



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD MICROBIANA UTILIZANDO RESIDUOS
ORGÁNICOS COMO SUSTRATO, PARA DOS CASOS DE ESTUDIO: ANDES-
AMAZONIA, ECUADOR.”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA
AMBIENTAL**

PRESENTADO POR

WASHINGTON NELSON LOGROÑO VINTIMILLA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A mis hermanos por el apoyo indispensable para cumplir este objetivo.

A mis padres por luchar en mi bienestar, brindando comprensión, paciencia y toda su confianza en mí persona.

A los distinguidos docentes de la Facultad de Ciencias por haber compartido sus sabios conocimientos y experiencia durante mi formación.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

A la Dra. Magdy Echeverría por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente tesis.

Al Dr. Celso Recalde, colaborador implacable de la Tesis por el gran aporte brindado en la elaboración del trabajo.

Al Blgo. Pietro Graziani y el Dr. Stefano Mocali por su apertura y colaboración a través de ACRA para la realización del presente trabajo de investigación.

A la Ing. Maritza Yáñez, por su amistad, amplia colaboración y transmisión de conocimiento en el campo Microbiológico.

A la Ing. Rosita Castro por facilitar la utilización de las instalaciones de la Facultad de Recursos Naturales-ESPOCH para la realización de esta investigación.

A la Dra. Jenny Moreno por abrir las puertas del Laboratorio de Biotecnología-Facultad de Ciencias que muy acertadamente dirige.

A la Ing. Isabel Escudero por su valiosa colaboración en análisis estadístico.

Al Sr. Alex Guambo y Geovany Ramírez amigos, compañeros y colaboradores, incondicionales desde el inicio hasta el fin de esta investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD MICROBIANA UTILIZANDO RESIDUOS ORGÁNICOS COMO SUSTRATO, PARA DOS CASOS DE ESTUDIO: ANDES- AMAZONIA, ECUADOR.”**, de responsabilidad del señor egresado Washington Nelson Logroño Vintimilla ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Alvarez _____
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

Dra. Nancy Velóz _____
DIRECTORA DE ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Dra. Magdy Echeverría _____
DIRECTORA DE TESIS

Dr. Celso Recalde _____
MIEMBRO DE TRIBUNAL

DIRECTOR DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA

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

WASHINGTON NELSON LOGROÑO VINTIMILLA

INDICE DE ABREVIATURAS

MFC	Microbial Fuel Cell
H ₂ O	Agua
mV	Mili voltios
UFC	Unidad formadora de colonias
° C	Grados Centígrados
g	Gramos
C ₆ H ₁₂ O ₆	Glucosa
pH	Potencial de Hidrogeno
%M.O	Porcentaje de materia Orgánica
μS	Conductividad eléctrica
NH ₄	Nitrógeno Amoniacal
P	Fosforo
K	Potasio
CaO	Oxido de Calcio
MgO	Oxido de Magnesio
C/N	Relación Carbono - Nitrógeno

% H	Porcentaje de Humedad
ATP	Adenosin Trifostato
MIP	Membrana de intercambio de protones
MDP	Membrana de difusión de protones
VPP	Velocidad de producción de protones
TP	Transporte de protones
DP	Difusión de protones
CA	Cámara anódica
CC	Cámara catódica
MNC	Muy numeroso de contar
NC	No hay crecimiento
CAM	Caso de estudio Amazonía
CAN	Caso de estudio Andes
ENR	Energía no renovable
ER	Energía renovable
AR	Aguas residuales
Cm	Centímetros
M	Metros

m ²	Metros cuadrados
m ³	Metros cúbicos
V1M	Volumen 1 (Grande)- Macas
V2M	Volumen 2 (Mediano)- Macas
V3M	Volumen 3 (Pequeño)- Macas
V1R	Volumen 1 (Grande)- Riobamba
V2R	Volumen 2 (Mediano)- Riobamba
V3R	Volumen 3 (Pequeño)- Riobamba
M.O	Materia Orgánica

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	i
SUMARY.....	ii
INTRODUCCIÓN	iii
JUSTIFICACIÓN	iv
OBJETIVOS	v
GENERAL.....	v
ESPECÍFICOS.....	v
CAPITULO I.....	1
1 MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Microbiología bacteriana	1
1.1.1 Bioenergética microbiana.....	1
1.1.2 Factores de crecimiento microbiano	2
1.1.3 Curva de crecimiento microbiano	3
1.1.4 Influencia del factor ambiental en el crecimiento	3
1.1.5 Tipos nutricionales de los microorganismos	4
1.2 Celdas de Combustible Microbiano (MFC).....	6
1.2.1 Estructura básica de una MFC	7
1.2.2 Funcionamiento de una MFC.....	10
1.2.3 Mecanismos de transferencia de electrones en MFCs.....	10
1.2.4 Aplicaciones de las MFC	11
1.3 Residuos sólidos orgánicos y su aprovechamiento en sistemas MFC.....	11
1.4 Marco legal	11
CAPITULO II	12
2 PARTE EXPERIMENTAL	12
2.1 LUGAR DE ESTUDIO.....	12
2.2 METODOLOGÍA	13
2.2.1 MÉTODOS Y TÉCNICAS	13
2.3 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	28

2.3.1	MATERIALES	28
2.4	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	30
2.4.1	DISEÑO EXPERIMENTAL	30
2.4.2	PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS.....	36
CAPITULO III.....		37
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
3.1	CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL SUELO, INICIAL CASOS DE ESTUDIO MACAS-RIOBAMBA.....	37
3.2	ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS.....	38
3.2.1	RECuento INICIAL DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN MACAS Y RIOBAMBA	38
3.2.2	RECuento FINAL DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN MACAS Y RIOBAMBA	39
3.2.3	RESUMEN MICROBIOLÓGICO.....	44
3.3	BIOELECTRICIDAD PRODUCIDA EN SISTEMAS MFCs PARA EL CAM Y EL CAN 46	
3.3.1	MACAS	48
3.3.2	RIOBAMBA	54
3.4	COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	61
CAPITULO IV.....		62
CONCLUSIONES		62
RECOMENDACIONES.....		64
CAPITULO V		65
BIBLIOGRAFÍA		65
ANEXOS		86
ANEXO 1. FORMULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE ENZIMAS		87
ANEXO 2. SIEMBRA EN MEDIO SOLIDO		89
ANEXO 3. PROCEDIMIENTO FOTOGRAFIADO		90
ANEXO 4. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO INICIAL MACAS		95
ANEXO 5. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO INICIAL RIOBAMBA		96
ANEXO 6. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-M.....		97
ANEXO 7. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-M.....		102
ANEXO 8. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-M.....		107

ANEXO 9. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-R.....	112
ANEXO 10. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-R.....	117
ANEXO 11. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-R.....	122

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Diseño experimental global.....	30
Cuadro 2. Factores controlables.....	31
Cuadro 3. Diseño experimental 3*3*2 a utilizar.....	32
Cuadro 4. Diseño experimental 3*2.....	34
Cuadro 6. Caracterización Físico Químico inicial casos de estudio Macas-Riobamba	37
Cuadro 9. Recuento Inicial de comunidades bacterianas en Macas y Riobamba	38
Cuadro 11. Recuento final de comunidades bacterianas en Macas.....	40
Cuadro 12. Recuento final de comunidades bacterianas Riobamba	42
Cuadro 13. Resumen Microbiológico	44
Cuadro 14. Factores inter-sujetos.....	47
Cuadro 15. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos	47
Cuadro 16. DHS de Tukey.....	47
Cuadro 17. Coeficiente de correlación.....	48
Cuadro 18. Resumen estadístico	48
Cuadro 19. Coeficiente de correlación.....	49
Cuadro 20. Resumen estadístico	50
Cuadro 21. Coeficiente de correlación.....	51
Cuadro 22. Resumen estadístico	51
Cuadro 23. Factores inter-sujetos.....	52
Cuadro 24. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos	53
Cuadro 25. DHS de Tukey.....	53
Cuadro 26. DHS de Tukey.....	53
Cuadro 27. Coeficiente de correlación.....	54
Cuadro 28. Resumen estadístico	55
Cuadro 29. Coeficiente de correlación.....	56
Cuadro 30. Resumen estadístico	56
Cuadro 31. Coeficiente de correlación.....	58
Cuadro 32. Resumen estadístico	58
Cuadro 33. Factores inter-sujetos.....	59
Cuadro 34. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos	60
Cuadro 35. DHS de Tukey.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Categorización de microorganismos a respuestas de factores ambientales.	3
Tabla 2. Tipos de Microorganismos de acuerdo a su recurso de carbono, energético y de electrones	5
Tabla 3. Principales tipos nutricionales de microorganismos	5
Tabla 4. Cantidad total de suelo requerido para la instalación de las MFC	16
Tabla 5. Cantidad total de materia orgánica por cada tratamiento	18
Tabla 6. Volumen experimental por cada tratamiento	19
Tabla 7. Métodos usados por el laboratorio del DEPARTAMENTO DE SUELOS-FACULTAD DE RECURSOS NATURALES-ESPOCH para el análisis de suelo.....	25
Tabla 8. Materiales experimentales.....	28
Tabla 9. Materiales de laboratorio	29

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Esquema de celda de combustible microbiana (MFC) tipo H.	8
Ilustración 2. Esquema de una doble cámara MFC con posibles modos de transferencias de electrones.	10
Ilustración 3. Técnica de diluciones a partir de una muestra de suelo	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análisis de bioelectricidad tratamiento V1M	48
Gráfico 2. Análisis de bioelectricidad tratamiento V2M	49
Gráfico 3. Análisis de bioelectricidad tratamiento V3M	50
Gráfico 4. Análisis de bioelectricidad tratamiento V1R	54
Gráfico 5. Análisis de bioelectricidad tratamiento V2R	55
Gráfico 6. Análisis de bioelectricidad tratamiento V3R	57

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Páramo de Pichan Central	14
Fotografía 2. Comunidad Achuar Kaiptach	14
Fotografía 3. Lugar de estudio- Andes.....	16
Fotografía 4. Muestreo de Suelo	16
Fotografía 5. Muestra para análisis Físico, Químico y Microbiológico.....	16
Fotografía 6. Muestreo de fruta.....	18
Fotografía 7. Muestreo de vegetales	18
Fotografía 8. Homogenización de la muestra de suelo	20
Fotografía 9. Trituración de M.O.	20
Fotografía 10. Instalación para V1.....	21
Fotografía 11. Instalación para V2.....	22
Fotografía 12. Instalación para V3.....	23
Fotografía 13. Recolección de Muestras para el análisis microbiológico final.....	90
Fotografía 11. Esterilización de cámara de flujo laminar	90
Fotografía 12. Colocación de medios de cultivo esterilizados en placas Petri.....	90
Fotografía 13. Preparación de la muestra para el análisis microbiológico.....	91
Fotografía 14. Preparación de la muestras en agua peptonada estéril 0,1%	91
Fotografía 15. Rotulación de tubos de diluciones para cada replica y tratamiento de las MFCs	91
Fotografía 16. Método de diluciones seriadas para réplica de las MFCs.....	92
Fotografía 17. Inoculación por el método de siembra en superficie	92
Fotografía 18. Inoculación de Placas Petri a 28°C.....	93
Fotografía 19. Recuento de bacterias en los diferentes medios utilizados tanto en el CAM como el CAN	93
Fotografía 20. Recuento de microorganismos para V1-A, V1B y V1C.....	93
Fotografía 21. Recuento de microorganismos para V2-A, V2-B y V2-C.....	94
Fotografía 22. Recuento de microorganismos para V3-A, V3-B y V3-C.....	94

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. FORMULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE ENZIMAS	87
ANEXO 2. SIEMBRA EN MEDIO SOLIDO	89
ANEXO 3. PROCEDIMIENTO FOTOGRAFIADO	90
ANEXO 4. ANÁLISIS FÍSICO QUIMICO INICIAL MACAS	95
ANEXO 5. ANÁLISIS FÍSICO QUIMICO INICIAL RIOBAMBA	96
ANEXO 6. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-M.....	97
ANEXO 7. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-M.....	102
ANEXO 8. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-M.....	107
ANEXO 9. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-R.....	112
ANEXO 10. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-R.....	¡Error! Marcador no definido.17
ANEXO 11. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-R.....	¡Error! Marcador no definido.22

RESUMEN

La presente investigación comparó la producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, relación 50:50 de frutas y verduras, con suelos de la Comunidad Achuar Kaipatch-AMAZONIA, y la Comunidad de Pichan Central-ANDES. Para caso de estudio Amazonia (CAM) se experimentó en las instalaciones de la Fundación Chanquak-Macas; para Andes en la Facultad de Recursos Naturales-ESPOCH. La investigación se sustenta bajo el método de investigación deductivo. Se muestreo suelo en los ANDES: 763143E, 9833826N y en la AMAZONIA: 263787E, 9708162N a una profundidad entre 20-40cm. El análisis Físico químico del suelo inicial fue realizado según la metodología OLSEN dentro del Departamento de suelos-Facultad de Recursos Naturales; el análisis microbiológico empleó el método: diluciones, técnicas: siembra por vertido en placa y siembra en superficie, utilizando medios enriquecidos con glucosa, almidón, leche, agua destilada (Al final del experimento) y PCA (Al inicio y al final del experimento) en cada lugar, tamaño y repetición de MFC, Dentro del laboratorio de Biotecnología Ambiental-Facultad Ciencias-ESPOCH. La configuración de los reactores MFC de cada tratamiento utilizó tachos de polietileno a diferentes tamaños (V1=20L, V2=12L; V3=4L) donde las Celdas de Combustible Microbiano (MFCs) tuvieron volúmenes experimentales: $V1=0,06355m^3$; $V2=0,04335m^3$; $V3=0,02356m^3$ y electrodos de fibra de carbono con área superficial: V1 y V2=0,30m*0,25m; V3=0,20m*0,18m, lagartos de conexión y cable de cobre para fijar el circuito externo y multímetros. El análisis microbiológico se empleó equipos como: autoclave, cámara de flujo laminar.

El análisis Físico Químico inicial realizado mostró similitud en parámetros como pH, porcentaje de Materia Orgánica (%M.O), conductividad eléctrica (C.E.), NH_4 y diferencias en P, K, CaO, MgO, Rel.C/N, %H. En el recuento de heterótrofos inicial, la AMAZONIA: $7*10^7$ Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo (UFC/g) y ANDES: $12*10^6$ UFC/g indicando mayor cantidad pero menor diversidad microbiológica. La prueba de Tukey mostro en el Caso de estudio Andes (CAN), que no existe diferencias significativas entre repeticiones de cada tamaño, sin embargo existe diferencias significativas entre tamaños, indicando como mejor tratamiento al Mediano, con 316,5659mV. El CAM mostro diferencias significativas entre repeticiones de cada tamaño, sin embargo como mejor tratamiento al Pequeño, con 270,0925mV. Para las condiciones ambientales de Andes y la Amazonia se sugiere utilizar una MFC Mediana y Pequeña respectivamente, de acuerdo a la escala manejada en este estudio. Concluyendo que fue factible producir bioelectricidad utilizando residuos sólidos orgánicos como combustible microbiano en sistemas MFC en ambos casos de estudio. Se recomienda realizar nuevas experimentaciones con sistemas MFC, y analizar suelos alto andino para ampliar el conocimiento microbiológico para potenciar sus posibles aplicaciones.

SUMMARY

The present research work compared the production of microbial bioelectricity using organic wastes such as substrate, in a 50:50 relationship of fruit and vegetables, with soils of the Achuar Kaipach-AMAZONIA Community, and Pichan Central-ANDES community.

For Amazonia study case (AMC) it was experimented in the facilities of the Chanquak Macas Foundation; for Andes in the faculty of Natural Resources at ESPOCH. The research work is supported upon the deductive investigation method. Some soil at los ANDES was sampled: 763143E, 9833826N and in AMAZONIA: 263787E, 9708162N at a depth between 20-40cm. The Physical chemical analysis of the former soil was carried out according to the OLSEN methodology in the Soil department – Natural Resources Faculty; the microbiological analysis used the method: dilutions, techniques: pour plate planting and surface planting, using means enriched with glucose, yeast, milk, distilled water (At the end of the experiment) and PCA (At the beginning and at the end of the experiment) in each place, size and repetition of MFC, in the laboratory of Environmental Biotechnology Science-Faculty-ESPOCH. The setting of the MFC reactors on each treatment used polythene containers in different sizes (V1=20L, V2=12L; V3= 4L) where the Microbial Fuel Cells (MFCs) had experimental volumes: V1=0,06355m³; V2=0,04335m³; V3=0,02356m³ and carbon fiber electrodes with superficial area: V1 and V2=0,30m*0,25m; V3=0,20m*0,18m, fork plugs and copper wire to set the external circuit and multimeters. The microbiological analysis used equipment such as: autoclave, laminar flow chamber.

The initial Physical Chemical analysis developed, showed similarities in parameters such as pH, Organic Material percentage (%O.M) electric conductivity (E.C), NH₄ and differences in P,K, CaO, MgO, Rel. C/N, %H. In the stock of initial heterotrophes, AMAZONIA: 7*10⁷ Colony Forming Units per gram of soil (CFU/g) and ANDES: 12*10⁶UFC/g, demonstrating higher amount but less microbiological diversity. The Tukey test showed in Andes case study (ANC), that there are not significant differences among repetitions of each size, however there are significant differences among sizes, determining as a better treatment to the Medium, with 316,5659 mV. The AMC showed significant differences among repetitions of each size, however as better treatment the Small one, with 270,0925mV. For the environmental conditions of Andes and Amazonia, it is recommended to use a Medium and Small MFC respectively, according to the scale managed in this study. It is concluded that it is feasible to produce bioelectricity by using organic solid residuals as microbial fuel in MFC systems in both case studies. It is recommendable to perform new experiments with MFC systems, and analyze soils of the highlands in order to expand the microbiological knowledge to boost their possible applications.

INTRODUCCIÓN

Actualmente tenemos problemas ambientales severos que requieren la búsqueda de nuevas alternativas en términos de energía renovable y tratamiento de residuales por el incremento de la generación de residuos sólidos orgánicos, aguas residuales urbanas e industriales. Como se describe en el Capítulo I los microorganismos pueden metabolizar la materia orgánica para producir bioelectricidad a través de la tecnología Microbial Fuel Cell (MFC) entre una de sus aplicaciones. En la parte Metodológica se cita los posibles sustratos (combustible microbiano) con los que se ha investigado. La fuente de elementos tales como C, N, P y S, son vitales para el crecimiento microbiano, que en sistemas MFC es el combustible microbiano el encargado en brindar estos requerimientos. Para suplir dicha necesidad en esta investigación se ha reutilizado residuos sólidos orgánicos (*Musa acuminata*, *Citrus sinensis*, *malus communis*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Cucurbita maxima*) sin esterilizar, como combustible microbiano para obtener energía limpia.

EL tipo de inóculo es un factor estudio en las MFCs y la fuente de microorganismos electrogénicos puede variar como se describe en el Capítulo II. Por esta razón analizaremos un suelo de humedales alto andinos-ANDES y un suelo tropical-AMAZONÍA ambos con características ambientales diferentes en los que hemos descrito las características físicas, químicas y microbiológicas iniciales para establecer un primer indicador en términos de ecología microbiana en el Ecuador. El diseño de las MFC es un factor de estudio importante que puede afectar al rendimiento del sistema para producir bioelectricidad por esta razón hemos investigado la influencia del tamaño de las MFCs tanto para ANDES como para la AMAZONIA a tres volúmenes diferentes 20 L, 12 L y 4 L respectivamente, con tres réplicas cada tamaño, evaluando el comportamiento de la producción de bioelectricidad de los microorganismos electrogénicos en cada ecosistema. Se ha determinado el tamaño más eficiente para cada ecosistema y por el valor medio se conoció el suelo más eficiente para producir bioelectricidad.

JUSTIFICACIÓN

El crecimiento poblacional, el uso extensivo de combustibles fósiles como fuente energética, el aumento de residuales, hacen incursionar en la búsqueda de nuevas formas de obtención energética, sustentable, ecológicamente amigable con el ambiente de tal forma que permita utilizar residuales orgánicos como sustrato y que sea aprovechable por microorganismos para que produzca un beneficio; BIOELECTRICIDAD.

La responsabilidad de las universidades, ESPOCH dentro del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) es desarrollar líneas de investigación para atender problemas de la actualidad. Tal como investigar fuentes de energía renovable y reutilización de residuales.

Esto es posible mediante el desarrollo una “Microbial fuel Cell”, “MFC” o más bien llamada celda de combustible microbiano. Este es un dispositivo cuya finalidad es la obtención de energía eléctrica más bien llamada bioelectricidad. Presenta dos cámaras separadas, físicamente o mediante una membrana semipermeable. (3)

La presente investigación cuenta con el auspicio de las entidades: ONG ACRA, UNIVERSIDAD FLORENCIA (CRA - Centro di Ricerca di Agropedologia e Pedologia- Firenze), GRUPO DE ENERGIAS ALTERNATIVAS (GEAA)-ESPOCH.

