Liliana, et.al. Evaluación del desempeño e identificación de exoelectrógenos en dos tipos de celdas de combustible microbianas con diferente configuración en el ánodo . [En línea] 03 de diciembre de 2009. [Citado el: 28 de junio de 2018.] <http://www.redalyc.org/html/339/33913146004/>.

Armas Chugcho, Patricia Abigail y Ramirez Yambombo, Geovany Gustavo. Generación de electricidad microbiana con diferentes matrices orgánicas mediante celdas de combustible . [En línea] 5 de enero de 2014. [Citado el: 27 de junio de 2018.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3648>.

Busalmen, Juan Pablo. Bacterias electrogénicas: de los sedimentos a las celdas de combustible microbiano. [En línea] 04 de 2010. [Citado el: 28 de 06 de 2018.] <http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/12626>.

Cala, Victoria y Kunimine, Yukihiko. Distribución de plomo en suelos contaminados en el entorno de una planta de reciclaje de baterías ácidas. [En línea] 06 de 2003. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/23751/22353>.

Camargo, Luis Alejandro, Arboleda, Maria Nohemi y Cardona, Edison. Producción de energía limpia en Colombia, la base para una crecimiento sostenible. [En línea] [Citado el: 27 de junio de 2018.] http://www.xm.com.co/BoletinXM/Documents/MDLColombia_Feb2013.pdf.

Campuzano, S. Presente y futuro de los biosensores microbianos electroquímicos . [En línea] 30 de 06 de 2011. [Citado el: 2018 de 09 de 28.] <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3794107.pdf>.

Caranqui, Jorge, et.al. Diversidad y similitud de los páramos de la Provincia de Chimborazo en Ecuador. [En línea] [Citado el: 11 de 07 de 2018.] http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3855/1/ParamoChimborazo_Caranqui.pdf.

Corredor Rojas, Laura Milena. Pilas de combustible y su desarrollo . [En línea] 23 de septiembre de 2011. [Citado el: 28 de junio de 2018.] http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-21262012000100014.

Cunalata Rugel, Cristian Geovanny y Inca Córdor, Carlos Patricio. Cuantificación de carbono total almacenado en suelos de páramo en las comunidades Shobol - Chimborazo, San Juan Chimborazo . [En línea] 2012. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2012/1/236T0065.pdf>.

De León Samayoa, Limber Natanael. Tratamiento de agua residual Municipal en una Celda de Combustible Microbiano con compósitos de poliuretano, grafito y polipirrol. [En línea] 11 de 2016. [Citado el: 11 de 07 de 2018.] <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/8443/64386%20LE%C3%93N%20SAMAYOA%20DE,%20LIMBER%20NATANAEL.pdf?sequence=1>.

Echeverría, Magdy, Calderón , Cristina y Guambo, Alex. *Biosorption process of heavy metals and bioelectricity generation through microbial fuel cells*. Riobamba : centro de investigación de energías alternativas y ambiente ESPOCH, 2016.

El Comercio. Planeta El Comercio. [En línea] 2016. [Citado el: 2018 de junio de 2018.] <http://especiales.elcomercio.com/planeta-ideas/planeta/28-febrero-2016/Electricidad-Microorganismos-Investigacion-Ciencia-bacterias>.

Eróstegui Revilla, Carlos Pedro. Contaminación por metales pesados . [En línea] 2009. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] http://www.scielo.org.bo/pdf/rccm/v12n1/v12n1_a13.pdf.

Flores Ramírez, Rogelio, et.al. Exposición infantil al plomo en sitios contaminados . [En línea] 08 de 2012. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0036-36342012000400008&script=sci_arttext&tlng=en.

González Chávez, M C, et.al. Selección de sustratos de crecimiento en microplantulas de cítricos inoculadas con *glomus* sp. *Zac* - 19. [En línea] marzo de 2001. [Citado el: 28 de junio de 2018.] <http://www.redalyc.org/html/573/57318411/>.

Guambo Galarza, Alex Fernando y Allauca Caisaguano, Gabriela Elizabeth. Estudio de la influencia de la demanda bioquímica de oxígeno de aguas residuales en la producción de bioelectricidad de una celda de combustible microbiano. [En línea] 8 de octubre de 2015. [Citado el: 27 de junio de 2018.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4075>.

Hernández Gómez, Guillermo Andrés y Sánchez Olvera, Manuel Alejandro. la plirifuncionalidad de las bacterias electrogénicas . [En línea] 27 de 03 de 2017. [Citado el: 26 de 06 de 2018.] <http://www.uaslp.mx/Comunicacion-Social/Documents/Divulgacion/Revista/Catorce/211/01.pdf>.

Infosalus. RoC desarrolla "Sublime Energy", un producto innovador que usa la bioelectricidad contra el envejecimiento. [En línea] 10 de 09 de 2010. [Citado el: 28 de 06 de 2018.] <http://www.infosalus.com/farmacia/noticia-empresas-roc-desarrolla-sublime-energy-producto-innovador-usa-bioelectricidad-contra-envejecimiento-20100910133053.html>.

Logan , Bruce E. y Regan , John M. Electricity - producing bacterial communities in microbial fuel cells. [En línea] 12 de 2006. [Citado el: 11 de 07 de 2018.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X06002460>.

Logan, B.E. *Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells*. 2009.