La ESPOCH como un centro educativo superior, y dentro de la misma, la Facultad de Ciencias desarrolla líneas de investigación innovadoras que ayudan de manera proactiva a la solución de problemas, esta es la razón del porque realizar la investigación.

OBJETIVOS

GENERAL

- Producir bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos (relación 50:50 de frutas y verduras) comparando el comportamiento en los casos de estudio: Andes (Paramo de Pinchan Central) - Amazonia (Taisha), Ecuador.

ESPECÍFICOS

- Identificar que el suelo cumpla con las características físicas-químicas (poco intervenido), para la producción de bioelectricidad.
- Desarrollar 3 MFC de 3 volúmenes diferentes.
- Verificar la producción de bioelectricidad microbiana en los dos casos de estudio.
- Analizar la producción de bioelectricidad microbiana relacionando los diferentes parámetros ambientales (T, presión, humedad) específicos de cada ecosistema y el volumen de la MFC.
- Identificar la comunidad microbiana electrogénica presente en los suelos de cada ecosistema al final de la experimentación en función de bioelectricidad obtenida.

CAPITULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Microbiología bacteriana

1.1.1 Bioenergética microbiana

Las bacterias se desarrollan utilizando energía metabólica, catálisis de reacciones químicas y por almacenamiento de energía desde ATP (21). Los microorganismos necesitan diferentes fuentes nutricionales para desarrollar su metabolismo. Que en términos de bioelectricidad la M.O es la fuente de carbono que favorece el desarrollo de reacciones de óxido reducción liberando electrones y protones como se describe más adelante.

1.1.1.1 Potencial eléctrico (E)

La transferencia de electrones entre reductor y oxidante es comprendida como la energía utilizada por microorganismos y es influenciado por la diferencia de potencial entre estos (2), La tecnología MFC utiliza microorganismos que oxidan compuestos orgánicos metabólicamente en la CA, liberando electrones (transferidos al ÁNODO por diversos mecanismos (40) y mediante un circuito externo al CÁTODO) y protones (difundidos a través de una MIP al CÁTODO) que con O₂ atmosférico forma H₂O balanceando las cargas (18), (38), (73), (39), (14), (13). Bajo los criterios de funcionamiento de una MFC descrito por (18), (38), (39), (14), (13). En esta investigación los electrones serán producidos por la metabolización de M.O como sustrato, relación 50:50 de frutas (Banano: *Musa acuminata* (77), Naranja: *Citrus sinensis* (70), Manzana: *Malus communis* (54)) y verduras (Cascara de arveja: *Pisum sativum* (73), Haba: *Vicia faba* (69), Zapallo: *Cucurbita máxima* (74), nabo: *Brassica Pekinensis* (72)).

1.1.1.2 Reacciones redox

Las bombas de H^+ están acopladas a reacciones redox (respiración y en la fotosíntesis), donde se transfieren $n e^-$ desde un par donador de potencia E1, que para este estudio será la materia orgánica (conocida como combustible microbiano en sistemas MFCs) a un par aceptor de potencial E2, que bajo condiciones de funcionamiento la difusión de H^+ desde la CA a la CC será el O_2 aceptor, esta reacción también puede darse inversamente. (2)

1.1.1.3 Respiración

La transferencia de electrones no sucede sin liberación de H^+ , conexo a la síntesis de ATP por fosforilación oxidativa, siendo aerobia o anaerobia (2). Esta investigación se realizó en condiciones ambientales abiertas por tanto el aceptor final de electrones es O_2 atmosférico, formando agua con los H^+ difundidos a través de la MIP (18), (38), (39), (14), (13). Una reacción redox esencialmente irreversible en condiciones fisiológicas: la transferencia de electrones desde el citocromo C al O_2 para dar H_2O esta acoplada a la citocromo oxidasa, a una bomba de H^+ irreversible (2), descrito por (40) como un mecanismo de transferencia de electrones en las MFC. Considerando que en esta investigación existan bacterias electrogénicas que utilicen este mecanismo.

1.1.2 Factores de crecimiento microbiano

Los microorganismos fabrican componentes celulares indispensables usando rutas bioquímicas, utilizando minerales, recursos energéticos, C, N, P y S (5). El tipo y concentración de biomasa se describe como un factor alterante del rendimiento de MFCs (18). En esta investigación se utilizó como combustible microbiano una relación 50:50 de frutas (Banano: *Musa acuminata* (77), Naranja: *Citrus sinensis* (70), Manzana: *Malus communis* (54)) y verduras (Cascara de arveja: *Pisum sativum* (73), Haba: *Vicia faba* (69), Zapallo: *Cucurbita máxima* (74), nabo: *Brassica Pekinensis* (72)), promoviendo la síntesis de componentes celulares influyentes en el crecimiento microbiano como Aminoácidos, Purinas y pirimidinas, Vitaminas.

1.1.3 Curva de crecimiento microbiano

Describe Cuatro fases: a) Fase de latencia, b) Fase exponencial, c) Fase estacionaria y d) Fase de muerte (5). La temperatura influyo el tiempo de la fase de latencia, sugiriendo iniciar a una temperatura de operación de 22°C con fines de aplicación al tratamiento de AR; ya que la mayor eficiencia coulumbica fue obtenida a 30°C, operar MFCs a bajas temperaturas no fue exitoso por las bajas potencias de salida (48). En este trabajo se comparará dos ecosistemas con características ambientales diferentes ANDES Y AMAZONIA.

1.1.4 Influencia del factor ambiental en el crecimiento

Factores químicos y físicos de cada ambiente afectan al crecimiento microbiano, la temperatura es factor que afecta al rendimiento de las MFCs (48). Al comparar el comportamiento de producción de bioelectricidad en los ANDES y la AMAZONIA analizaremos la afectación de los factores ambientales en sistemas MFC y aportando una herramienta importante al entendimiento de la distribución ecológica de los microorganismos en los diferentes ambientes con su roll con procesos de bioelectricidad.

Tabla 1. Categorización de microorganismos a respuestas de factores ambientales.

Factor	Tipo de organismo	Definición	Microorganismos representantes
Solubilidad actividad del agua	Osmotolerante	Capaz de crecer sobre amplia actividad del agua o concentración osmótica	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Saccharomyces rouxii</i> .
	Halófilo	Requiere niveles altos de NaCl, usualmente arriba de 0.2M para el crecimiento	<i>Halobacterium</i> , <i>Dunaliella</i> , <i>Ectothiorhodospira</i> .
pH	Acidófilo	Crecimiento óptimo entre 0 y 5.5	<i>Sulfolobus</i> , <i>Picrophilus</i> , <i>Ferroplasma</i> , <i>Acontium</i> , <i>Cyanidium caldarium</i> .
	Netrófilo	Crecimiento óptimo entre 5.5 y 8	<i>Escherichia</i> , <i>Euglena</i> , <i>Paramecium</i> .
	Alcalófilo	Crecimiento óptimo	<i>Bacillus alcalophilus</i> ,

		entre 8 y 11.5	<i>Natronobacterium.</i>
Temperatura	Psicrófilo	Crece bien a 0°C y tiene un óptimo crecimiento a temperatura de 15 °C o menos.	<i>Bacillus psychrophilus,</i> <i>Chalamydomonas nivalis.</i>
	Psicotrófos	Puede crecer de 0-7 °C y tiene un óptimo crecimiento entre 20°C y 30°C, con un máximo alrededor de 35°C.	<i>Listeria monocytognes,</i> <i>Pseudomonas fluorescens.</i>
	Mesófilo	Tiene un óptimo crecimiento alrededor de 20-45°C.	<i>Escherichia coli, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis</i>
	Termófilo	Puede crecer a 55°C o más, óptimamente entre 55°C y 65°C.	<i>Geobacillus stearothermophilus,</i> <i>Thermus aquaticus,</i> <i>Cyanidium caldarium,</i> <i>Chaetomium thermophile.</i>
	Hipertermófilo	Tiene un crecimiento óptimo entre 80°C y 113°C.	<i>Sulfolobus, Pyrococcus, Pyrodictium.</i>
Concentración de Oxígeno	Aerobio estricto	Completamente dependiente del O ₂ atmosférico.	<i>Micrococcus luteus,</i> <i>Pseudomonas,</i> <i>Mycobacterium, most protist and fungi.</i>
	Aerobio Facultativo	No requiere O ₂ para crecer, pero puede hacerlo en su presencia.	<i>Escherichia, Enterococcus, Saccharomyces cerevisiae.</i>
	Anaerobio aerotolerante	Crece bien en presencia o ausencia de O ₂ .	<i>Streptococcus pyogenes.</i>
	Anaerobio Estricto	No tolera O ₂ , muere en su presencia	<i>Clostridium, Bacteroides, Metanobacterium, Treptonas agilis.</i>
	Microaerófilo	Requiere O ₂ en concentraciones bajas, entre 2-10% para el crecimiento, y es dañado por niveles de O ₂ atmosférico en concentración de 20%.	<i>Campylobacter, Spirillum volutans, Treponema pallidum.</i>
Presión	Basófilo	Crece más rápido en altas presiones hidrostáticas.	<i>Photobacterium profundum, Shewanella benthica, Methanocaldococcus jannaschii.</i>

Fuente: (Prescott, Harley, & Klein , 2002)

1.1.5 Tipos nutricionales de los microorganismos

Cada ecosistema brinda a los microorganismos en diferentes cantidades, fuentes de C, energía y electrones. Pudiendo clasificarlos de acuerdo a su fuente de C: Heterotrófos o Autotrófos; su fuente energética: fototrófos o quimiotrófos; fuente de electrones:

litotrófos y organotrófos (5). O a su vez pueden combinar las tres características, y esto ayudara a la distribución ecológica de los microorganismos. (Ver Tabla 1, Tabla 2).

Tabla 2. Tipos de Microorganismos de acuerdo a su recurso de carbono, energético y de electrónes

Tipo de recurso	Tipo de microorganismo	Característica
Carbono	Autotrófos	CO ₂ es el único recurso.
	Heterotrófos	Moléculas orgánicas reducidas o preformadas por otros organismos.
Energía	Fototrófos	Luz.
	Quimiotrófos	Oxidación de compuestos orgánicos o inorgánicos.
Electrónes	Litotrófos	Moléculas inorgánicas reducidas.
	Organotrófos	Moléculas orgánicas.

Fuente: (Prescott, Harley, & Klein , 2002)

Tabla 3. Principales tipos nutricionales de microorganismos

Tipo Nutricional	Recurso de carbono	Recurso energético	Recurso de electrones	Microorganismos representativos
Fotolitoautótrofo	CO ₂	Luz	Donador inorgánico de electrones.	Bacterias purpuras y verdes sulforeductoras verdes, cianobacterias
Fotoorganoheterotrofo	Carbono orgánico, también CO ₂	Luz	Donador orgánico de electrones.	Bacterias purpuras del azufre, bacterias verdes del azufre
Quimiolitoautótrofo	CO ₂	Productos Químicos inorgánicos	Donador inorgánico de electrones.	Bacterias sulfo-oxidativas, bacterias oxidativas de Hidrogeno, metanogénicas, bacterias nitrificantes, bacterias oxidativas de Hierro.
Quimiolitoheterotrofo	Carbono orgánico, también CO ₂	Productos Químicos inorgánicos	Donador inorgánico de electrones.	Algunas bacterias oxidativas del azufre
Quimioorganoheterotrofo	Carbono orgánico	Productos químicos orgánicos.	Donador Orgánico de electrones.	La mayoría de las bacterias fotosintéticas, incluyendo la mayoría de patógenos, hongos, muchos protistas y muchos arqueas.

Fuente: (Prescott, Harley, & Klein , 2002)

1.2 Celdas de Combustible Microbiano (MFC)

Las MFCs son una tecnología emergente, con prometedoras aplicaciones en el tratamiento de AR, biomarcadores, producción de hidrógeno (18) y para generar ER diferente a la solar, biomasa, eólica, hidráulica resultando ser una alternativa a las energías de uso común ENR: Petróleo, Carbón y gas natural. La eficiencia de las MFC para generar bioelectricidad depende de varios factores (24), o hidrógeno (8). Este trabajo de investigación analizará la influencia del tamaño de celda de las MFCs en la producción de bioelectricidad de dos suelos (ANDES Y AMAZONÍA) bajo condiciones ambientales de operación diferentes.

Las bacterias se desarrollan utilizando energía metabólica, catálisis de reacciones químicas y por almacenamiento de energía desde ATP (21). Se han utilizado AR residuales como sustrato (combustible microbiano) usando diferentes AR donde se removió DQO produciendo bioelectricidad (44). La tasa de carga del sustrato influye en el rendimiento de las MFC (51) tratando AR. Investigaciones se desarrollan en cuestión de materiales, sustratos, eficiencia, microorganismos responsables, etc. para un mejor entendimiento de las MFC ((15), (35), (67), (41), (58), (65), (32), (23), (64), (62), (9), (31), (50), (60), (20), (27), (66), (63), (33), (19)).

Residuos tales como la celulosa no son óptimos, en cambio glucosa y almidón son fácilmente oxidables para producir electricidad en sistemas MFC (44). Usando AR de cervecería a diferentes pH, 7 indica ser el más favorable (42) promoviendo 93,8% de eficiencia en eliminación de DQO. Usar residuos orgánicos como sustrato tal como basura de cocina probó obtener 682mW/m², sugiriendo estudiar parámetros como distancia entre los electrodos, área de superficie de los electrodos, composición catalítica, etc. (42). La potencia de salida máxima del P-MFC fue más de tres veces en 2008, y 222 mW/m² en esta investigación. No hubo éxito en la maximización de la potencia de salida Según la investigación. (29)

Se debe buscar microorganismos capaces de producir bioelectricidad (18). *S. cerevisiae* y *C. acetobutylicum* son buenos productores de bioelectricidad (45). *G. sulfurreducens* aumenta la eficacia de las MFC (6). En MFCs con suelo natural estuvieron 50.4%

Proteobacteria, 25.1% *Firmicutes*, and 24.5% *Actinobacteria*; y con fertilizante orgánico compostado perteneció 100% de dominancia de especies *Proteobacteria*. (50).

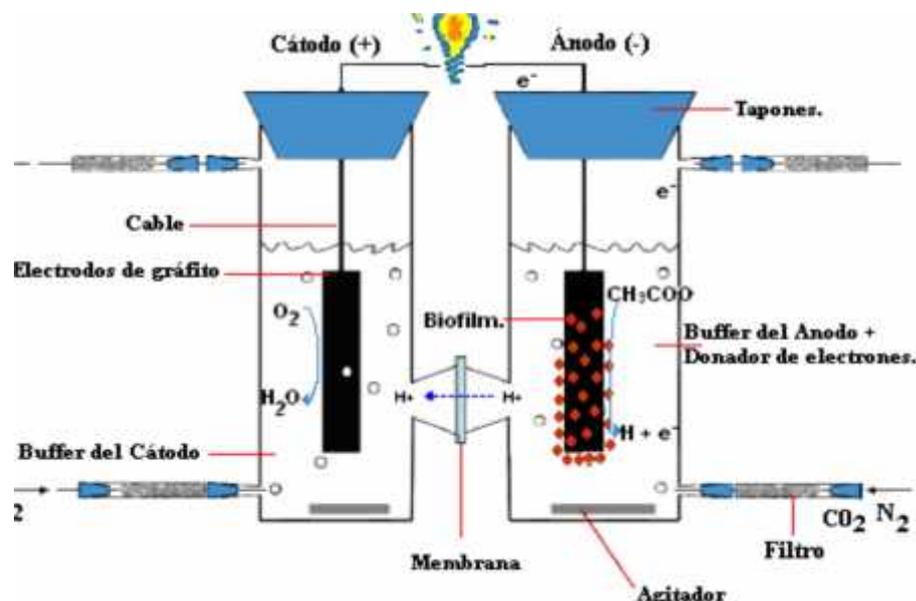
Es importante estudiar parámetros como distancia entre los electrodos, área de superficie de estos, composición catalítica, etc. en sistemas MFC para aumentar su eficiencia (56). Carbón de madera podría ser utilizado como electrodo para generar energía en MFCs (10). Los separadores afectan al rendimiento de las MFCs, la densidad de corriente aumenta y la resistencia interna es pequeña pero aumenta (62), en este trabajo se utiliza una capa de suelo como MIP en mezcla con carbón activado. El cátodo es un factor crítico que limita la aplicación de las MFCs, especialmente usar fibra de carbono por el costo (15), nosotros utilizamos el más común colector, fibra de carbono (15), tanto en el ánodo como el cátodo (53).

1.2.1 Estructura básica de una MFC

La estructura básica de una MFC para la producción de electricidad consta de dos cámaras: cámara anódica, cámara catódica separadas por una membrana de intercambio de protones (MIP), (Ver Ilustración 1). (49)

El mecanismo de liberación electrones al electrodo debe ser de estudio, para entender el funcionamiento y mejorar su eficiencia. Los factores más importantes para generar una corriente de electrones en una MFC y que pueda ser utilizada es: a) El microorganismo(os) utilizados para degradar la M.O a CO₂ y H₂O y b) El tipo de inóculo, en la MFC.

Ilustración 1. Esquema de celda de combustible microbiana (MFC) tipo H.



Fuente: (Falcón , Lozano , & Juárez , 2009)

1.2.1.1 Ánodo

El electrodo ánodo debe ser un material conductor, biocompatible y químicamente estable en la solución del reactor. El material de electrodo usado es el carbón, en placas de grafito compacto, barras o gránulos. Productos de carbón tal como el papel, fibra, entre otros han sido utilizados extensivamente como electrodos (18). Para incrementar el desempeño del ánodo, se ha utilizado varias estrategias químicas y físicas (19), Materiales electrocatalíticos (polianilinas ayudan a la oxidación directa de metabolitos microbianos), dirigir el flujo de agua a través del ánodo donde también se ha usado mediadores exógenos. (61)

1.2.1.2 Cátodo

El Ferrocianuro, es muy usado como un aceptor experimental de electrones en MFCs en la CC como describe (18). El ferrocianuro puede difundirse a través de la MIP a la CA afectando el desempeño (18). El O_2 es el aceptor de electrones más adecuado para una MFC. El material del cátodo, afecta el desempeño, y su variedad de aplicaciones (13) . “Para incrementar la velocidad de reducción de oxígeno, se utiliza catalizadores de Pt manteniéndose a 0.1 mgcm^{-2} . (39)

1.2.1.3 Membrana de intercambio de protones (MIP)

En una MFC la CA y la CC debe estar separada por una MIP. La más utilizada es Nafion (DuPont Co., USA) aunque existen otras opciones como Ultrex CMI-7000. Estudios posteriores evaluarán los efectos de la membrana en el desempeño, eficiencia y la estabilidad a largo plazo. (38), (39)

1.2.1.4 Condiciones de operación

El funcionamiento de una MFC es afectado por factores como: tipo de microorganismos, tipo de biomasa, concentración de biomasa utilizada como combustible, fuerza iónica, pH, temperatura, y configuración del reactor (36), (12). Para este estudio se utilizó MFCs cilíndricas de volúmenes diferentes. Los parámetros de operacionales deben ser manejados para disminuir la polarización e incrementar el desempeño de las MFCs (18), con el fin de comparar el comportamiento de la producción bioeléctrica de las MFC tomando la consideración de aplicabilidad en los dos ecosistemas (ANDES Y AMAZONÍA), no se controlaron parámetros como los ambientales, pH, fuerza iónica, tipo de microorganismos. Solo se controló el tamaño de celda, configuración del reactor, y la materia orgánica (relación 50:50, frutas y verduras)

1.2.1.5 pH y electrolito

La solución amortiguadora en una MFC, es importante porque si no existirá una diferencia de pH entre la CA y la CC, teóricamente no habría cambio de pH si la velocidad de reacción de protones, electrones y oxígeno en el cátodo es igual a la VPP en el ánodo. La MIP provoca una barrera en el TP a través de la MDP, por tanto el TP a través de la membrana y velocidad de consumo en CC es más lento que su velocidad de producción en el ánodo, en la etapa inicial de la operación de la MFC, lo que produce una diferencia de pH. (24)

La diferencia de pH incrementa la fuerza motriz de la DP de la CA a la CC formando un equilibrio dinámico. Los protones generados por degradación del sustrato orgánico son transferidos a la CC reaccionando con O₂ disuelto, pero también puede ser acumulado

en la CA cuando no se transfieren a través de la MIP a la CC. Los procesos microbianos en la CA prefieren un pH neutro, debido a que la actividad microbiana disminuye (si el pH es más alto o más bajo), por lo que es recomendable usar amortiguadores. (28)

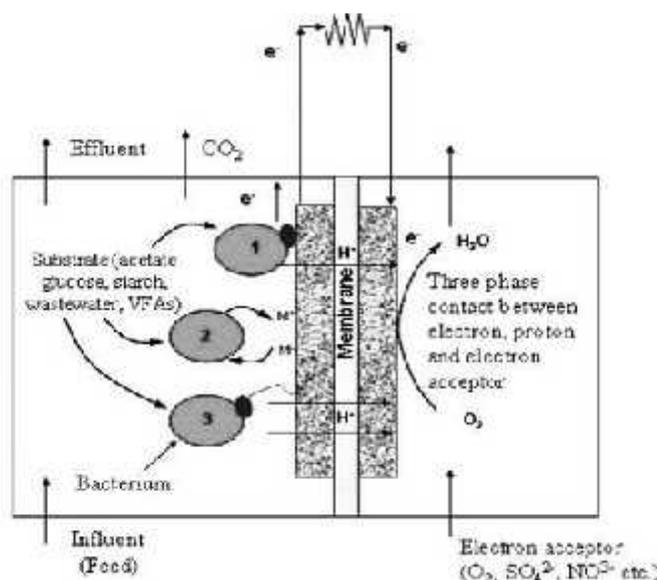
1.2.2 Funcionamiento de una MFC

Los microorganismos oxidan metabólicamente compuestos orgánicos en la CA, liberando electrones y protones. Los electrones son transferidos al electrodo ánodo y transportados al electrodo cátodo por un circuito externo. Para mantener el balance de cargas, la reacción en CA genera protones, que atraviesan una MIP hacia la CC donde se unen con O_2 , y forman H_2O . (18), (38), (39), (14), (13)

1.2.3 Mecanismos de transferencia de electrones en MFCs

La transferencia extracelular de electrones se define: como el proceso por el cual los electrones producidos por la oxidación de compuestos orgánicos son transferidos a la superficie externa de la célula, para ser reducidos por un aceptor terminal de electrones extracelular (40). Se plantean diferentes mecanismos por el cual los microorganismos liberan los electrones al electrodo ánodo. (Ver Ilustración 2)

Ilustración 2. Esquema de una doble cámara MFC con posibles modos de transferencias de electrones.



- (1) Transferencia directa de electrones (Vía de salida de membrana de citocromos); (2) Transferencia de electrones a través de mediadores; y (3) Transferencia de electrones a través de nanocables. (Lovley , 2008)

1.2.4 Aplicaciones de las MFC

La tecnología MFC se encuentra en un proceso de investigación y desarrollo reportándose hasta a la fecha un volumen interno del ánodo de 0.388 L (37). La investigación a nivel mundial ha encontrado usos alternativos para esta tecnología (5) tal como Producción de Hidrógeno (17), (36, (36); Tratamientos de AR (59); Biorremediación (26), (25); Biosensores (18), (38), (11), (56), (46).

1.3 Residuos sólidos orgánicos y su aprovechamiento en sistemas MFC

Producto de actividades domésticas, industriales, comerciales, institucionales o de servicios que puede ser aprovechado y transformado en un nuevo bien, valor agregado (68). Los componentes orgánicos pueden ser convertidos biológicamente en gases y sólidos orgánicos relativamente inertes (3). Pero los microorganismos pueden producir electrones, que en sistemas MFC será bioelectricidad. En esta investigación propone la reutilización de RSO para generar bioelectricidad.

1.4 Marco legal

Este trabajo de investigación busca la obtención de ER, reutilizando residuos orgánicos como sustrato. Basándose el régimen del buen vivir, Título VII, Capítulo segundo, Sección séptima y dentro de esta son de interés el artículo 413, 414, y 415 (78). De acuerdo a las políticas y lineamientos del plan nacional del buen vivir 2013-2017 son de interés los objetivos 7, 10 y 11 con su respectivos literales: 7.2.n, 7.4.e, 7.5.a, 7.5.b, 7.5.c, 7.5.d, 7.5.e, 7.7.a, 7.7.b, 7.7.c, 7.7.d, 7.8.i, 7.8.k, 10.2.a, 11.1b, 11.1d, 11.1h, 11.1.i, 11.1.j, 11.1.t; 11.2.1 y 11.5.j. (79)

CAPITULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE ESTUDIO

El suelo ecuatoriano guarda una diversidad ecológica microbiana muy poco estudiada, en Ecuador se estima alrededor 1.250.000 ha de Páramo. El contenido de carbono orgánico total de los Humedales de las comunidades Shobol LlinLlin y Chimborazo aumenta con la altitud (16). El análisis realizado entre el %C de los Humedales de las comunidades Shobol LlinLlin, Chimborazo (16) y Pichán Central (71) indicó que siguen la misma tendencia, pero el Humedal de Pichán Central tiene mayor %CO.

La temperatura es un factor que afecta al rendimiento de las MFCs (48). En este trabajo se comparó dos ecosistemas con características ambientales diferentes, la Comunidad de Pichán Central-Parroquia San Isidro-Cantón Guano-Chimborazo para el CAN y para el CAM la Comunidad Achuar Kaiptach-Taisha-Morona Santiago. La experimentación se llevó a cabo en Macas dentro de las instalaciones de la fundación CHANKUAP para el CAM y el CAN dentro de las instalaciones de la facultad de recursos naturales-ESPOCH.

2.2 METODOLOGÍA

2.2.1 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.2.1.1 MÉTODOS

DETERMINACIÓN DEL LUGAR DE MUESTREO DE SUELO PARA LAS MFCs

Las características físico y químicos del suelo del humedal de Pichán Central, indican una textura franco arenosa, estructura y consistencia suelta, 60% de porosidad, pH 5,7 y alto contenido de M.O (6,1%), P y K (76); no se han registrado trabajos en la Amazonía. El suelo utilizado en el experimento de ambos casos de estudio fue georeferenciado, para el CAN fue suelo alto andino de paramo (Páramo de Pichán Central) (Ver Fotografía 1) y para el CAM un suelo de clima tropical (Ver Fotografía 2), ambos poco intervenidos. Se realizó un muestreo aleatorio, de suelo poco intervenido para la selección del lugar específico del muestreo dentro del páramo y de la amazonia. Un muestreo compuesto de la muestra requerida de suelo que fue utilizado en la investigación. (Ver Fotografía 3, Fotografía 4)

El tipo inóculo en las MFCs puede ser de lodos activados (34), lodos anaeróbicos (57), aguas residuales domésticas (47), aguas residuales industriales (55), sedimentos marinos (7) o sedimentos acuáticos (30), (35). Aunque los mejores resultados se han obtenido empleando lodos activados o anaeróbicos (57). También se ha utilizado suelo como fuente de microorganismos electrogénicos analizando la alteración de la materia orgánica (50).

Por esa razón en esta investigación se utilizó dos tipos de suelos (Suelo alto andino y suelo tropical). En general, para la selección del lugar de muestreo se tomó en cuenta las características propias cada ecosistema, como la no intervención humana, análisis observacional de la flora y fauna del sector, etc. En el CAN (Fotografía 1) se evaluó los valores obtenidos de carbono orgánico total del Páramo Pichan Central (71), Análisis Físico, Químicos y Microbiológico de Suelos del páramo Pichan Central (76). Analizando los estudios previos realizados en el Páramo de Pichan Central se georeferenció el lugar de estudio, 763143E, 9833826N utilizando un GPS (Megallen). Para el CAM (Fotografía 2), no hay trabajos realizados en el contenido de carbono orgánico, físicos, químicos o microbiológicos del suelo por lo tanto la selección del lugar se basó más por indicadores biológicos de no intervención por la comunidad, georeferenciando el lugar de estudio, 263787 E, 9708162 N.

Fotografía 1. Páramo de Pichan Central



Fuente: Logroño W.

Fotografía 2. Comunidad Achuar Kaiptach



Fuente: Graziani, P.

2.2.1.1.1 TOMA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

A. MUESTREO DE SUELO PARA LA INSTALACIÓN DE LAS MFCs

Para obtener la muestra se debe tomar en cuenta características fisicoquímicas del ecosistema (1) como se describe en el apartado 2.2.1.1.1, y por la abundancia de microorganismos que entre la profundidad entre 20-40 cm. Primero se trazó un cuadrado de 6m * 6m (Ver Fotografía 3), desde las coordenadas georeferenciadas (Ver apartado 2.2.1.1.1) estableciendo un zigzag con 9 puntos ayudándonos de la grilla de muestreo. Segundo con una pala de desfonde se delimitó cada punto de muestreo en el zigzag retirando la primera capa de cobertura vegetal y raíces, verificando la profundidad para tomar la muestra entre 20 cm – 40 cm (Ver Fotografía 4). Estos pasos fueron realizados repetidamente en cada punto de muestreo del zigzag realizado, tomando 2,1Kg de suelo en cada punto para ambos casos de estudio.

El suelo de cada punto de la grilla de muestreo fue homogenizado teniendo una muestra representativa del área determinada de estudio y las cantidades totales de suelo estimado para cada tamaño de MFC están dadas en la Tabla 4. Las muestras de suelo fueron almacenadas en fundas plásticas manteniendo aséptica introduciendo en un saquillo para su manejo hasta el Lugar experimental como se aclara en el apartado 2.1 para facilitar la instalación y recolección de los datos de bioelectricidad. También se recolectó muestras de suelo en cada uno de los 9 puntos establecidos en la grilla de muestreo, realizando una toma rápida y cierre hermético en envases estériles para el análisis físico, químico y microbiológico (Ver Fotografía 5) para los dos casos de estudio.

Fotografía 3. Lugar de estudio- Andes



Fuente: Logroño W.

Fotografía 4. Muestreo de Suelo



Fuente: Logroño W.

Fotografía 5. Muestra para análisis Físico, Químico y Microbiológico



Fuente: Logroño W.

Tabla 4. Cantidad total de suelo requerido para la instalación de las MFC

CASO DE ESTUDIO		MFC		
CAN	CAM	TACHOS VOLUMETRICOS	REPETICION	CANTIDAD TOTAL DE SUELO (Kg)
		20 L	3	10,5
		12L	3	6,3
		4 L	3	2,1
		Total		18,1

Fuente: Mocali, S.

B. MUESTREO DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS PARA LAS MFCS

Los residuos orgánicos pueden ser producto de actividades domésticas, industriales, comerciales, etc. (66). La M.O. puede ser convertida biológicamente en gases y sólidos orgánicos inertes (1), como se describió en el apartado 1.2.4 los sistemas MFC tienen prometedoras aplicaciones, en el apartado 1.1.1 se explica la capacidad de los microorganismos para oxidar metabólicamente M.O. para liberar electrones y protones en sistemas de MFC produciendo bioelectricidad. En esta investigación se propuso la reutilización de RSO como combustible microbiano (Ver apartado 1.1.1.1) para la producción de bioelectricidad.

Como se describe en el apartado 1.1.2 hay factores de crecimiento indispensables que afectan a los microorganismos tal como fuentes de C, N, P y S (17). La eficiencia de las MFCs para generar bioelectricidad depende de varios factores (24), (36), (12). Entre ellos el sustrato o combustible microbiano (Ver apartado 1.1.1.2) que es metabolizado por los microorganismos en la CA (40) de las MFCs. Varios tipos de sustratos pueden ser utilizados en sistemas de MFCs, para este trabajo se utilizó la M.O del mercado la Condamine de la ciudad de Riobamba (Fotografía 6, Fotografía 7) en una relación 50:50 frutas-verduras, frutas y verduras, las cantidades totales de M.O están descritas en la Tabla 5.

Tabla 5. Cantidad total de materia orgánica por cada tratamiento

CASO DE ESTUDIO		RELACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA		
CAN	CAM	MFC	REPETICION	RESIDUOS ORGANICOS TOTAL (Kg)
		20 L	3	4.5
		12L	3	2.7
		4 L	3	0.900
		Total		9,1

Fuente: Dr. Stefano Mocali.

Fotografía 6. Muestreo de fruta



Fuente: Logroño W.

Fotografía 7. Muestreo de vegetales



Fuente: Logroño W.

2.2.1.1.2 CONFIGURACIÓN DE LAS MFCs

La configuración del reactor (36), (12); los parámetros como la distancia entre electrodos y área de superficie de estos deben ser estudiados sistemas MFC para

maximizar su eficiencia (52). Investigaciones realizadas a nivel de laboratorio describen volúmenes de la CA y la CC de 500 ml (50), 1.1, 1.6 y 0.9 L (20).

Para la investigación se determinó 3 volúmenes para las MFCs, V1 (Tamaño total de celda de 20 L), V2 (Tamaño total de celda de 12 L) y V3 (Tamaño total de celda de 4 L), en la tabla 5 se describe los volúmenes experimentales calculados utilizando la Ec.1. Se realizó un proceso general de instalación para todas las MFCs, y uno para V1, V2 y V3 como se describe más adelante. Cada tratamiento se realizó por triplicado como previamente describe (22), y se operó en modo batch (60) durando 171 días.

$$V = \pi r^2 h \quad \text{Ec. 1}$$

Tabla 6. Volumen experimental por cada tratamiento

Tratamiento	Nº Repeticiones	Tamaño de celda	Dimensiones de MFC	Volumen experimental/Celda (m ³)
1	3	V1	r= 0,1445 m	0,06355
			h= 0,14 m	
			= 3,14	
2	3	V2	r= 0,115 m	0,04335
			h= 0,12 m	
			= 3,14	
3	3	V3	r= 0,1 m	0,02356
			h= 0,075	
			= 3,14	

Fuente: Logroño W.

A. PROCESO GENERAL PREVIO LA INSTALACIÓN DE LAS MFCs

Se Homogenizó las muestras de suelo del área de muestreo de cada caso de estudio como se describe en el apartado 2.2.1.1.1 y A en el apartado 2.2.1.1.2, para tener una muestra compuesta (Ver Fotografía 6). La M.O. utilizada (Ver B en el apartado 2.2.1.1.2) fue triturada en trozos aproximadamente entre 1cm-2cm (Ver Fotografía 7). Se trituró y pesó 4,05 Kg de Fruta (*Musa acuminata*, *Citrus sinensis*, *Malus communis*,) y 4,05 Kg de verduras (Cascara de *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Cucurbita máxima*)

homogenizando y mezclando con 18,1 Kg de suelo (Ver Tabla 3), esto se realizó para cada caso de estudio.

Fotografía 8. Homogenización de la muestra de suelo



Fuente: Logroño W.

Fotografía 9. Trituración de M.O.



Fuente: Logroño W.

B. PROCEDIMIENTO DE INSTALACIÓN DE LAS MFCs PARA V1, V2 y V3

Como se describe en el apartado 2.2.1.1.3 la configuración del reactor es un factor de estudio y uno que influye en el rendimiento de las MFCs. Varias investigaciones utilizan una configuración de MFC de CA y CC separadas ((20), (62), (31)) y otras una MFC de cámara simple ((60), (15), (9)). En el estudio donde se empleó suelo utilizaron una configuración de doble cámara (50). En esta investigación se utilizó un diseño de cámara simple, a distintos volúmenes de MFC 20L, 12L y 4L respectivamente tal como se describe en el apartado 2.2.1.1.3.

Para V1: **a)** La CA fue construida adicionando 3 Kg de suelo homogenizado (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3, (Ver 1 en la Fotografía 12), **b)** Sobre los 3 Kg se superpuso la Fibra de Carbono usado como electrodo ánodo ((60), (53)) con dimensiones 0,30 m * 0,25 m y área total de superficie igual a 750 cm², aproximadamente 3 veces más el

área tal como describe (22), conectando un lagarto de conexión al electrodo, y el lagarto a cable de cobre formando el negativo del circuito externo (Ver 2 en la Fotografía 12). **c)** En investigaciones anteriores se ha utilizado como MIP (VWR International) (22), Nafion® 117 (DuPont, USA, 2.5 cm² área) (50), en esta investigación se colocó 2 kg de suelo homogéneo (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3) mezclado con 200 g de Carbón activado (Partículas entre 1 cm-2 cm) estableciendo así el espacio de la MIP (Ver 3 en la Fotografía 12). **d)** La fibra de carbono es el electrodo cátodo (53), es la más común pero a la vez es un factor crítico-limitante en la aplicación práctica de las MFC por su costo (15). Las dimensiones y área de superficie del electrodo cátodo son las mismas descritas en el literal b. Fue colocado sobre los 2 Kg, conectando un lagarto de conexión al electrodo, y el lagarto a cable de cobre formando el positivo del circuito externo (Ver 4 en la Fotografía 12). **e)** Por último se colocó agua estableciendo un tirante sobre el electrodo aproximadamente de 2 cm, para crear condiciones anaeróbicas en la CA, cabe aclarar que la CC está comprendida desde el electrodo cátodo hasta borde superior de la celda de V1. El procedimiento se realiza idénticamente para cada réplica del tamaño V1.

Fotografía 10. Instalación para V1



Fuente: Logroño W.

Para V2: **a)** la cámara catódica estará construida adicionando 2,1 Kg de suelo homogenizado (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3), (Ver 1 en la Fotografía 11), **b)** Sobre los 2,1 Kg se superpuso el electrodo ánodo sujetando con un lagarto de conexión y cable de cobre formando el negativo del circuito externo (Ver 2 en la Fotografía 11). La fibra de carbono ha sido utilizada como electrodo en la CA como previamente describe (60); hemos utilizado fibra de carbono como electrodo con dimensiones (0,30 m * 0,25 m) y área total de superficie 750 cm² en ánodo y cátodo, aproximadamente 3 veces más el área tal como describe (22). **c)** En investigaciones anteriores se ha utilizado como MIP (VWR International) (22), Nafion® 117 (DuPont, USA, 2.5 cm² área) (50), en esta investigación se colocó 0,9 kg de suelo homogéneo (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3) mezclado con 120 g de Carbón activado (Partículas entre 1cm-2cm) estableciendo así el espacio de la MIP (Ver 3 en la Fotografía 11). **d)** Como se describió (dimensiones y área de superficie) en el literal b) se colocó la fibra de carbono sobre los 0,9 kg estableciendo el electrodo cátodo de la CC sujetando con un lagarto de conexión conectado a cable de cobre formando el positivo del circuito externo (Ver 4 en la Fotografía 11). **e)** Adicionalmente se colocó un volumen de agua para que el tirante sobre el electrodo sea de aproximadamente 2cm, para crear condiciones anaeróbicas en la CA. El procedimiento se realizó por repetido para cada réplica del tamaño V2.

Fotografía 11. Instalación para V2



Fuente: Logroño W.

Para V3: **a)** la cámara catódica estará construida adicionando 0,6 Kg de suelo homogenizado (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3), (Ver 1 en la Fotografía 12), **b)** Sobre los 0,6 Kg se superpuso el electrodo ánodo sujetando con un lagarto de conexión y cable de cobre formando el negativo del circuito externo (Ver 2 en la Fotografía 12). La fibra de carbono ha sido utilizada como electrodo en la CA como previamente describe (60); hemos utilizado fibra de carbono como electrodo con dimensiones (0,2m * 0,18m) y área total de superficie 360 cm² en ánodo y cátodo, que varía en 90 cm² del área descrita por (22). **c)** En investigaciones anteriores se ha utilizado como MIP (VWR International) (22), Nafion® 117 (DuPont, USA, 2.5 cm² área) (50), en esta investigación se colocado 0,4 kg de suelo homogéneo (Ver A en el apartado 2.2.1.1.3) mezclado con 40 g de Carbón activado (Partículas entre 1cm-2cm) estableciendo así el espacio de la MIP (Ver 3 en la Fotografía 12). **d)** Como se describió (dimensiones y área de superficie) en b) se colocó la fibra de carbono sobre los 0,4 Kg estableciendo el electrodo cátodo de la CC sujetando con un lagarto de conexión conectado a cable de cobre formando el positivo del circuito externo (Ver 4 en la Fotografía 12). **e)** Adicionalmente se colocó un volumen de agua para que el tirante sobre el electrodo sea de aproximadamente 2cm, para crear condiciones anaeróbicas en la CA. El procedimiento se realizó por repetido para cada réplica del tamaño V2.

Fotografía 12. Instalación para V3



Fuente: Logroño W.

2.2.1.1.3 MÉTODO DE AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ENZIMAS

Las enzimas son catalizadores biológicos que aceleran la velocidad de una reacción; estas enzimas sirven en procesos biotecnológicos en el campo agrícola, industrial y ambiental. Los microorganismos productores de enzimas pueden ser buscados en diversos ecosistemas naturales, siendo posible aislarlas de ambientes normales y extremos (4). Para esto se utilizó medios de cultivo enriquecidos con glucosa, almidón, leche, PCA y agua (Ver ANEXO 1) para aislar e identificar la presencia de colonias bacterianas glucolíticas, proteolíticas, amilolíticas, recuento de heterotrófos total, y agar pobre. Empleando la técnica de diluciones como se observa en la Ilustración 3, y siembre en superficie en placa Petri - medio sólido (Ver ANEXO 2)

2.2.1.2 TÉCNICAS

2.2.1.2.1 TÉCNICAS DEL ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE SUELO

La caracterización de los suelos de los casos de estudio “ANDES” y “AMAZONIA” se realizó en el laboratorio del DEPARTAMENTO DE SUELOS-FACULTAD DE RECURSOS NATURALES-ESPOCH, a continuación se detalla el tipo de análisis y el método utilizado.