Logroño, Washington Nelson. Producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustratos, para dos casos de estudio: Andes-Amazonia, Ecuador. [En línea] 21 de 02 de 2014. [Citado el: 27 de 06 de 2018.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3156/1/236T0085.pdf>.

Lolmede, et.al. Tratamiento de agua residual con elevado contenido de nitratos utilizando reactores biomembrana aireados. [En línea] 3 de 09 de 2000. [Citado el: 02 de 07 de 2018.] <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/2843/73article3.pdf>.

Microsoft. elegir la mejor línea de tendencia para los datos . [En línea] 2007. [Citado el: 16 de 08 de 2018.] <https://support.office.com/es-es/article/elegir-la-mejor-l%C3%ADnea-de-tendencia-para-los-datos-1bb3c9e7-0280-45b5-9ab0-d0c93161daa8>.

Montaña , Hurtado, Sánchez , Mata y Esparza Torija, Isasa. Nutrición y salud, frutas y verduras fuentes de salud . [En línea] 2008. [Citado el: 29 de 06 de 2018.] <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadern>

ame1=Content-
Disposition&blobheadvalue1=filename%3DT034.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blo
bwhere=1352883450648&ssbinary=true.

Palomares, Antonio E. Instituto de Tecnología Química (UPV-C SIC). [En línea] 2013. [Citado el: 01 de 07 de 2018.] <https://www.esferadelagua.es/agua-y-tecnologia/contaminacion-del-agua-por-nitratos-y-tecnicas-para-su-tratamiento>.

Paña, Silvia Alexandra. Identificación y aprovechamiento de la cepa *Pseudomona spp* en una celda de combustible microbiano para la producción de bioelectricidad a desarrollarse en el centro de energías alternativas (ESPOCH). [En línea] 08 de 2017. [Citado el: 06 de 28 de 2018.] <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/7870/1/236T0296.pdf>.

Pardo, Pablo. Molinos de viento sin aspas. [En línea] 16 de junio de 2015. [Citado el: 27 de junio de 2018.] <http://www.elmundo.es/ciencia/2015/06/16/557f178322601d2e518b45a5.html>.

Prieto Méndez, Judith, et.al. Contaminación y fototoxicidad en plantas por metales pesados provenientes del suelo y agua. [En línea] 10 de 2009. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] <http://www.redalyc.org/html/939/93911243003/>.

Revelo, Dolly M., Hurtado, Nelson H. y Ruiz, Jaime O.. Scielo . [En línea] 2013. [Citado el: 25 de Junio de 2018.] https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000600004.

Rodríguez Rodríguez, Abad, et.al. Aislamiento de cepas bacterianas oxidantes de amonio y nitrito del suelo y su uso potencial en la reducción de nitrógeno en la aguas residuales domésticas . [En línea] 12 de 2017. [Citado el: 02 de 07 de 2018.] http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442017000401527&lang=pt.

Rosales Colunga, L M. Prospección de inóculos para la generación de electricidad en una celda de combustible microbiano a partir de suero de leche . [En línea] noviembre de 2016. [Citado el: 28 de junio de 2018.] <http://congresos.uaslp.mx/cnaaa/SiteAssets/Paginas/Libro/LIBRO%20ELECTR%C3%93NICO%20Agroindustrias,%20Automatizaci%C3%B3n%20y%20Agronegocios%202016%20UASLP.pdf#page=98>.

Saavedra Salas , Igor Marcos. Diseño de una celda de combustible microbiológica con uso de baterías oxidantes de Azufre y Hierro. [En línea] 03 de 2012. [Citado el: 11 de 07 de 2018.] http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2012/cf-saavedra_is/pdfAmont/cf-saavedra_is.pdf.

Sacco, Natalia, Bonetto, Maria y Cortón , Eduardo. *Generación de electricidad en una celda de combustible microbiana mediada utilizando Micro-ánodos descartables*. Buenos Aires : UBA, Ciudad Universitaria .

Sanin, Luz Helena , et.al. Acumulación de plomo en huesos y sus efectos en la salud . [En línea] 27 de 04 de 1998. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S0036-36341998000400009&script=sci_arttext&tlng=pt.

Sepúlveda Asprilla, Niza Inés. Redalyc. [En línea] 21 de 02 de 2015. [Citado el: 29 de 06 de 2018.] <http://www.redalyc.org/html/2631/263139243062/>.

Tapia Cabrera, Fanny Marlene y Pacheco Serrano, Christian Geovanny. Efectos de las plantaciones de Pino (*Pinus Patula*) en las propiedades hidrofísicas de los horizontes Ándicos de los suelos de páramo en dos zonas de la cuenca alta del río Paute . [En línea] 2015. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23241/3/Tesis.pdf>.

Valdivieso Valdivieso, Lucely Nataly. DSpace. [En línea] 10 de 2017. [Citado el: 29 de 06 de 2018.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/7866>.

Villaseca del Pozo, Laura. Síntesis de perovskitas basadas en la (1-x-y) $Sr_{1-x}Mn_3$ y nitruros del sistema W2N para su aplicación como electrodos en pilas de combustible de intercambio protónico de alta temperatura. *Univerdidad autonoma de Madrid* . Madrid : Univerdidad autonoma de Madrid , 2012, pág. 2.

Vullo, Diana L. Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente . [En línea] 12 de 11 de 2003. [Citado el: 10 de 07 de 2018.] <http://www.redalyc.org/html/863/86320303/>.