Tabla 7. Métodos usados por el laboratorio del DEPARTAMENTO DE SUELOS-FACULTAD DE RECURSOS NATURALES-ESPOCH para el análisis de suelo

PARÁMETROS	MÉTODO
determinación pH	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación % de materia orgánica	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Conductividad eléctrica	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de NH ₄	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de P	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de K	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de CaO	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de MgO	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación de la relación C/N	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)
Determinación del % de humedad	(MÉTODO OLSEN. VER ANEXO 4,5)

Fuente: Logroño W.

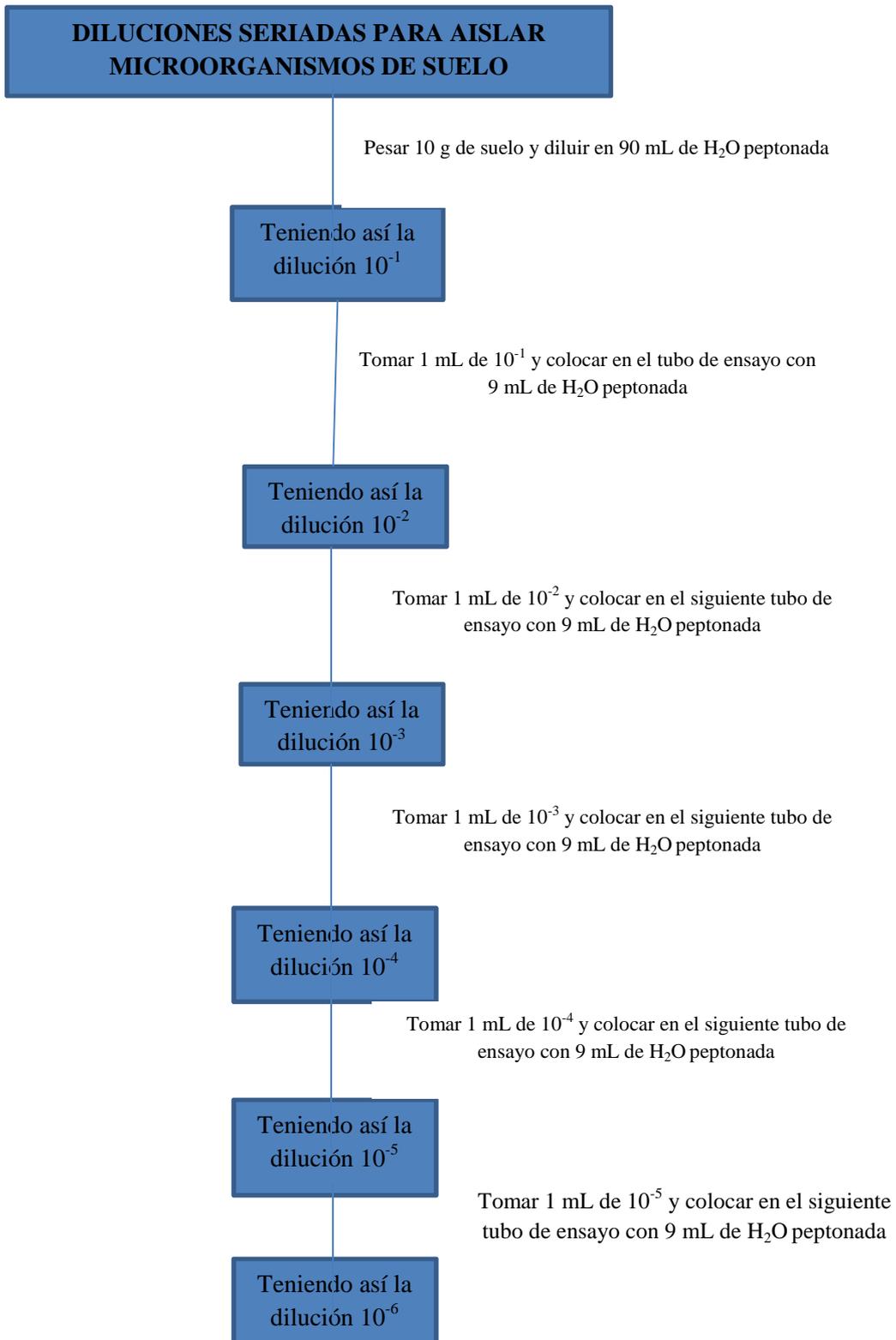
2.2.1.2.2 TÉCNICA DE ANÁLISIS MICROBIOBIOLÓGICO DE SUELO

Según, Gallegos J.

2.2.1.2.2.1 TÉCNICA DE DILUCIONES SERIADAS

Esta técnica permite tener en dilución los microorganismos que serán sembrados en las placas Petri. Partiendo de la dilución 10^{-1} hasta 10^{-6} . (VER FIGURA 1)

Ilustración 3. Técnica de diluciones a partir de una muestra de suelo



Fuente: W. Logroño,

2.2.1.2.2.2 AISLAMIENTO DE BACTERIAS AMILOLÍTICAS, PROTEOLÍTICAS, GLUCOLÍTICAS, HETEROTRÓFOS Y EN MEDIO POBRE

Para identificar la presencia de bacterias amilolíticas, proteolíticas, glucolíticas, se utilizó medios enriquecidos (VER ANEXO 1), para el recuento de heterotrófos se utilizó Agar PCA (VER ANEXO 1) y para identificar la presencia y crecimiento de bacterias en medio pobre se utilizó Agar Agua destilada (VER ANEXO 1). Se utilizó la técnica de diluciones como se describe en la Ilustración 3, sembrando en medio sólido (ANEXO 2). Después de realizadas las diluciones de las muestras de suelo de CAM y CAN (VER ANEXO 3), se sembró las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , incubó a 28°C y contó a 48-72 horas después de la inoculación en los medios enriquecidos. (50)

2.3 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

2.3.1 MATERIALES

2.3.1.1 LUGAR EXPERIMENTAL

El proyecto de investigación se desarrolló en dos regiones diferentes: Andes y Amazonia. Para el caso de estudio “Andes” se realizó en la Riobamba ubicada en el espacio físico abierto de la Facultad de Recursos Naturales - ESPOCH, y para el caso “Amazonia” en la ciudad de Macas en las instalaciones de las oficinas de fundación Chankuap, ACRA.

2.3.1.2 MATERIALES EXPERIMENTALES

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

Tabla 8. Materiales experimentales

CASO DE ESTUDIO	MÉTODO EN QUE SE USA	MATERIAL	CANTIDAD
ANDES	Muestreo de suelo para MFC	Cinta métrica	1
		Marco de madera	1
AMAZONIA		Pala de desfonde	1
		Barreno	1
		Fudas	20
ANDES	Medición de parámetros in-sito y Georeferenciación	Multímetro	2
AMAZONIA		GPS Megellan	1
		Estación meteorológica portátil	1
ANDES	Instalación de las MFC	Baldes de 20 L	6
		Baldes de 12 L	6
Baldes de 4 L		6	
Fibra de Carbono de 0,5 m * 0,3m		36	
AMAZONIA		Cable de timbre de 30 cm	36
		Lagartos de conexión	72

		Leds	18
		Cuchillo	1
		Balanza	2

Fuente: W. Logroño

2.3.1.3 MATERIALES DE LABORATORIO

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

Tabla 9. Materiales de laboratorio

CASO DE ESTUDIO	MATERIAL	REACTIVOS	SUSTANCIAS	EQUIPOS
ANDES	Algodón	Agar nutritivo	Agua destilada	Autoclave
	Cajas Petri	Agar-Agar	Alcohol	Balanza analítica
	Espátula	Almidón		
	Erlenmeyer 250 mL			Balanza
	Erlenmeyer 100 mL	Glucosa		
	Fundas	K ₂ HPO ₄		Cámara de flujo laminar
	Gradilla	KH ₂ PO ₄		Estufa de incubación
	Mechero	CaCl ₂		Incubadora Memmert
AMAZONIA	Micropipeta variable 100 µL - 1000 µL	Ronilan		
	Papel aluminio			
	Parafina			
	Pipeta de 1 mL			
	Probeta 250 mL			
	Puntas volumétricas de 1 mL			
	Tubos de ensayo			
	Varilla de agitación			
	Vaso de precipitado de 10 mL			
	Vaso de precipitado de 250 mL			
Vaso de precipitado de 500 mL				

Fuente: W. Logroño

2.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para realizar el análisis estadístico en la presente investigación se planteó un diseño factorial mixto (3*3*2), modificando y seleccionando los tratamientos de estudio.

2.4.1.1 TRATAMIENTOS

Para esta investigación se realizó tres tratamientos con tres repeticiones cada uno, en la que cada tratamiento corresponde a un tamaño de MFC diferente, tanto en Macas como en Riobamba.

Así tenemos:

Cuadro 1. Diseño experimental global

Lugar de estudio	Tamaño de celda	Codificación de MFC	Repetición
Riobamba	V3R	3	3 A
			3 B
			3 C
	V2R	2	2 A
			2 B
			2C
	V1R	1	1 A
			1 B
			1 C
Macas	V3M	3	3 A

			3 B	
			3 C	
	V2M	2		2 A
				2 B
				2C
	V1M	1		1 A
				1 B
				1 C

Fuente: W. Logroño

2.4.1.2 FACTORES CONTROLABLES

Cuadro 2. Factores controlables

FACTOR	NIVELES
Tamaño de la celda	Pequeño
	Mediano
	Grande
Distancia de los electrodos	3 cm
	5 cm
	7 cm
Lugar de estudio	Riobamba
	Macas

Fuente: Logroño W.

2.4.1.3 VARIABLE RESPUESTA

Cantidad tensión voltaica y/o bioelectricidad medida en (mV) producida por los microorganismos electrogénicos presentes en el suelo de caso de estudio.

2.4.1.4 CODIFICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS Y RESPUESTAS A MEDIR

En la siguiente tabla se detallará los tratamientos del diseño experimental que plantea el diseño multifactorial mixto, 3*3*2.

La codificación presentada en el Cuadro 3 esta de la siguiente manera:

- En el factor tamaño: **1** corresponde a V1, **2** a V2 y **3** a V3,
- En el factor distancia de los electrodos: **1** corresponde a la distancia de 12 cm de, **2** a la distancia de 9 cm y **3** a la distancia de 5 cm.
- En el factor lugar: **M** corresponde al lugar de estudio Macas y **R** corresponde al lugar de estudio Riobamba.

En cuanto a los datos recolectados **I** corresponde a la réplica **1**, **II** a la réplica **2** y **III** a la réplica **3**.

Cuadro 3. Diseño experimental 3*3*2 a utilizar

Diseño factorial mixto (3*3*2)					
Tamaño	Distancia de electrodos	Lugar	Datos (mV)		
			I	II	III
1	1	M			
2	1	M			
3	1	M			
1	2	M			
2	2	M			

3	2	M			
1	3	M			
2	3	M			
3	3	M			
1	1	R			
2	1	R			
3	1	R			
1	2	R			
2	2	R			
3	2	R			
1	3	R			
2	3	R			
3	3	R			

Fuente: Vera, C.

En la tabla anterior podemos ver los tratamientos que requiere un diseño factorial **3*3*2** mixto, que para objeto de estudio están marcados los tratamientos que serán analizados con una modificación a un diseño bifactorial **3*2**; teniendo como factores controlables el tamaño de celda, el lugar de estudio y variable respuesta la tensión voltaica. Se reduce el factor distancia de los electrodos por la correspondencia de que si el tamaño de celda es pequeño la distancia de electrodos también es pequeña, si la celda es mediana la distancia de electrodos también es mediana y si el tamaño de celda es grande la distancia de electrodos también grande; siendo directamente proporcional, teniendo así:

Cuadro 4. Diseño experimental 3*2

Diseño Bifactorial (3*2)				
Tamaño	Lugar	Datos (mV)		
		I	II	III
1	M			
2	M			
3	M			
1	R			
2	R			
3	R			

Fuente: W. Logroño, I. Escudero

Es de vital importancia aclarar, que para validar el modelo bifactorial hace referencia a realizar de forma aleatoria el orden de corrida de los tratamientos, y así se tendría una tabla de datos al día. Pero cuando hablamos de bioelectricidad, tener una sola tabla de datos para cumplir con los requerimientos del modelo bifactorial solo se tendría resultados de la bioelectricidad instantáneamente y esto no es procedente ya que los microorganismos requieren un tiempo para formar una biopelícula sobre el electrodo ánodo que permitirá el transporte de electrones, en base a éste criterio se realiza una segunda modificación del modelo para probar las hipótesis planteadas y analizar el comportamiento de la bioelectricidad en un tiempo establecido, teniendo así:

$G_R \quad X \quad O_1 O_2 O_3 \text{ ----} O_{171}$

$R_M \quad X \quad O_1 O_2 O_3 \text{ ----} O_{171}$

Donde GR corresponde al grupo de estudio Riobamba con sus tres tratamientos y tres repeticiones, GM pertenece al grupo de estudio Macas con sus tres tratamientos y tres repeticiones donde O1 corresponde el primer día de medición y O171 al último día de medición.

2.4.2 PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

2.4.2.1 HIPOTESIS TEXTUAL

- El tamaño de celda influye en la cantidad de Bioelectricidad producida en las celdas de combustible microbiano (MFC).

2.4.2.2 HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

2.4.2.2.1 LA CANTIDAD DE BIOELECTRICIDAD INFLUYE DEL TAMAÑO DE MFC

Riobamba

- $H_0: \mu_{R1} = \mu_{R2} = \mu_{R3}$
- H_1 : al menos un par es diferente

Macas

- $H_0: \mu_{M1} = \mu_{M2} = \mu_{M3}$
- H_1 : al menos un par es diferente

CAPITULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL SUELO, INICIAL CASOS DE ESTUDIO MACAS-RIOBAMBA.

Al momento de producir bioelectricidad microbiana en base sólida, es importante caracterizar el suelo para conocer el estado inicial del suelo y con qué tipo de suelo estamos tratando debido a que el suelo amazónico y de los andes tienen características distintivas de cada ecosistema: analizando así, pH, % materia orgánica, conductividad, Nitrógeno amoniacal, P, K, Ca, Mg, relación carbono nitrógeno, y % de humedad conductividad. (VER ANEXO 4, 5)

En el siguiente Cuadro 6 se puede observar la caracterización Física Química de los suelos:

Cuadro 5. Caracterización Físico Químico inicial casos de estudio Macas-Riobamba

Lugar de estudio	pH	%M. O	C.E. (μS)	NH ₄ (mg/L)	P (mg/L)	K (mg/L)	CaO (Meq/100g)	MgO (Meq/100g)	Rel. C/N	% H
MACAS	5,6 LAc.	4,2 M	180,1 no salino	22,5 B	15,0 B	379,5 M	8,4 B	1,7 B	62	32
RIOBAMBA	4,6 Ac.	3,2 M	183,7 no salino	22,5 B	79,5 A	957,3 A	20 S	5,7 E	15	55,6
CODIFICACIÓN										
S: Suficiente		A: Alto								
Ac: Ácido		M: Medio								
LAc: Ligeramente Ácido		B: Bajo								
E: Excelente										

Fuente: Logroño W., modificado de los resultados del Anexo 4 y 5.

Claramente se puede observar diferencias marcadas en las características de cada suelo, estas características influirán sobre la microflora de cada suelo. Bajo el sistema MFC el pH es un factor determinante en el rendimiento del sistema y la cantidad de bioelectricidad ya que se recomienda un pH neutro de operación. El %M, C.E. NH₄, P,

K, Ca, Mg, Rel. C/N son factores que influirán en la nutrición y metabolismo de los microorganismos productores de bioelectricidad.

3.2 ANÁLISIS DE COMUNIDADES BACTERIANAS

3.2.1 RECUENTO INICIAL DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN MACAS Y RIOBAMBA

Se realizó el recuento total de heterotropos para el suelo del CAN y el CAM, después de 48-72 horas de incubación a 28° C de temperatura (36), utilizando la técnica de diluciones y siembra por vertido en placa. Tanto en el CAN como el CAM hubo crecimiento en todas las placas sembradas, haciendo posible el conteo en la dilución 10⁻⁶ (Cuadro 9). En el CAM se encontró 7 *10⁻⁶ UFC/ g suelo, y en el CAN 12 *10⁻⁶ UFC/ g suelo. Aplicando la ecuación UFC TOTAL= N*F*10, donde N: Número de colonias, F: dilución, y 10: es factor de dilución; se encontró un total de 7 *10⁷ UFC/ g suelo en el CAM y 12 *10⁷ UFC/ g suelo para el CAN. Tal como como se observa en el Cuadro 9 el suelo de Macas presenta 4 tipos de colonias con un total de 7 *10⁷ UFC/ g sin embargo el suelo de Riobamba tuvo 2 tipos de colonias con un total de y 12 *10⁷ UFC/g indicando que Macas tiene mayor diversidad microbiológica pero Riobamba tiene más cantidad de microorganismos. Estos resultados podrían ser un factor que influya en el desempeño de las MFCs, debido a la competencia de los microorganismos por el sustrato y el espacio sobre el electrodo.

Cuadro 6. Recuento Inicial de comunidades bacterianas en Macas y Riobamba

MUESTRA	HETEROTROFOS TOTAL
SUELO DE MACAS	4 * 10 ⁻⁶ : Color naranja, con halo cremo, pigmento café, circular regular, convexa. 1 * 10 ⁻⁶ : Color crema, plana, circular irregular 1 * 10 ⁻⁶ : Color crema, plana, circular, regular. 1 * 10 ⁻⁶ : Color crema, plana, lobulada tipo nube.
SUELO DE RIOBAMBA	1 * 10 ⁻⁶ : Color naranja claro, circular, irregular, convexa. 11 * 10 ⁻⁶ : Color crema, plana, forma de frejol alargado, regular.

Fuente: Logroño W.

3.2.2 RECUESTO FINAL DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN MACAS Y RIOBAMBA

Se realizó el recuento de colonias después de 48-72 horas de incubación (36). Utilizando las técnicas descritas en el apartado 2.2.1.2.2 para los dos casos de estudio sin embargo cabe mencionar que para el CAM se muestreó el 18/09/2013 en envases estériles, manteniendo en cadena frío y almacenado bajo congelación hasta la inoculación el día 20/09/2013 en tanto que para el CAN el muestreo se realizó el 25/09/2013 inoculando el mismo día. Tal como se describe en el Cuadro 9, para el CAM se observó un crecimiento pronunciado después de 48 horas de incubación lo permitió realizar el conteo en los diferentes medios de crecimiento. Sin embargo para el CAN se evidencio crecimiento después de 72 horas de incubación y los resultados se presentan en el Cuadro 10. Los resultados de los análisis microbiológicos son altos en los medios enriquecidos con glucosa, leche, almidón para ambos casos de estudio pueden ser debido a la materia orgánica colocada al inicio de la experimentación, sin embargo podría explicarse el crecimiento en el agua debido a las relaciones antagónicas entre microorganismos y este podría ser un factor influyente en el desempeño de las MFC. A la vez el CAN presento menor crecimiento y no crecimiento en algunas réplicas en tanto que el CAM indicó un crecimiento alto, lo que sugiere menor actividad antagónica entre colonias y mayor homogeneidad en el CAN, en tanto que para el CAM ocurre lo opuesto, estableciendo así una posible relación e influencia del tipo de microorganismo sobre la eficiencia y estabilidad de las MFCs.

Cuadro 7. Recuento final de comunidades bacterianas en Macas

MUESTRA	HETEROTROFOS	AMILOLITICOS	GLUCOLITICOS	PROTEOLITICOS	RESISTENTES
V1-A	MNC	MNC	$4*10^{-6}$: Color verde claro, plano, crecimiento rizoidal. $8*10^{-6}$: Color verde claro, plano, circular irregular. $2*10^{-6}$: Color blanco, plana, ovoide irregular.	NC	$49*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular regular. $6*10^{-6}$: Color blanco, plano, forma de nube.
V1-B	MNC	MNC	$2*10^{-6}$: Color crema, convexa, circular irregular $1*10^{-6}$: Color crema con centro amarillo, circular irregular. $4*10^{-6}$: Color crema, plano, oblicua irregular. $1*10^{-6}$: Color blanco plano, ovoide irregular $27*10^{-6}$: Color verde, convexa, circular regular.	NC	$72*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular regular. $62*10^{-6}$: Color blanca, plano, rizoidal. $1*10^{-6}$: Color blanca transparente, plano, rizoidal, con halo.
V1-C	MNC	MNC	$1*10^{-6}$: Color blanco convexo, circular irregular $3*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular irregular.	NC	$30*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular irregular. $5*10^{-6}$: Color blanco, plano, forma de nube.
V2-A	MNC	MNC	$56*10^{-6}$: Color blanco, plana, circular regular.	NC	$5*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular regular. $48*10^{-6}$: Color transparente con centro blanco hueso, plano, circular irregular. $1*10^{-6}$: Color blanco, plano, ovoide regular.
V2-B	MNC	MNC	$1*10^{-6}$: Color blanco, convexo, circular regular.	NC	MDC
V2-C	MNC	MNC	$1*10^{-5}$: Color blanco, plano, rizoidal, forma de nube. $36*10^{-5}$: Color blanco hueso, plano, circular regular.	NC	$4*10^{-6}$: Color blanco, plano, diplococos. $2*10^{-6}$: Color blanco, plano, circular.
V3-A	MNC	MNC	MNC	NC	$5*10^{-6}$: Color blanco con centro transparente, plano, circular regular.

					$21 * 10^{-6}$: Color blanco hueso, plano, circular regular.
V3-B	MNC	MNC	MNC	NC	$5 * 10^{-6}$: Color blanco transparente, plano, nube. $2 * 10^{-6}$: Color crema, convexa, circular regular $1 * 10^{-6}$: Color blanco, plana, circular irregular.
V3-C	MNC	MNC	$3 * 10^{-6}$: Color blanco, plano, ovoide irregular. $2 * 10^{-6}$: Color blanco, plano, circular regular. $1 * 10^{-6}$: Color blanco hueso, plana, circular irregular. $1 * 10^{-6}$: Color blanco, plano, circular regular. $1 * 10^{-6}$: Color blanco, convexa, circular regular.	NC	MDC

Fuente: Logroño W.

Cuadro 8. Recuento final de comunidades bacterianas Riobamba

MUESTRA	HETEROTROFOS	AMILOLITICOS	GLUCOLITICOS	PROTEOLITICOS	RESISTENTES
V1-A	1*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular regular. 3*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, puntiforme alargada regular.	10*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, circular regular.	27*10 ⁻⁶ : Color blanco, plana, puntiforme regular.	NC	NC
V1-B	1*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular regular. 3*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, puntiforme regular. 1*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular irregular.	10*10 ⁻⁶ : Color blanco transparente, plano, circular irregular. 4*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular regular.	8*10 ⁻⁶ : Color blanco, plana, puntiforme regular. 2*10 ⁻⁶ : Color blanco, plana, alargada regular.	NC	1*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, circular regular. 2*10 ⁻⁶ : Color blanca, plano, puntiforme irregular.
V1-C	1*10 ⁻⁶ : Color blanca, convexa, circular regular.	1*10 ⁻⁶ : Color crema, plano, circular regular. 1*10 ⁻⁶ : Color blanca, convexa, alargada regular.	5*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, circular regular. 7*10 ⁻⁶ : Color blanco, convexa, circular irregular.	NC	NC
V2-A	59*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular regular. 1*10 ⁻⁶ : Color crema, plana, oblicua irregular.	7*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, circular regular.	131*10 ⁻⁶ : Color blanco, plana, circular regular.	NC	2*10 ⁻⁶ : Color blanco transparente, plano, circular irregular. 6*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, puntiforme regular.
V2-B	3*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, puntiforme circular regular. 3*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, puntiforme alargada regular.	14*10 ⁻⁶ : Color blanco hueso, plano, circular regular. 1*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, circular regular irregular con borde puntiforme	19*10 ⁻¹⁰ : Color blanco, plana, puntiforme circular alargada.	NC	3*10 ⁻⁶ : Color blanco, plano, puntiforme regular.
V2-C	1*10 ⁻⁶ : Color crema con centro amarillo, convexa, circular regular. 2*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana, circular regular. 10*10 ⁻⁶ : Color blanca, plana,	21*10 ⁻⁶ : Color crema transparente, plano, circular regular.	23*10 ⁻¹⁰ : Color blanco transparente, plana, circular irregular.	NC	NC

	puntiforme alargada regular. $1*10^{-6}$: Color blanca, plana, alargada regular.				
V3-A	$3*10^{-6}$: Color crema amarillo, convexa, circular regular. $3*10^{-6}$: Color blanca, plana, puntiforme regular.	$1*10^{-6}$: Color blanca, plana, circular regular.	$9*10^{-6}$: Color blanca, convexa, circular regular, $150*10^{-6}$: Color blanca, plana, ovoide irregular. $25*10^{-10}$: Color blanco, plana, puntiforme circular regular.	NC	$10*10^{-10}$: Color blanco, plano, alargada regular. $12*10^{-10}$: Color blanco, plano, puntiforme regular.
V3-B	$2*10^{-6}$: Color crema, convexa, circular regular. $1*10^{-6}$: Color blanca, plana, circular irregular. $6*10^{-6}$: Color blanca, plana, puntiforme alargada regular.	$8*10^{-6}$: Color blanca, plana, circular regular con borde puntiforme. $2*10^{-6}$: Color blanca, plana, alargada irregular.	$2*10^{-6}$: Color blanca, plana, circular regular, $46*10^{-6}$: Color blanca, plana, puntiforme circular regular. $1*10^{-10}$: Color blanco transparente, plana, ovoide regular.	NC	$1*10^{-6}$: Color blanco, plano, puntiforme regular.
V3-C	$7*10^{-6}$: Color blanca, plano, puntiforme alargado irregular.	$1*10^{-6}$: Color blanca, plana, circular regular.	$1*10^{-10}$: Color blanco, plano, alargada regular. $7*10^{-10}$: Color blanco crema, plano, puntiforme alargada. $23*10^{-10}$: Color blanco, plana, puntiforme circular regular. $1*10^{-10}$: Color blanco transparente, plano, circular regular.	NC	$3*10^{-6}$: Color blanco, plano, puntiforme circular regular. $1*10^{-6}$: Color blanco, plano, puntiforme alargada regular.

Fuente: Logroño W.

3.2.3 RESUMEN MICROBIOLÓGICO

Cuadro 9. Resumen Microbiológico

Réplica	Tipo de medio	UFC total
V1-A-R	PCA	$4 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$27 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$10 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	NC
V1-B-R	PCA	$5 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$10 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$14 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$3 \cdot 10^{-6}$
V1-C-R	PCA	$1 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$12 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$2 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	NC
V2-A-R	PCA	$60 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	131
	Almidón	$7 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$8 \cdot 10^{-6}$
V2-B-R	PCA	$6 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$19 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$15 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$3 \cdot 10^{-6}$
V2-C-R	PCA	$14 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$23 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$21 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	NC
V3-A-R	PCA	$6 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$184 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$1 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$22 \cdot 10^{-6}$
V3-B-R	PCA	$9 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$49 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$10 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$1 \cdot 10^{-6}$
V3-C-R	PCA	$7 \cdot 10^{-6}$
	Glucosa	$32 \cdot 10^{-6}$
	Almidón	$1 \cdot 10^{-6}$
	Leche	NC
	Agua	$4 \cdot 10^{-6}$
V1-A-M	PCA	MNC

	Glucosa	14*10 ⁻⁶	
	Almidón	MNC	
	Leche	NC	
	Agua	55*10 ⁻⁶	
V1-B-M	PCA	MNC	
	Glucosa	35*10 ⁻⁶	
	Almidón	MNC	
	Leche	NC	
	Agua	135*10 ⁻⁶	
	V1-C-M	PCA	MNC
		Glucosa	4*10 ⁻⁶
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	35*10 ⁻⁶	
	V2-A-M	PCA	MNC
		Glucosa	56*10 ⁻⁶
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	54*10 ⁻⁶	
	V2-B-M	PCA	MNC
		Glucosa	1*10 ⁻⁶
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	MNC	
	V2-C-M	PCA	MNC
		Glucosa	37*10 ⁻⁵
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	6*10 ⁻⁶	
	V3-A-M	PCA	MNC
		Glucosa	MNC
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	5*10 ⁻⁶	
	V3-B-M	PCA	MNC
		Glucosa	MNC
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	8*10 ⁻⁶	
	V3-C-M	PCA	MNC
		Glucosa	8*10 ⁻⁶
		Almidón	MNC
Leche		NC	
	Agua	MNC	

Fuente: Logroño W.

3.3 BIOELECTRICIDAD PRODUCIDA EN SISTEMAS MFCs PARA EL CAM Y EL CAN

El tiempo de monitoreo cambia en investigaciones revisadas; 21 días (50), alrededor de 60 días (15), 6 meses (9), 3 meses (60). La producción de bioelectricidad se registró utilizando un multímetro (Digital Multímetro DT-832), en todas las réplicas para la Amazonía y los Andes durante 171 días. De las matrices de datos presentadas en los ANEXOS 9, 10, 11, 12,13 y14. Se realizó una modificación a las matrices de V3M,V2M,V1M, V3R, V2R Y V1R, suprimiendo los datos faltantes para hacer las gráficas, debido a los errores logísticos en la recolección de los datos de bioelectricidad ,con el fin de observar el comportamiento bioeléctrico de cada tratamiento en ambos casos de estudio.

Se representa los valores del análisis de correlación entre la temperatura instantánea ambiental y las réplicas de cada tratamiento del CAM y el CAN, pero no se toma en cuenta en el análisis debido a que los valores son pequeños y no existe correlación entre la producción bioeléctrica y la temperatura instantánea. La temperatura es factor que afecta al rendimiento de las MFCs (48).

Los resultados de ANOVA sugieren hacer un análisis por cada lugar de estudio debido a que la comparación de los factores de estudio de toda la experimentación indica que son estadísticamente diferentes (Cuadro 15). La prueba de Tukey del análisis global, mostró que la producción de bioelectricidad es estadísticamente diferente respecto al tamaño sugiriendo al pequeño como el mejor como se observa en el Cuadro 15, sin embargo con se mencionó anteriormente se debería realizar un análisis por cada lugar.

Cuadro 10. Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
REPETICION	1	A	888
	2	B	887
	3	C	888
TAMAÑO	21	PEQUEÑO	887
	22	MEDIANO	888
	23	GRANDE	888
LUGAR	41	RIOBAMBA	1494
	42	MACAS	1169

Fuente: Logroño W.

Cuadro 11. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	26635606.372(a)	17	1566800.375	193.425	.000
Intersección	124555865.291	1	124555865.291	15376.701	.000
REPETICION	941146.987	2	470573.494	58.093	.000
TAMAÑO	3631980.451	2	1815990.225	224.188	.000
LUGAR	10621562.514	1	10621562.514	1311.256	.000
REPETICION * TAMAÑO	3595722.058	4	898930.515	110.975	.000
REPETICION * LUGAR	911546.017	2	455773.009	56.266	.000
TAMAÑO * LUGAR	7106963.553	2	3553481.776	438.685	.000
REPETICION * TAMAÑO * LUGAR	735905.710	4	183976.427	22.712	.000
Error	21425289.698	2645	8100.299		
Total	183649253.770	2663			
Total corregida	48060896.070	2662			

Fuente: Logroño W.

Cuadro 12. DHS de Tukey

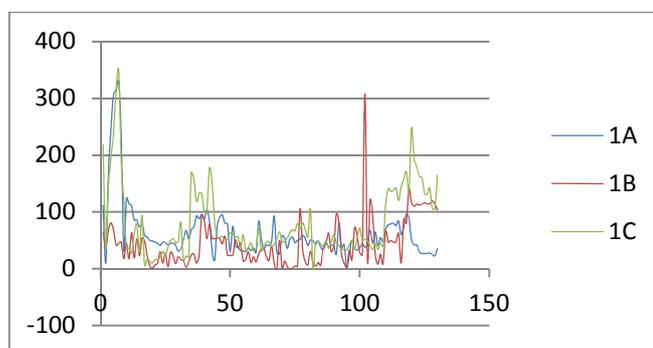
TAMAÑO	N	Subconjunto		
		2	3	1
GRANDE	888	182.8345		
MEDIANO	888		234.8358	
PEQUEÑO	887			259.3025
Significación		1.000	1.000	1.000

Fuente: Logroño W.

3.3.1 MACAS

3.3.1.1 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V1M

Gráfico 1. Análisis de bioelectricidad tratamiento V1M



Fuente: Logroño W.

Cuadro 13. Coeficiente de correlación

	1A	1B	1C	T INST
1A	1,00			
1B	0,07	1,00		
1C	0,61	0,39	1,00	
T INST	0,01	-0,18	-0,24	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 14. Resumen estadístico

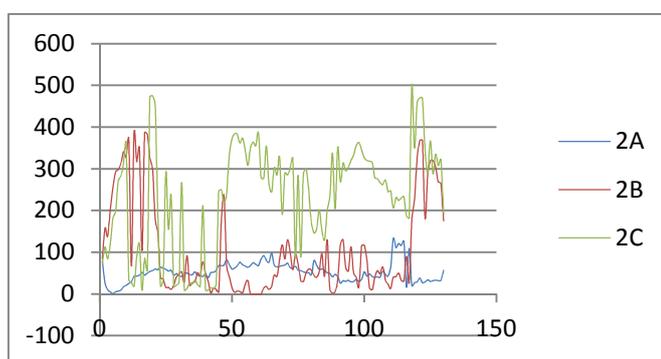
1A		1B		1C		T INST	
Media	63,37	Media	43,87	Media	79,96	Media	22,21
Error típico	4,54	Error típico	3,66	Error típico	5,45	Error típico	0,15
Mediana	48,50	Mediana	30,50	Mediana	53,50	Mediana	22,00
Moda	41,00	Moda	10,00	Moda	36,00	Moda	22,00
Desviación estándar	51,80	Desviación estándar	41,71	Desviación estándar	62,10	Desviación estándar	1,74
Mínimo	1,00	Mínimo	0,00	Mínimo	0,00	Mínimo	17,00
Máximo	330,00	Máximo	308,00	Máximo	349,00	Máximo	27,00
Suma	8238,00	Suma	5703,00	Suma	10395,00	Suma	2886,80
Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00

Fuente: Logroño W.

Como se describe en el Cuadro 13 se realizó el análisis de coeficiente de correlación para el tratamiento V1M, la réplica 1A y 1B no están correlacionados, 1A y 1C están correlacionados, 1B y 1C tienen una correlación baja. En el Cuadro 14 la réplica 1C presenta el valor medio más alto de 79,96 mV, con el valor máximo de 349 mV, y mínimo de 0 mV.

3.3.1.2 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V2M

Gráfico 2. Análisis de bioelectricidad tratamiento V2M



Fuente: Logroño W.

Cuadro 15. Coeficiente de correlación

	2A	2B	2C	T INST
2A	1,00			
2B	-0,48	1,00		
2C	0,00	0,12	1,00	
T INST	0,04	0,01	-0,09	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 16. Resumen estadístico

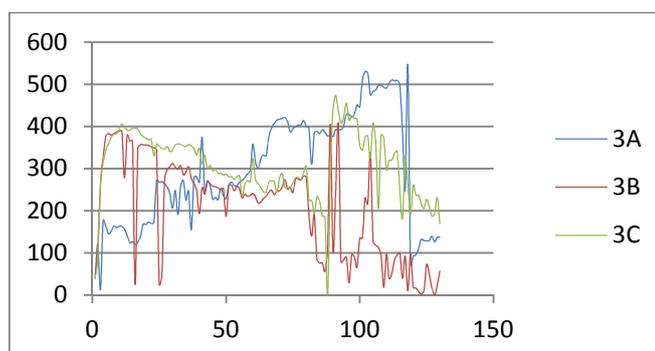
2A		2B		2C		T INST	
Media	52,26	Media	105,90	Media	233,26	Media	22,21
Error típico	2,09	Error típico	10,00	Error típico	11,25	Error típico	0,15
Mediana	51,00	Mediana	52,00	Mediana	264,50	Mediana	22,00
Moda	68,00	Moda	0,00	Moda	9,00	Moda	22,00
Desviación estándar	23,85	Desviación estándar	114,07	Desviación estándar	128,28	Desviación estándar	1,74
Mínimo	1,00	Mínimo	0,00	Mínimo	9,00	Mínimo	17,00
Máximo	133,00	Máximo	387,00	Máximo	500,00	Máximo	27,00
Suma	6794,00	Suma	13767,00	Suma	30323,40	Suma	2886,80
Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00

Fuente: Logroño W.

En el cuadro 15 muestra el análisis de coeficiente de correlación para el tratamiento V2M, la réplica 2A y 2B están correlacionados negativamente, 2A y 2C no están correlacionados con, 2B y 2C tiene una correlación muy baja. El Cuadro 16 indica que la réplica 2C presenta el valor medio más alto de 233,26 mV, con el valor máximo de 500,00 mV, y mínimo de 9,00mV.

3.3.1.3 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V3M

Gráfico 3. Análisis de bioelectricidad tratamiento V3M



Fuente: Logroño W.

Cuadro 17. Coeficiente de correlación

	3A	3B	3C	T INST
3A	1,00			
3B	-0,22	1,00		
3C	0,12	0,36	1,00	
T INST	-0,17	0,35	0,23	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 18. Resumen estadístico

3A		3B		3C		T INST	
Media	296,55	Media	206,05	Media	305,59	Media	22,21
Error típico	11,42	Error típico	10,24	Error típico	6,98	Error típico	0,15
Mediana	272,00	Mediana	242,00	Mediana	306,00	Mediana	22,00
Moda	163,00	Moda	18,00	Moda	357,00	Moda	22,00
Desviación estándar	130,20	Desviación estándar	116,71	Desviación estándar	79,56	Desviación estándar	1,74
Mínimo	13,00	Mínimo	0,00	Mínimo	0,00	Mínimo	17,00
Máximo	545,00	Máximo	405,00	Máximo	474,00	Máximo	27,00
Suma	38552,00	Suma	26787,00	Suma	39727,00	Suma	2886,80
Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00	Cuenta	130,00

Fuente: Logroño W.

Realizando el análisis de coeficiente de correlación como se muestra en el Cuadro 17, para el tratamiento V3M, la réplica 3A y 3B tiene una correlación baja, 3A y 3C no están correlacionados, 3B y 3C tiene una correlación baja. El Cuadro 18 muestra que la réplica 3C presenta el valor medio más alto de 305,59 mV, con el valor máximo de 474,00 mV, y mínimo de 0,00 mV.

3.3.1.4 DISCUSIÓN

Tanto en V1M como V2M representan la correspondencia de valor medio más alto con el máximo más alto en la misma réplica, excepto en el V3R que la media más alta corresponde a la réplica 3C, pero el máximo más alto corresponde a la réplica 3A con

545,00 mV. La réplica 1C de V1M, 2C de V2M y 3C de V3M, representan el valor medio más alto. En el CAM el máximo voltaje experimental obtenido fue 545,00 mV en la réplica 3A, de V3M.

Se analizó los tratamientos del CAM, realizando la codificación de los datos de acuerdo a los requerimientos (Cuadro 23). En el Cuadro 24 se muestra la probabilidad es menor que 0,05 por tanto la producción bioeléctrica es estadísticamente diferente del tamaño y la repetición. Por esta razón se realizó la prueba de Tukey tanto para el factor tamaño (Ver Cuadro 25) como para la repetición de cada tamaño (Ver Cuadro 26). El DHS de Tukey (Cuadro 25), muestra que existen diferencias significativas entre las repeticiones de cada tamaño de la producción de bioelectricidad. La repetición C muestra mayor producción con 206.2703 mV. La prueba de Tukey indica (Cuadro 26) que existe diferencias significativas en la producción de bioelectricidad entre los tamaños de cada celda sugiriendo al menor tamaño de celda pequeño con la mayor producción de bioelectricidad con 270.0925 mV.

Cuadro 19. Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
REPETICION	1	A	390
	2	B	389
	3	C	390
TAMAÑO	21	PEQUEÑO	389
	22	MEDIANO	390
	23	GRANDE	390

Fuente: Logroño W.

Cuadro 20. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	11820651.289(a)	8	1477581.411	177.426	.000
Intersección	27820569.464	1	27820569.464	3340.658	.000
REPETICION	1645691.251	2	822845.625	98.806	.000
TAMAÑO	8716380.253	2	4358190.127	523.326	.000
REPETICION * TAMAÑO	1445991.380	4	361497.845	43.408	.000
Error	9660331.266	1160	8327.872		
Total	49285247.760	1169			
Total corregida	21480982.555	1168			

Fuente: Logroño W.

Cuadro 21. DHS de Tukey

REPETICION	N	Subconjunto		
		2	3	1
B	389	118.9126		
A	390		137.3949	
C	390			206.2703
Significación		1.000	1.000	1.000

Fuente: Logroño W.

Cuadro 22. DHS de Tukey

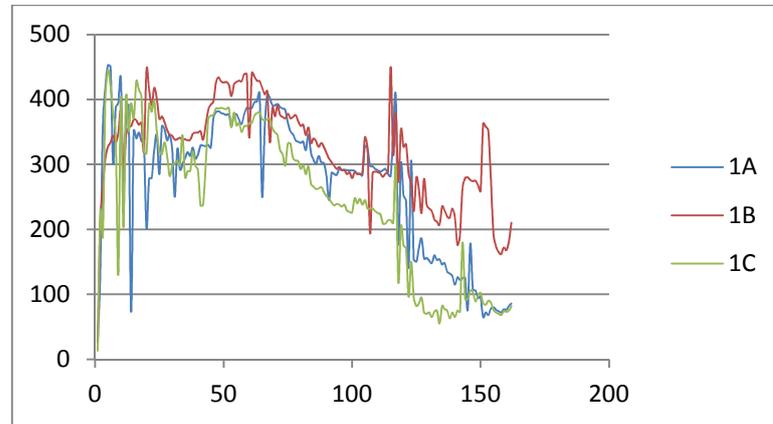
TAMAÑO	N	Subconjunto		
		2	3	1
GRANDE	390	62.4000		
MEDIANO	390		130.4728	
PEQUEÑO	389			270.0925
Significación		1.000	1.000	1.000

Fuente: Logroño W.

3.3.2 RIOBAMBA

3.3.2.1 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V1R

Gráfico 4. Análisis de bioelectricidad tratamiento V1R



Fuente: Logroño W.

El Gráfico 4 muestra que los datos son más homogéneos, 1A y 1B tienen una correlación de 0,75, 1A y 1C 0,87, 1B y 1C 0,82 como se describe en el cuadro 27, presentando en todas una correlación alta. El comportamiento inestable en todas las réplicas hasta el día 30 aproximadamente, mientras que desde el día 30 el comportamiento de los datos en las tres réplicas es similar y con menor presencia de picos hasta el día 120 aproximadamente. Desde 120 a 130 aproximadamente en las 3 réplicas se evidencia picos. Desde 130 a 140 aproximadamente las gráficas se separan pero se comportan de la misma manera. La réplica 1B presenta la mayor producción seguido de 1A y por último 1C.

Cuadro 23. Coeficiente de correlación

	1A	1B	1C	T INST
1A	1,00			
1B	0,75	1,00		
1C	0,87	0,82	1,00	
T INST	0,13	0,02	0,14	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 24. Resumen estadístico

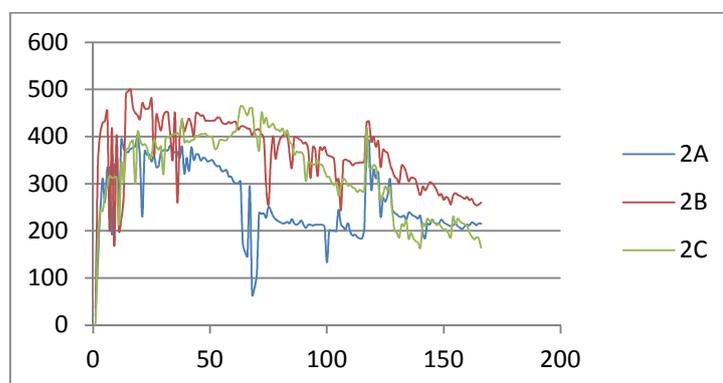
1A		1B		1C		T INST	
Media	269,94	Media	318,24	Media	243,27	Media	17,43
Error típico	8,51	Error típico	6,08	Error típico	9,07	Error típico	0,17
Mediana	301,00	Mediana	334,00	Mediana	254,50	Mediana	17,00
Moda	291,00	Moda	327,00	Moda	298,00	Moda	18,00
Desviación estándar	109,61	Desviación estándar	78,37	Desviación estándar	116,88	Desviación estándar	2,20
Mínimo	30,80	Mínimo	25,30	Mínimo	13,00	Mínimo	10,00
Máximo	453,00	Máximo	450,00	Máximo	445,00	Máximo	24,00
Suma	44809,70	Suma	52828,30	Suma	40383,00	Suma	2893,50
Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00

Fuente: Logroño W.

Como se observa en el cuadro 27 se realizó el análisis de coeficiente de correlación para el tratamiento V1R, la réplica 1A y 1B tiene una correlación alta, 1A y 1C están correlacionados, 1B y 1C están correlacionados. El Cuadro 28 muestra que la réplica 1B presenta el valor medio más alto de **318,24 mV**, con el valor máximo de **450,00 mV**, y mínimo de **25,30 mV**.

3.3.2.2 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V2R

Gráfico 5. Análisis de bioelectricidad tratamiento V2R



Fuente: Logroño W.

El comportamiento de los datos de 2A y 2B, indican una correlación de 0,51 (Cuadro 29) debido a la forma de las gráficas, pero 2B presenta valores más altos como se observa en el Gráfico 5. La réplica 2A y 2C tiene una correlación de 0,43 (Cuadro 29), hasta el día 30 tienen un comportamiento similar es decir su producción aumenta con el tiempo, de ahí en adelante 2C mantiene valores más altos y menos variables hasta el día 120 aproximadamente mientras que 2A mantiene mayor variabilidad y valores más bajos. Hasta el día 120 aproximadamente 2A y 2B aumentan su producción y su comportamiento es similar hasta el final de la experimentación. 2B y 2C tiene una correlación alta de (Ver Cuadro 29) y se evidencia por el comportamiento de los datos que es bastante similar. La réplica 2A y 2B presentan un comportamiento más inestable con picos, mientras que 2C presenta un comportamiento más controlado. La réplica 2B inicia alto y termina más alto, 2C inicia alto y termina más bajo que todos.

Cuadro 25. Coeficiente de correlación

	2A	2B	2C	T INST
2A	1,00			
2B	0,51	1,00		
2C	0,43	0,72	1,00	
T INST	0,10	0,11	0,05	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 26. Resumen estadístico

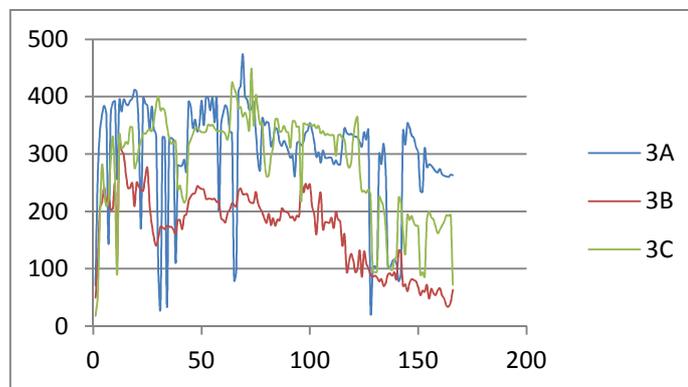
2A		2B		2C		T INST	
Media	262,83	Media	364,50	Media	322,36	Media	17,43
Error típico	5,83	Error típico	5,76	Error típico	6,82	Error típico	0,17
Mediana	232,00	Mediana	377,50	Mediana	340,50	Mediana	17,00
Moda	213,00	Moda	401,00	Moda	401,00	Moda	18,00
Desviación estándar	75,11	Desviación estándar	74,18	Desviación estándar	87,90	Desviación estándar	2,20
Mínimo	18,70	Mínimo	36,50	Mínimo	2,50	Mínimo	10,00
Máximo	403,00	Máximo	500,00	Máximo	464,00	Máximo	24,00
Suma	43630,00	Suma	60507,50	Suma	53512,30	Suma	2893,50
Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00

Fuente: Logroño W.

El análisis de coeficiente de correlación para el tratamiento V2R (Ver Cuadro 29) indica que la réplica 2A y 2B están correlacionados, 2A y 2C tiene una correlación media, 2B y 2C tiene correlación alta. EL Cuadro 30 indica que la réplica 2B presenta el valor medio más alto de **364,50 mV**, con el valor máximo de **500,00 mV**, y mínimo de **36,50mV**.

3.3.2.3 ANALISIS DE BIOELECTRICIDAD TRATAMIENTO V3R

Gráfico 6. Análisis de bioelectricidad tratamiento V3R



En el Gráfico 6 se observa la presencia que picos y este comportamiento de los datos de bioelectricidad dificulta el análisis del Gráfico 6. A pesar del comportamiento bastante inestable 3A y 3B tiene una correlación de 0,45 (Cuadro 31), 3A y 3C tiene 0,42 (Cuadro 31). Las réplicas 3B y 3C tienen una correlación alta de 0,72 como describe el Cuadro 31, las gráficas son diferentes en cantidad ya que la réplica 3C tiene mayor producción pero el comportamiento de los datos es similar. Sin embargo los datos de bioelectricidad la réplica 3B indican más estabilidad, inicia bajo en producción, tiende a subir en el tiempo y decrece paulatinamente pero de una forma menos variable y constante.

Cuadro 27. Coeficiente de correlación

	3A	3B	3C	T INST
3A	1,00			
3B	0,45	1,00		
3C	0,42	0,72	1,00	
T INST	0,13	0,15	0,02	1,00

Fuente: Logroño W.

Cuadro 28. Resumen estadístico

3A		3B		3C		T INST	
Media	302,73	Media	167,87	Media	282,02	Media	17,43
Error típico	6,95	Error típico	5,20	Error típico	6,99	Error típico	0,17
Mediana	324,00	Mediana	185,00	Mediana	325,00	Mediana	17,00
Moda	321,00	Moda	205,00	Moda	340,00	Moda	18,00
Desviación estándar	89,59	Desviación estándar	66,97	Desviación estándar	90,03	Desviación estándar	2,20
Mínimo	28,00	Mínimo	34,00	Mínimo	18,00	Mínimo	10,00
Máximo	474,00	Máximo	322,00	Máximo	449,00	Máximo	24,00
Suma	50252,80	Suma	27866,70	Suma	46815,80	Suma	2893,50
Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00	Cuenta	166,00

Fuente: Logroño W.

El coeficiente de correlación para el tratamiento V3R (Ver cuadro 31) indica una correlación media entre las réplica 3A-3B y 3A-3C, mientras 3B y 3C tiene correlación alta. La réplica 3A presenta el valor medio más alto de **302,73 mV**, con el valor máximo de **474,00 mV**, y mínimo de **28,00mV** como se observa en el Cuadro 32.

3.3.2.4 DISCUSIÓN

V3R representa a la réplica 3A la correspondencia de valor medio más alto con el máximo valor más alto (Cuadro 28), V2R representa a la réplica 2B la correspondencia de valor medio más alto con el máximo valor más alto (Cuadro 26), V1R representa a la réplica 1B con la más alta media y la Replica 1A con el máximo valor más alto

(Cuadro 24). La réplica 1B de V1R y 2B de V2R, representan el valor medio más alto, excepto en V3R que el valor medio más alto representa la réplica 3A. En el CAN el máximo voltaje experimental obtenido fue 500 mV en la réplica 2B, de V2M.

Se analizó los tratamientos del CAN, la codificación de los datos se realizó de acuerdo a los requerimientos (Cuadro 33). El cuadro 34 muestra que la probabilidad es de 0.639 indicando que no existen diferencias significativas entre las repeticiones de cada tamaño por tanto no se realizó la prueba de Tukey para escoger la mejor réplica, pero la probabilidad es menor que 0,05 entre tamaños mostrando que existen diferencias significativas entre ellos (Cuadro 34). En el Cuadro 34, muestra una probabilidad menor a 0,05 indicando que existen diferencias significativas en la producción de bioelectricidad entre los tamaños de las MFCs. La prueba de Tukey mostro que el mejor tratamiento es el intermedio (Ver cuadro 35) sin importar la réplica porque son estadísticamente iguales (Ver Cuadro 34). Sin embargo el tamaño de celda mediano indica la mayor producción de bioelectricidad con 316.5659 mV.

Cuadro 29. Factores inter-sujetos

		Etiqueta del valor	N
REPETICION	1	A	498
	2	B	498
	3	C	498
TAMAÑO	21	PEQUEÑO	498
	22	MEDIANO	498
	23	GRANDE	498

Fuente: Logroño W.

Cuadro 30. ANOVA Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	4185733.416(a)	8	523216.677	66.042	.000
Intersección	118413314.162	1	118413314.162	14946.400	.000
REPETICION	7105.970	2	3552.985	.448	.639
TAMAÑO	1088864.688	2	544432.344	68.719	.000
REPETICION * TAMAÑO	3089762.757	4	772440.689	97.499	.000
Error	11764958.432	1485	7922.531		
Total	134364006.010	1494			
Total corregida	15950691.849	1493			

Fuente: Logroño W.

Cuadro 31. DHS de Tukey

TAMAÑO	N	Subconjunto		
		2	3	1
PEQUEÑO	498	250.8741		
GRANDE	498		277.1506	
MEDIANO	498			316.5659
Significación		1.000	1.000	1.000

Fuente: Logroño W.

3.4 COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Las hipótesis se describieron en el apartado 2.4.2, para el CAM del análisis estadístico realizado en el apartado 3.3.1.4, mostro una probabilidad menor a 0,05 indicando que existen diferencias significativas entre los tamaños de MFC. Por tanto se rechaza H_0 concluyendo que el factor tamaño influye en la cantidad de bioelectricidad. Se realizó la prueba de medias (Cuadro 26) indicando que el menor tamaño de MFC tiene la mayor producción de bioelectricidad, con 270.0925 mV.

Para el CAN el análisis estadístico realizado en el 3.3.2.4 mostro una probabilidad menor a 0,05 expresando que existen diferencias significativas entre tamaños de MFC por tanto se rechaza H_0 concluyendo que el factor tamaño influye en la cantidad de bioelectricidad. La prueba de comparación de medias (Cuadro 35) indica que el mejor tratamiento es el mediano sin importar la réplica porque son estadísticamente iguales (Ver Cuadro 34).

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

- A. El suelo cumplió con las características físicas y químicas mostrando similitud en parámetros como pH, (%M.O), (C.E.), NH₄; diferencias en P, K, CaO, MgO, Rel.C/N, %H en los dos casos de estudio, mostrando estos suelos inactividad antrópica. Encontrándose para la región andina está en el páramo de Pichan Central: 763143E, 9833826 N y para la región amazónica en la Comunidad Kaiptach: 263787 E, 9708162 N.
- B. Se desarrolló 9 MFC de 3 diferentes tamaños, con tres repeticiones respectivamente considerando volúmenes de 20 L, 12 L y 4 L, tomando la aplicabilidad en campo determinando que en CAN el de 12 L tiene mejor rendimiento de bioelectricidad y para el CAM el de 4 L.
- C. Utilizando un multímetro se registró la producción bioeléctrica diaria tanto en el CAN como en el CAM, por cada tratamiento y réplica en mili voltios (mV), constatando que en ambos casos existen bacterias electrogénicas capaces de producir bioelectricidad. El CAM representa los siguientes valores medios de cada tratamiento y réplica: **V1-A-M:** 63,36 mV; **V1-B-M:** 43,86 mV; **V1-C-M:** 79,96 mV; **V2-A-M:** 52,26 mV; **V2-B-M:** 105,9 mV, **V2-C-M:** 233,25 mV; **V3-A-M:** 296,55 mV; **V3-B-M:** 207,04 mV; **V3-C-M:** 305,59 mV y el CAN: **V1-A-M:** 269,93 mV; **V1-B-M:** 318,24 mV; **V1-C-M:** 243,27 mV; **V2-A-M:** 262,83 mV; **V2-B-M:** 364,50 mV, **V2-C-M:** 322,36 mV; **V3-A-M:** 302,72 mV; **V3-B-M:** 167,8717 mV; **V3-C-M:** 282,02 mV.

- D. La prueba de comparación de medias indicó que existen diferencias significativas entre la producción de bioelectricidad de acuerdo al tamaño de celda, lugar, y repetición, en ambos casos de estudio, en ANDES sugirió como mejor tratamiento al Intermedio, con 316,5659mV sin embargo en la AMAZONÍA al Pequeño, con 270,0925mV de acuerdo a la escala manejada en este estudio, además mostro la influencia de los parámetros ambientales sobre el rendimiento de bioelectricidad en relación al volumen de MFC en cada ecosistema.
- E. Se identificó la presencia de las bacterias directa o indirectamente relacionadas en la producción de bioelectricidad en sistemas MFC tanto en el CAM como en el CAN utilizando medios enriquecidos con glucosa, almidón, leche y un medio pobre lo que indicó la heterogeneidad, preferencia por el tipo de sustrato y relaciones simbióticas entre colonias, estableciendo así una posible relación e influencia del tipo de microorganismo sobre la eficiencia y estabilidad de las MFCs. Además que los resultados altos de UFC puede deberse a la adición de materia orgánica en la experimentación lo que favoreció el crecimiento microbiano.

RECOMENDACIONES

- A. Analizar distintas relaciones de la matriz orgánica que es utilizada como sustrato por los microorganismos electrogénicos, para determinar la influencia sobre la producción de bioelectricidad.
- B. Recolectar datos de pH, Temperatura interna y bioelectricidad del sistema, usando un Data Loguer, para analizar las relaciones entre estos parámetros debido a que son parámetros de interés en el entendimiento y desarrollo de sistemas MFCs.
- C. Muestrear en nuevas zonas de humedales alto andino para ampliar la colección de bacterias electrogénicas.
- D. Realizar caracterizaciones moleculares de las bacterias involucradas en procesos electrogénicos en los distintos ambientes del Ecuador para desarrollar un inóculo eficiente.

CAPITULO V

BIBLIOGRAFÍA

1. **ATLAS, R. y BARTHA, R.**, Ecología microbiana y microbiología ambiental., Madrid., España., PEARSON EDUCACIÓN.S.A., 2002.

2. **CASTILLO, F. y ROLDÁN, M.**, Bioenergética microbiana. Biotecnología Ambiental., Madrid., España., s.edt., 2005., P.p., 65-93.

E-book:

<http://books.google.com.ec/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA65&lpg=PA65&dq=Bioenerg%C3%A9tica+microbiana>.

3. **FLORES, D.**, Guía Práctica No. 2 Para el aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos., Quito Ecuador., s.edt., 2001., P.p., 8-12.

4. **GALLEGOS, J.**, AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE ENZIMAS., MANUAL DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL., Riobamba., Ecuador., ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.FACULTAD DE CIENCIAS., 2012., P.p., 1-10

5. **PRESCOTT, L., Y OTROS.**, Microbiología., Madrid., España., McGRAW-HILL-INTERAMERICANA DE ESPAÑA., S.A. U., 2002., P.p., 35-73.

6. **BOND, D., Y LOVLEY, D.**, Revista Científica: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY., Electricity Production by *Geobacter sulfurreducens* Attached to Electrodes., 2003., P.p., 1548–1555 .

7. **BOND, D., Y OTROS.,** Revista Científica: Science., Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments., 2002., P.p., 295: 483-485.

8. **CALL, D., WAGNER, R., Y LOGAN, B.,** Revista Científica: APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY., Hydroge Production by Geobacter Species and a Mixed Consortium in a Microbial Electrolysis Cell., Vol. 75-24., 2009., P.p., 7579– 7587 .

9. **CRISTIANI, P., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioelectrochemistry., Cathodic and anodic biofilms in Single Chamber Microbial Fuel Cells., 2013., P.p., 92:6–13.

10. **CHAI, L., Y OTROSI.,** Revista Científica: International Food Research Journal., Performance of air-cathode microbial fuel cell with wood charcoal as electrodes., 2010, P.p., 17: 485-490.

11. **CHANG , I., S., Y OTROS.,** Revista Científica: Biosens. Bioelectron., Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor., 2004., P.p., 19: 607-613

12. **CHANG, I., S., Y OTROS.,** Revista Científica: J. Microbiol. Biotechnol., Electrochemically Active Bacteria (EAB) and Mediator-Less Microbial., 2006., P.p., 163-177.

13. **CHENG , S., LIU, H. Y LOGAN, B.,** Revista Científica: Environ Sci Technol., Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells., 2006., P.p., 40: 364-369.

14. **CHENG , S., LIU, H. Y LOGAN, B.,** Revista Científica: Electrochem. Commun., Increased performance of single chamber microbial fuel cells using an improved cathode structure. 2006., P.p., 8: 489-494.

15. **CHENG, S. Y WU, J.**, Revista Científica: Bioelectrochemistry., Air-cathode preparation with activated carbon as catalyst, PTFE as binder and nickel foam as current collector for microbial fuel cells., 2013., P.p., 92:22–26.
16. **CUNALATA, C., Y OTROS.**, Bol. Grupo Español Carbón., Determinación de carbono orgánico total presente en el suelo y la biomasa de los páramos de las comunidades de chimborazo y shobol llinllin en Ecuador., 2013., P.p., 27:10-13.
17. **DU, Z., Y OTROS.**, Revista Científica: Biotechnol. Adv., A estate of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy., 2007., P.p., 25: 464-482.
18. **FALCÓN, Y OTROS.**, Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Mexico., 2009. VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras.

19. **FANGZHOU, D., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource Technology., Continuous flowing membraneless microbial fuel cells with separated electrode chambers., 2011., P.p., 102:8914–8920.
20. **FENG, C., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource Technology., A decentralized wastewater treatment system using microbial fuel cell techniques and its response to a copper shock load., 2013., P.p., 143:76–82.
21. **FRANKS, A., E., Y OTROS.,** Revista Científica: Biofuels., Bacterial biofilms: the powerhouse of a microbial fuel cell., 2010., P.p., 1:589–604.
22. **GAJDA, I., Y OTROS.,** Revista Científica: International Journal Of Hydrogen Energy., Photosynthetic cathodes for Microbial Fuel Cells., 2013., P.p., 30:1-6.

23. **GHASEMI, M., Y OTROS.,** Revista Científica:
INTERNATIONAL JOURNAL OF HYDROGEN
ENERGY., Copper-phthalocyanine and nickel
nanoparticles as novel cathode catalysts in
microbial fuel cells., 2013., P.p., 38 :9533-
9540.
24. **GIL, G., C., Y OTROS.,** Revista Científica: Biosens.
Bioelectron., Operational parameters affecting the
performance of a mediator-less microbial fuel
cell., 2003., P.p., 18: 327-334.
25. **GREGORY, K., Y LOVLEY, D.,** Revista Científica: Environ.
Sci. Technol., Remediation and recovery of
uranium from contaminated subsurfaces
environments with electrodes., 2005., P.p., 39:
8943-8947.
26. **GREGORY, K., Y OTROS.,** Revista Científica: Environ
Microbiol., Graphite electrodes as electron donors
for anaerobic respiration., 2004., P.p., 6: 596-
604.

27. **HASSAN, S., Y OTROS.,** Revista Científica: Enzyme and Microbial Technology., Power generation from cellulose using mixed and pure cultures of cellulose-degrading bacteria in a microbial fuel cell., 2012., P.p., 51:269–273.
28. **HE, Z., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioelectrochemistry.,Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an air cathode microbial fuel cell., 2008., P.p., 74:78-82.
29. **HELDER, M., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource Technology.,Concurrent bio-electricity and biomass production in three Plant-Microbial Fuel Cells using *Spartina anglica*, *Arundinella anomala* and *Arundo donax*., 2010., P.p., 101:3541–3547.
30. **HOLMES, D., Y OTROS.,** Revista Científica: Microb. Ecol., Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments., 2004., P.p., 48:178- 190.

31. **HUANG, L., Y OTROS.,** Revista Científica:
Bioelectrochemistry., Bioanodes/biocathodes
formed at optimal potentials enhance subsequent
pentachlorophenol degradation and power
generation from microbial fuel cells., 2013.,
P.p., 94:13– 22.
32. **JIANG, Y., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource
Technology., Coupling bioelectricity generation
and oil sands tailings treatment using microbial
fuel cells., 2013., P.p., 139:349–354.
33. **JUANG, D., F., Y OTROS.,** Revista Científica: Biotechnol
Lett., Effects of microbial species, organic
loading and substrate degradation rate on the
power generation capability of microbial fuel
cells., 2011., P.p., 33:2147–2160.
34. **LEE , J., N., Y OTROS.,** Revista Científica: FEMS Microbiol
Lett., Use of acetate for enrichment of
electrochemically active microorganism and their
16s rDNA analyses., 2003., P.p., 223: 185-191.

35. **LIN, H. , Y OTROS.,** Revista Científica: biomass and bioenergy., Improved performance of microbial fuel cells enriched with natural microbial inocula and treated by electrical current., 2013., P.p., 54:170-180.
36. **LIU , H., Y OTROS.,** Revista Científica: Environ. Sci. Technol.,Power generation in fed- batch microbial fuel cell as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration., 2005., P.p., 39: 5488-5493.
37. **LIU, H., Y LOGAN, B., E.,** Revista Científica: Environ. Sci. Technol., Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane., 2004., P.p., 38: 4040-4046.
38. **LOGAN , B., E., Y REGAN , J., M.,** Revista Científica: Environ.Sci. Technol., Microbial fuel cells: Challenges and applications., 2006., P.p., 40: 5172- 5180.

39. **LOGAN , B., E., Y OTROS.,** Revista Científica: Environ Sci Technol.,Microbial fuel cells: methodology and technology., 2006., P.p., 40: 5181-92.
40. **LOVLEY, D., R.,** Revista Científica: Geobiol.,Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more., 2008., P.p., 6: 225- 231.
41. **MARTIN, E., Y OTROS.,** Revista Científica: J. Appl Electrochem., Electrochemical characterization of anodic biofilm development in a microbial fuel cell., 2013
42. **MATHURIYA, A., S., Y SHARMA, V., N.,** Revista Científica: International Journal of Biotechnology and Biochemistry.,Treatment of Brewery Wastewater and Production of Electricity through Microbial Fuel Cell Technology., 2010., P.p., 6:71–80.

43. **MATHURIYA, A., S., Y SHARMA, V., N.,** Revista Científica: J. Biochem. Tech., Bioelectricity production from paper industry waste using a microbial fuel cell by Clostridium species., 2009., P.p., 2:49-52.
44. **MATHURIYA, A., S., Y SHARMA, V., N.,** Bioelectricity production from various wastewaters through microbial fuel cell technology., J Biochem Tech., 2009., P.p., (1):133-137.
45. **MATHURIYA, A., S., Y SHARMA, V., N.,** Revista Científica: Advances in Biological Research., Electricity Generation by Saccharomyces cerevisiae and Clostridium acetobutylicum via Microbial Fuel Cell Technology: A Comparative Study., 2010., P.p., (4): 217-223.
46. **MEYER , R., L., Y OTROS.,** Revista Científica: Appl. Environ. Microbiol., Microscale biosensor for measurement of volatile fatty acids in anoxic environments., 2002., P.p., 68:1204-1210.

47. **MIN , B. Y LOGAN , BE.,** Revista Científica: Environ Sci Technol., Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrate in flat plate microbial fuel cell., 2004., P.p., 38:5809-34.
48. **MIN, B., Y OTROS.,** Revista Científica: Biotechnol Lett., Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance., 2008., P.p., 30:1213–1218.
49. **MIN, B., Y OTROS.,** Revista Científica: Water Res., Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells., 2005., P.p., 39:1675-1686.
50. **MOCALI, S., Y OTROS.,** Revista Científica: Appl Microbiol Biotechnol., Alteration of bacterial communities and organic matter in microbial fuel cells (MFCs) supplied with soil and organic fertilizer., 2013., P.p., 97:1299–1315

51. **MOHAN, V., S., Y OTROS.,** Revista Científica: CURRENT SCIENCE., Bioelectricity production by mediatorless microbial fuel cell under acidophilic condition using wastewater as substrate: Influence of substrate loading rate., 2007., P.p., 1720-1726.
52. **MOQSUD, M. A., Y OMINE, K.,** Proc. Of International Conference on Environmental Aspects of Bangladesh (ICEAB10)., Bio-Electricity Generation by Using Organic Waste in Bangladesh., Japan., 2010., P.p., 122-124.
53. **OMINE, K., Y OTROS.,** Development of compost type microbial fuel cell with anaerobic biodegradation. The 2nd Microbial fuel cell conference at Gwangju Institute of science and technology (GIST). Korea., 2009.
54. **PALOMO, I., Y OTROS.,** Revista Científica: Rev Chil Nutr., EL CONSUMO DE MANZANAS CONTRIBUYE A PREVENIR EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES

CARDIOVASCULARES Y CÁNCER:
ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS
Y MECANISMOS DE ACCIÓN., 2010., Vol. 37.,
Pp., 377-385.

55. **PRASAD, D., Y OTROS.,** Revista Científica: J. Power sources.,
Microbial fuel cell constructed with a
microorganism isolated from sugar industry
effluent., 2006., P.p., 160: 991-996.

56. **RABAEY, K., Y OTROS.,** Revista Científica: IWA
Publicing, Alliance House.,Microbial fuel cells:
performances and perspectives. In: Biofuels
for fuel cells., 2005., P.p., 375-400.

57. **RABAEY, K., Y OTROS.,** Revista Científica: Biotech L., A
microbial fuel cell capable of converting glucose to
electricity at high rate and efficiency., 2003., P.p.,
25:1531–1535.

58. **RASHID, N., Y OTROS.,** Revista Científica: Science of the Total Environment., Enhanced electricity generation by using algae biomass and activated sludge in microbial fuel cell., 2013., P.p., 91–94: 456–457
59. **ROZENDAL, R., A., Y OTROS.,** Revista Científica: Trend. Biotechnol., Towards practical implementation of bioelectro-chemical wastewater treatment., 2008., P.p., 26: 450-459.
60. **SANTORO, C., Y OTROS.,** Revista Científica: Journal of Power Sources., Activated carbon nanofibers (ACNF) as cathode for single chamber microbial fuel cells (SCMFCs)., 2013., P.p., 243:499-507.
61. **SELL, D., Y OTROS.,** Revista Científica: Appl. Microbiol. Technol., Use of an oxygen gas diffusion cathode and a threedimensional packed bed anode in a bioelectrochemical fuel cell., 1989., P.p., 31: 211-213.

62. **SEVDA, S., Y OTROS.,** Revista Científica: Chemical Engineering Journal., Characterization and comparison of the performance of two different separator types in air–cathode microbial fuel cell treating synthetic wastewater., 2013., P.p., 228:1–11.
63. **WANG, S., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource Technology., Combined effects of enrichment procedure and non-fermentable or fermentable co-substrate on performance and bacterial community for pentachlorophenol degradation in microbial fuel cells., 2012., P.p., 120:120–126.
64. **XU, Q., Y OTROS.,** Revista Científica: Bioresource Technology., Characterization and interactions of anodic isolates in microbial fuel cells explored for simultaneous electricity generation and Congo red decolorization., 2013., P.p., 142:101–108.
65. **YANG, J., Y OTROS.,** Revista Científica: Electrochemistry Communications., Electrosorption driven by microbial fuel cells without electric grid energy

consumption for simultaneous phenol removal and wastewater treatment., 2013., P.p., 34:121–124.

66. **ZHANG, G., Y OTROS.,** Revista Científica: WATER RESEARCH., Efficient electricity generation from sewage sludge using biocathode microbial fuel cell., 2012., P.p., 46:43-52.

67. **ZHANG, T., Y OTROS.,** Revista Científica: Energy Environ. Sci., Improved cathode materials for microbial electrosynthesis., 2013., P.p., 6:217–224 .

68. **COLOMBIA.,** Decreto 838 . 2005. Artículo 1. Definiciones. Por el cual se modifica el Decreto 1713 de 2002 sobre disposición final de residuos sólidos y se dictan otras disposiciones., MINISTERIO DE DESARROLLO ECONÓMICO., P.p., 20-54

69. **INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS.,**

GUIA PARA EL CULTIVO DE HABA. 1993.,
P.p., 1-8

70. **ALBÁN, D., Y FREIRE, D.**, Obtención de bioetanol a partir de residuos de naranja "*Citrus sinensis*" provenientes del proceso agroindustrial en la provincia de Bolívar., Ingeniería en Ciencias Agropecuarias el Prado., Quito., Ecuador ., 2009., P.p 1

71. **HARO, F.**, Determinación de carbono orgánico en la biomasa y suelo del páramo de la comunidad Pichán Central - San Isidro., Tesis Ingeniería en Biotecnología Ambiental., Riobamba., Ecuador., 2012., P.p., 86-87

72. **JARAMILLO, J., Y DÍAZ, C.**, Manual Técnico 20., El cultivo de las crucíferas Brócoli, Coliflor, Repollo, Col China. : Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA., Antioquia., Colombia., 2006., P.p., 21-22.

73. **MUÑOZ, SEGUNDO RAFAEL.**, Evaluación agronómica de quince cultivares de arveja (*Pisum sativum L.*), mediante el apoyo de investigación participativa con enfoque de género en la estación experimental del austro bullcay., Tesis en Ingeniería Agronómica RIOBAMBA- ECUADOR., 2013., P.p., 1
74. **ORDÓÑEZ, SANDRA.**, Estudio e investigación del zapallo, análisis de sus propiedades, explotación y propuesta gastronómica., Tesis de Administrador Gastronómico Quito,Ecuador., 2008., P.p., 1
75. **PUERTA, S., E.**, Evaluación física, química y microbiológica del proceso del compostaje de residuos sólidos urbanos, con microorganismos nativos y comerciales en el municipio de Venecia., Tesis de Maestría en Biotecnología., Antioquia, Colombia., 2007., P.p.,57.
76. **RODRÍGUEZ, E.**, Plan de manejo de los humedales existentes en la comunidad: Pichan - San Isidro – Chimborazo., Tesis Ingeniería en Biotecnología

Ambiental., Riobamba., Ecuador., 2011., P.p.,
54-98

77. PLÁTANOS Y BANANDAS.,

[http://www.rainforest-
alliance.org/kids/species-profiles/banana](http://www.rainforest-alliance.org/kids/species-profiles/banana)

2014-01-02

78. RÉGIMEN DEL BUEN VIVIR.

[http://www.movimientoecuador.co.uk/TITULO_VII -
REGIMEN DEL BUEN VIVIR-t-81.html.](http://www.movimientoecuador.co.uk/TITULO_VII_-_REGIMEN_DEL_BUEN_VIVIR-t-81.html)

2014-01-02

79. PLAN NACIONAL PARA EL BUEN VIVIR.

<http://www.buenvivir.gob.ec>

2014-01-02

ANEXOS

ANEXO 1. FORMULACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA AISLAMIENTO DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE ENZIMAS

AISLAMIENTO DE BACTERIAS AMILOLÍTICAS

Agar almidón (P/V) al 1%, fórmula en g/L	
Almidón:	10 g
Extracto de levadura:	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ :	0.5 g
CaCl ₂ :	0.5 g
KH ₂ PO ₄ :	0.1 g
K ₂ HPO ₄ :	0.1 g
Agar:	15 g
pH 7 +/- 0.2	

Fuente: (Gallegos , 2012)

AISLAMIENTO DE BACTERIAS PROTEOLÍTICAS

Agar leche al 1% (p/V)	
Leche en polvo:	10 g
Extracto de levadura:	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ :	0.5 g
CaCl ₂ :	0.5 g
KH ₂ PO ₄ :	0.1 g
K ₂ HPO ₄ :	0.1 g
Agar	15 g

Fuente: (Gallegos , 2012)

AISLAMIENTO DE BACTERIAS GLUCOLÍTICAS

Agar glucosa al 1% (p/V)	
Glucosa:	10 g
Extracto de levadura:	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ :	0.5 g
CaCl ₂ :	0.5 g
KH ₂ PO ₄ :	0.1 g
K ₂ HPO ₄ :	0.1 g
Agar	15 g

Fuente: (Gallegos , 2012)

AISLAMIENTO DE HETEROTRÓFOS

Agar PCA	
Glucosa:	10 g
Extracto de levadura:	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ :	0.5 g
CaCl ₂ :	0.5 g
KH ₂ PO ₄ :	0.1 g
K ₂ HPO ₄ :	0.1 g
Agar	15 g

Fuente: (Gallegos , 2012)

AISLAMIENTO DE BACTERIAS EN MEDIO POBRE

Agar agua (p/V)	
Agar	15 g

Fuente: Logroño W.

ANEXO 2. SIEMBRA EN MEDIO SOLIDO

Según, Gallegos, J.

- 1) Esterilizar el material de laboratorio
 - 2) Realizar el proceso de diluciones descrito en 2.2.1.2.2.1.
- Realizar diluciones 10⁻² y 10⁻⁶ en agua peptonada

Siembre en superficie 0.1 mL de las 3 diluciones, agar almidón, agar leche y agar glucosa.

Incube a 35°C de 2 a 5 días.

Realice el recuento de todas las colonias (las que presentan y no halos de hidrólisis)

ANEXO 3. PROCEDIMIENTO FOTOGRAFIADO

Fotografía 13. Recolección de Muestras para el análisis microbiológico final



Fuente: Logroño W.

Fotografía 14. Esterilización de cámara de flujo laminar



Fuente: Logroño W.

Fotografía 15. Colocación de medios de cultivo esterilizados en placas Petri



Fuente: Logroño W.

Fotografía 16. Preparación de la muestra para el análisis microbiológico



Fuente: Logroño W.

Fotografía 17. Preparación de la muestras en agua peptonada estéril 0,1%



Fuente: Logroño W.

Fotografía 18. Rotulación de tubos de diluciones para cada replica y tratamiento de las MFCs



Fuente: Logroño W.

Fotografía 19. Método de diluciones seriadas para réplica de las MFCs



Fuente: Logroño W.

Fotografía 20. Inoculación por el método de siembra en superficie



Fuente: Logroño W.

Fotografía 21. Inoculación de Placas Petri a 28°C



Fuente: Logroño W.

Fotografía 22. Recuento de bacterias en los diferentes medios utilizados tanto en el CAM como el CAN



Fuente: Logroño W.

Fotografía 23. Recuento de microorganismos para V1-A, V1B y V1C



Fuente: Logroño W.

Fotografía 24. Recuento de microorganismos para V2-A, V2-B y V2-C



Fuente: Logroño W.

Fotografía 25. Recuento de microorganismos para V3-A, V3-B y V3-C



Fuente: Logroño W.

ANEXO 4. ANÁLISIS FÍSICO QUIMICO INICIAL MACAS

Análisis 1. Resultados físicos químicos del CAM

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

Nombre del remitente: Nelson Logroño
Fecha de ingreso: 22/02/2017
Fecha de salida: 28/02/2017

Ubicación: Nombre de la granja: Parroquia: Maca: Cantón: Provincia:

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE SUELOS

Identificación	pH	SAR	CONS. ELECTRICA			ANIONES		SODIUM	CEC	
			Cl	F	S	CaO	MgO			
Soils	5.8 (L)	4.2 (M)	180.1 (M)	44.0 (M)	15.0 (B)	219.3 (M)	3.4 (B)	1.7 (B)	43	12.2

CODIGO

Fr. Arenoso	A. 1/4
L.A. Ligero mente ácido	1/4 medio
Al. Alto	B. 1/4

Ing. Mario E. Oñate A.
DIRECTOR OFICINA DE SUELOS

Ing. Elizabeth Pacheco
TECNICO DE LABORATORIO

Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Parroquia Maca, Cantón Maca, Provincia Chimborazo, Ecuador. Teléfono: 0982222000 ext. 470

Fuente: Departamento de Suelos FRN

ANEXO 5. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO INICIAL RIOBAMBA

Análisis 2. Resultados físicos químicos del CAN


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

Nombre del residente: Nelson Lagrera
 Fecha de ingreso: 22/01/2013
 Fecha de análisis: 28/01/2013

Ubicación: Páramo de Pichin
 Nombre de la granja: Páramo
 Cantón: Cotacachi
 Provincia: Cotacachi

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE SUELOS

Identificación	pH	Cond. Eléctrica	mg/L			mg/kg		%		
			NH ₄	P	K	CaO	MgO	C/N	% H	
Soils	4.4 Ac	4.1 Mc	182.7 mg nitro	21.5 S	79.3 A	197.2 A	>201	2.7 F	15	13.6

CONCLUSIÓN
 C. Suficiente A. pH
 B. Alto M. medio
 C. Excelente B. bajo

Ing. Mario E. Oñate A.
 DIRECTOR DPTO. DE SUELOS
 Dirección: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Tumbaco, 100100, Ecuador. Teléfono: 098222 222222

Ing. Elizabeth Padilla
 TÉCNICO DE LABORATORIO

Fuente: Departamento de Suelos FRN

ANEXO 6. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-M

MACAS				
TAMAÑO				
3				
REPLICA				
Día	3A	3B	3C	T INST
1	41	50	38	21
2	121	111	86	21
3	13	262	260	21
4	177	329	315	20,7
5	163	377	344	25
6	146	383	359	22
7	151	379	373	22
8	163	383	381	21,5
9	160	387	383	22
10	163	388	394	22
11	163	389	406	25
12	156	278	398	24
13	142	379	391	25
14	124	365	391	23
15	127	365	396	22
16	120	25	396	25
17	125	348	393	22
18				
19	140	357	383	23
20	168	356	375	22,5
21	167	356	372	23
22	173	355	368	23
23	170	351	369	23
24	172	349	330	24
25				
26	272	344	357	23,5
27	267	26	353	24
28	269	49	348	22
29	264	272	346	25
30	256	297	352	24
31	240	305	340	22
32	206	312	344	23
33				
34	248	304	356	23
35				

36	191	298	358	25
37	257	307	357	23
38				
39				
40	272	285	354	26
41				
42	225	292	352	23
43	246	304	357	22
44				
45				
46	155	276	354	22
47	280	265	347	21
48	281	248	332	21
49	268	193	348	22
50	375	254	311	24,8
51				
52				
53				
54	248	239	332	20,3
55				
56	271	268	301	21
57	261	264	307	24,2
58				
59				
60				
61	227	258	294	22,3
62	232	257	299	23,5
63	226	254	288	24
64	253	250	289	21,3
65				
66				
67				
68	235	253	284	23
69				
70				
71	229	186	287	22,7
72				
73	260	260	280	24,6
74	268	261	281	24
75	260	247	274	24,2
76	259	258	280	23,9
77	268	252	283	21,8
78	272	230	236	23

79	278	239	263	23,3
80				
81	287	234	272	22,7
82	296	236	269	25
83				
84				
85				
86	358	241	324	22,2
87				
88	315	233	273	22,8
89				
90	301	218	264	23
91				
92	324	220	255	22,3
93	332	229	244	21,4
94	330	234	245	26,2
95				
96	377	244	268	21,6
97	396	249	271	21,4
98	407	238	269	21,6
99	415	246	245	22
100				
101	417	247	278	21,5
102	419	256	288	27
103	421	274	256	24,2
104	411	251	255	22,2
105				
106	387	256	255	25
107	395	243	266	21,7
108				
109	399	276	278	23,4
110	403	275	279	23,3
111	404	273	275	21,9
112	414	282	290	19,5
113	400	280	305	20,7
114	395	191	225	22,7
115	310	140	225	20,5
116	385	191	194	19,5
117	388	85	233	20,4
118	383	76	222	19,4
119	392	76	187	20
120				
121	385	56	185	21,1

122	377	112	0	20,8
123	379	405	282	21,2
124				
125	376	104	439	23
126	392	245	474	21
127	392	405	435	20,4
128	392	78	408	19,5
129				
130	401	84	421	22,3
131				
132	428	90	455	20,1
133	429	29	415	21,9
134	422	96	425	23,2
135	430	90	419	22,6
136	451	66	418	23,9
137	446	135	356	24,1
138	507	135	343	19
139	530	230	375	22,1
140	527	216	377	22,6
141	475	338	324	20,3
142	483	128	408	22,9
143	486	118	360	21,7
144	497	113	205	22,6
145	498	92	380	21,9
146	493	18	374	20,1
147	491	97	297	19,8
148	503	40	319	18,6
149				
150				
151	510	52	320	21
152	508	83	335	22,6
153	509	95	341	23,1
154	499	100	247	19,2
155	387	40	182	17
156	250	92	329	17,3
157	545	10	261	21,5
158	72	96	190	20,6
159	92	18	260	21,2
160	95	17	237	20,5
161	110	9	237	23,1
162				
163				
164	132	2	217	21,3

165	129	10	205	22
166	129	72	227	22,8
167	129	50	210	21
168	140	18	187	23,8
169	126		193	20,1
170	137	23	231	21,2
171	138	57	169	19,6

ANEXO 7. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-M

MACAS				
TAMAÑO				
2				
REPLICA				
Día	2A	2B	2C	T INST
1	79	84	73	21
2	27	158	113	21
3	10	138	84	21
4	5	204	122	20,7
5	1	256	182	25
6	5	292	198	22
7	7	298	270	22
8	9	313	283	21,5
9	17	341	314	22
10	21	328	361	22
11	25	371	34	25
12	30	67	28	24
13	42	385	19	25
14	43	317	90	23
15	45	350	120	22
16	52	104	9	25
17	45	387	86	22
18				
19	50	383	58	23
20	54	325	473	22,5
21	56	299	475	23
22	60	180	451	23
23	58	145	183	23
24	64	39	19	24
25				
26	62	36	37	23,5
27	59	16	292	24
28	55	16	155	22
29	57	11	236	25
30	45	21	18	24
31	49	41	21	22
32	44	47	28	23
33				
34	42	53	267	23

35				
36	49	28	9	25
37	50	92	13	23
38				
39				
40	47	21	26	26
41				
42	46	27	24	23
43	53	30	33	22
44				
45				
46	45	51	22	22
47	44	43	18	21
48	42	77	212	21
49	48	47	10	22
50	39	30	9	24,8
51				
52				
53				
54	51	2	15	20,3
55				
56	52	14	13	21
57	56	11	22,4	24,2
58				
59				
60				
61	68	5	246	22,3
62	68	175	250	23,5
63	69	236	218	24
64	82	68	240	21,3
65				
66				
67				
68	70	41	335	23
69				
70				
71	60	15	372	22,7
72				
73	62	4	384	24,6
74	68	7	383	24
75	76	6	362	24,2
76	70	3	373	23,9
77	67	23	345	21,8

78	64	32	308	23
79	68	0	350	23,3
80				
81	75	0	364	22,7
82	71	0	355	25
83				
84				
85				
86	68	0	386	22,2
87				
88	83	0	279	22,8
89				
90	92	14	277	23
91				
92	81	18	355	22,3
93	76	11	262	21,4
94	98	18	244	26,2
95				
96	69	46	303	21,6
97	65	42	285	21,4
98	66	83	328	21,6
99	68	118	191	22
100				
101	69	84	290	21,5
102	74	130	285	27
103	63	99	302	24,2
104	63	58	325	22,2
105				
106	66	95	88	25
107	57	73	284	21,7
108				
109	56	32	88	23,4
110	53	30	287	23,3
111	51	50	300	21,9
112	51	60	252	19,5
113	46	57	174	20,7
114	80	45	146	22,7
115	69	40	155	20,5
116	59	53	202	19,5
117	60	97	154	20,4
118	57	42	130	19,4
119	51	130	201	20
120				

121	49	11	233	21,1
122	41	2	338	20,8
123	47	5	204	21,2
124				
125	41	36	352	23
126	26	118	269	21
127	32	130	314	20,4
128	30	64	295	19,5
129				
130	33	55	304	22,3
131				
132	29	113	320	20,1
133	30	50	333	21,9
134	35	40	355	23,2
135	30	17	363	22,6
136	35	115	345	23,9
137	53	117	327	24,1
138	43	83	320	19
139	48	15	318	22,1
140	42	10	315	22,6
141	40	40	279	20,3
142	41	56	276	22,9
143	40	48	267	21,7
144	54	65	262	22,6
145	47	33	273	21,9
146	43	24	245	20,1
147	63	13	247	19,8
148	133	40	206	18,6
149				
150				
151	111	41	231	21
152	121	50	224	22,6
153	116	33	230	23,1
154	126	31	233	19,2
155	16	90	187	17
156	109	27	182	17,3
157	20	177	500	21,5
158	27	225	350	20,6
159	29	323	458	21,2
160	38	368	470	20,5
161	27	368	469	23,1
162				
163				

164	29	181	346	21,3
165	34	284	290	22
166	30	319	367	22,8
167	32	320	288	21
168	33	304	335	23,8
169	32	268	307	20,1
170	33	265	322	21,2
171	57	175	191	19,6

Fuente: Logroño W.

ANEXO 8. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-M

MACAS				
TAMAÑO				
1				
REPLICA				
Día	1A	1B	1C	T INST
1	112	65	218	21
2	10	37	37	21
3	161	67	144	21
4	245	81	196	20,7
5	307	68	237	25
6	314	42	315	22
7	330	45	349	22
8	230	47	185	21,5
9	33	18	121	22
10	124	45	36	22
11	114	18	37	25
12	111	64	27	24
13	86	19	60	25
14	86	53	79	23
15	74	23	30	22
16	78	54	94	25
17	59	48	6	22
18				
19	56	22	18	23
20	50	5	13	22,5
21	49	1	10	23
22	47	7	16	23
23	45	10	16	23
24	41	30	21	24
25				
26	47	10	31	23,5
27	46	28	24	24
28	42	4	38	22
29	45	29	49	25
30	45	23	53	24
31	41	9	46	22
32	31	21	48	23
33				
34	36	16	82	23
35				

36	51	14	16	25
37	68	3	23	23
38				
39				
40	53	12	21	26
41				
42	69	25	169	23
43	74	26	158	22
44				
45				
46	93	10	119	22
47	88	22	133	21
48	96	94	133	21
49	87	87	101	22
50	104	53	98	24,8
51				
52				
53				
54	84	79	177	20,3
55				
56	34	54	154	21
57	15	53	83	24,2
58				
59				
60				
61	75	54	56	22,3
62	91	53	56	23,5
63	95	44	57	24
64	80	57	50	21,3
65				
66				
67				
68	79	24	53	23
69				
70				
71	30	24	63	22,7
72				
73	75	24	62	24,6
74	40	51	56	24
75	38	37	56	24,2
76	32	45	36	23,9
77	32	14	60	21,8
78	30	17	32	23

79	37	30	37	23,3
80				
81	32	11	46	22,7
82	37	21	31	25
83				
84				
85				
86	29	12	36	22,2
87				
88	84	26	75	22,8
89				
90	53	34	32	23
91				
92	36	36	40	22,3
93	42	22	47	21,4
94	41	15	48	26,2
95				
96	48	41	39	21,6
97	93	10	44	21,4
98	29	0	51	21,6
99	26	50	65	22
100				
101	58	2	48	21,5
102	54	14	48	27
103	36	4	54	24,2
104	52	0	63	22,2
105				
106	56	1	69	25
107	46	5	67	21,7
108				
109	50	5	80	23,4
110	52	106	70	23,3
111	59	33	81	21,9
112	53	13	69	19,5
113	41	7	57	20,7
114	51	31	105	22,7
115	49	11	0	20,5
116	43	5	46	19,5
117	49	11	49	20,4
118	37	6	43	19,4
119	34	40	40	20
120				
121	44	46	50	21,1

122	39	63	36	20,8
123	41	30	48	21,2
124				
125	41	40	60	23
126	26	97	45	21
127	81	81	41	20,4
128	37	24	33	19,5
129				
130	43	10	35	22,3
131				
132	1	4	33	20,1
133	24	33	42	21,9
134	50	16	50	23,2
135	36	72	36	22,6
136	33	60	53	23,9
137	37	29	72	24,1
138	44	24	51	19
139	38	308	52	22,1
140	42	14	49	22,6
141	68	120	42	20,3
142	45	91	34	22,9
143	65	25	45	21,7
144	41	8	34	22,6
145	55	26	46	21,9
146	48	9	40	20,1
147	70	66	114	19,8
148	77	47	141	18,6
149				
150				
151	79	50	136	21
152	80	47	138	22,6
153	76	47	142	23,1
154	84	62	120	19,2
155	60	10	144	17
156	74	88	158	17,3
157	96	80	171	21,5
158	90	140	139	20,6
159	51	117	248	21,2
160	42	110	195	20,5
161	42	114	179	23,1
162				
163				
164	30	112	163	21,3

165	27	114	160	22
166	27	116	133	22,8
167	27	115	131	21
168	28	114	142	23,8
169	25	120	106	20,1
170	23	114	105	21,2
171	36	103	165	19,6

Fuente: Logroño W.

ANEXO 9. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V3-R

RIOBAMBA				
TAMAÑO				
3				
REPLICA				
Día	3A	3B	3C	T INST
1	70,8	49,5	18	15
2	255	109,2	50,3	20
3	337	205	185,2	18
4	368	216	281	23
5	384	242	236	20
6	369	212	209	21
7	143	227	220	19
8	368	203	288	20
9	390	205	330	19
10	392	246	254	21
11	256	121	90,3	19
12	394	322	333	20
13	374	306	311	17
14	395	299	313	18
15	388	266	321	19
16	385	241	318	11
17	393	241	347	18
18	397	249	346	19
19	412	209	276	21
20	408	250	286	18
21	340	243	309	19
22	170	238	322	18
23	398	236	336	19
24	388	260	335	21
25	384	275	340	20
26	342	211	343	15
27	383	177	340	21
28	342	154	359	19
29	332	140	385	14
30	100	154	400	17
31	33	173	376	18
32	329	172	380	17
33	328	169	375	18
34	33	175	349	17
35	325	173	328	20

36	328	173	319	18
37	323	168	318	18
38	110	161	323	15
39	280	184	238	18
40	279	185	245	17
41	280	169	226	18
42	290	192	215	20
43	270	195	225	20
44	391	218	314	18
45	382	226	325	18
46	345	231	335	19
47	360	232	345	20
48	339	244	346	21
49	352	241	341	16
50	393	239	338	18
51	350	238	338	17
52	398	222	339	15
53	398	222	351	18
54	376	222	349	16
55	398	221	351	15
56	355	222	345	15
57	395	216	340	15
58	200	217	340	15
59	351	188	339	15
60	372	185	339	14
61	385	181	334	16
62	375	197	325	15
63	339	203	350	17
64	336	214	424	15
65	80	211	414	17
66	96	209	404	17
67	408	234	380	18
68	418	240	382	19
69	474	230	365	18
70	401	230	372	18
71	395	230	361	18
72	377	218	342	21
73	379	215	449	20
74	390	215	350	21
75	340	234	403	10
76	291	215	377	17
77	273	205	351	20
78	362	198	354	20

79	350	187	291	15
80	356	180	261	19
81	353	196	263	19
82	314	176	295	20
83	325	188	313	19
84	345	175	360	12
85	341	186	361	16
86	321	184	339	19
87	314	205	340	18
88	323	201	349	16
89	316	199	339	17
90	305	197	337	17
91	293	189	311	17
92	297	191	357	16
93	261	184	357	17
94	319	193	347	14
95	321	191	347	17
96	315	250	217	17
97	321	233	353	16
98	337	248	352	16
99	341	239	351	17
100	354	247	352	17
101	341	209	349	18
102	321	195	351	18
103	295	160	345	18
104	303	210	349	18
105	285	232	336	20
106	306	169	340	18
107	294	181	333	17
108	293	181	335	16
109	294	180	333	17
110	293	189	333	16
111	282	171	332	16
112	289	199	297	17
113	282	186	332	16
114	282	182	334	18
115	319	140	327	15
116	345	160	325	16
117	337	95	292	16
118	334	111	276	13
119	335	126	284	15
120	332	115	328	17
121	330	94	354	19

122	329	100	364	18
123	321	132	272	22
124	313	86	235	24
125	338	130	236	17
126	325	110	232	16
127	342	101	238	17
128	28	90	229	21
129	103	86	96	15
130	104	88	94	16
131	102	85	95	17
132	300	78	225	18
133	282	82	218	16
134	318	70	206	18
135	271	75	172	14
136	105	90	108	14
137	102	92	102	16
138	112	88	98	17
139	116	94	116	15
140	108	82	122	18
141	78	132	224	18,5
142	92	128	215	15
143	340	70	165	17
144	316	73	125	12
145	353	61	194	15
146	346	75	185	15
147	332	82	192	16
148	328	80	180	17
149	312	78	175	15
150	302	68	174	18
151	236	54	89	17
152	234	62	94	15
153	310	60	86	17
154				
155				
156				
157	277	72	184	18
158	282	48	200	21
159	280	65	190	20
160	275	58	186	16
161				
162	270	54	174	17
163	268	62	162	18
164	274	66	168	16

165	265	54	175	18
166	262	48	182	19
167	261	36	193	21
168				
169	260	34	192	18
170	264	42	194	16
171	263	63	72	19

Fuente: Logroño W.

ANEXO 10. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V2-R

RIOBAMBA				
TAMAÑO				
2				
REPLICA				
día	2A	2B	2C	T INST
1	18,7	36,5	2,5	15
2	142,3	341	178,8	20
3	240	408	243	18
4	311	429	242	23
5	261	433	275	20
6	334	454	294	21
7	333	200	316	19
8	192	418	312	20
9	339	168	314	19
10	343	403	313	21
11	236	200	213	19
12	393	225	344	20
13	374	274	303	17
14	368	490	370	18
15	367	496	375	19
16	374	500	388	11
17	376	461	391	18
18	380	450	300	19
19	403	445	410	21
20	350	437	393	18
21	230	471	382	19
22	369	460	384	18
23	361	458	376	19
24	362	462	353	21
25	347	480	362	20
26	358	358	394	15
27	335	446	380	21
28	338	430	372	19
29	367	413	379	14
30	371	444	320	17
31	371	452	397	18
32	371	451	398	17
33	381	401	401	18

34	369	350	405	17
35	367	450	405	20
36	367	260	408	18
37	354	400	404	18
38	379	433	438	15
39	321	411	388	18
40	355	427	391	17
41	327	438	388	18
42	377	425	392	20
43	350	401	393	20
44	362	450	402	18
45	362	449	401	18
46	349	444	405	19
47	355	445	405	20
48	353	434	406	21
49	347	434	401	16
50	349	433	399	18
51	350	434	398	17
52	342	434	374	15
53	337	440	376	18
54	337	440	392	16
55	327	431	393	15
56	327	427	392	15
57	329	427	392	15
58	315	431	399	15
59	315	428	401	15
60	305	431	410	14
61	301	431	411	16
62	301	415	435	15
63	305	421	464	17
64	173	422	464	15
65	155	420	454	17
66	146	417	445	17
67	294	416	460	18
68	64	403	460	19
69	79	412	412	18
70	109	415	397	18
71	238	415	371	18
72	236	405	450	21
73	237	397	428	20
74	228	294	440	21
75	251	256	420	10
76	243	351	423	17

77	231	401	427	20
78	225	353	416	20
79	221	378	415	15
80	218	395	411	19
81	216	401	417	19
82	216	406	404	20
83	219	402	413	19
84	216	364	390	12
85	225	333	383	16
86	216	398	361	19
87	213	398	368	18
88	216	395	366	16
89	222	391	367	17
90	213	385	358	17
91	206	387	305	17
92	213	373	345	16
93	213	312	344	17
94	211	378	341	14
95	213	372	341	17
96	213	316	351	17
97	213	377	341	16
98	213	371	339	16
99	208	378	327	17
100	133	362	315	17
101	201	359	314	18
102	200	357	303	18
103	201	353	297	18
104	200	304	302	18
105	245	310	275	20
106	214	244	296	18
107	208	348	310	17
108	203	351	307	16
109	216	349	296	17
110	198	346	298	16
111	190	339	292	16
112	192	343	290	17
113	187	344	282	16
114	184	345	287	18
115	184	345	284	15
116	205	347	283	16
117	378	430	418	16
118	392	432	337	13
119	287	389	330	15

120	330	400	340	17
121	311	378	335	19
122	324	390	300	18
123	230	335	264	22
124	269	372	278	24
125	262	368	294	17
126	275	365	285	16
127	310	342	292	17
128	246	328	240	21
129	238	315	201	15
130	235	310	196	16
131	230	302	186	17
132	230	339	214	18
133	232	335	210	16
134	224	323	222	18
135	239	305	183	14
136	236	313	196	14
137	232	312	184	16
138	230	308	178	17
139	226	289	175	15
140	232	276	164	18
141	196	294	216	18,5
142	184	286	210	15
143	215	293	226	17
144	213	303	220	12
145	224	301	222	15
146	217	295	218	15
147	215	286	212	16
148	216	275	215	17
149	224	278	208	15
150	218	266	202	18
151	215	272	203	17
152	212	268	194	15
153	210	256	186	17
154				
155				
156				
157	212	275	230	18
158	215	280	214	21
159	210	276	226	20
160	206	274	220	16
161				
162	204	271	216	17

163	210	268	214	18
164	213	272	210	16
165	212	265	196	18
166	218	268	188	19
167	216	258	182	21
168				
169	212	254	186	18
170	216	256	184	16
171	215	260	164	19

Fuente: Logroño W.

ANEXO 11. MATRIZ DE DATOS DE BIOELECTRICIDAD V1-R

RIOBAMBA				
TAMAÑO				
1				
REPLICA				
día	1A	1B	1C	T INST
1	30,8	25,3	13	15
2	131,9	210	228	20
3	359	266	190	18
4	419	309	406	23
5	453	327	445	20
6	450	334	421	21
7	301	344	378	19
8	387	334	345	20
9	394	348	130	19
10	432	382	404	21
11	258	290	203	19
12	370	345	403	20
13	390	357	351	17
14	73	359	394	18
15	352	369	371	19
16	340	368	428	11
17	349	361	415	18
18	336	364	404	19
19	332	321	320	21
20	201	446	317	18
21	278	415	393	19
22	279	391	381	18
23	322	418	398	19
24	345	401	351	21
25	285	370	321	20
26	359	374	316	15
27	354	365	334	21
28	337	353	313	19
29	346	346	282	14
30	323	344	298	17
31	250	338	302	18
32	324	339	305	17
33	292	341	299	18
34	301	338	345	17
35	310	339	280	20

36	319	337	290	18
37	313	338	290	18
38	326	347	320	15
39	309	349	298	18
40	315	349	291	17
41	329	351	237	18
42	329	338	238	20
43	328	361	299	20
44	330	384	370	18
45	326	392	375	18
46	371	397	376	19
47	380	426	386	20
48	382	434	386	21
49	379	428	387	16
50	378	426	386	18
51	376	427	385	17
52	377	423	387	15
53	359	405	357	18
54	377	423	380	16
55	377	427	360	15
56	369	429	364	15
57	362	428	350	15
58	377	439	359	15
59	387	439	359	15
60	386	341	364	14
61	387	441	364	16
62	396	435	375	15
63	397	429	379	17
64	410	428	380	15
65	250	418	370	17
66	356	408	368	17
67	408	413	369	18
68	402	334	370	19
69	391	387	356	18
70	391	374	349	18
71	393	391	345	18
72	388	376	322	21
73	386	373	315	20
74	384	371	298	21
75	365	378	332	10
76	351	371	332	17
77	346	373	310	20
78	337	376	306	20

79	335	367	305	15
80	333	359	293	19
81	335	361	299	19
82	322	345	285	20
83	346	357	297	19
84	318	333	270	12
85	307	340	266	16
86	301	335	262	19
87	313	327	263	18
88	303	333	265	16
89	302	327	258	17
90	283	318	251	17
91	245	309	247	17
92	287	303	241	16
93	285	298	237	17
94	284	293	239	14
95	293	296	238	17
96	291	291	235	17
97	292	291	238	16
98	291	285	229	16
99	291	288	227	17
100	291	279	226	17
101	290	288	248	18
102	286	285	240	18
103	286	285	247	18
104	283	286	238	18
105	328	342	245	20
106	324	326	232	18
107	298	194	232	17
108	297	287	232	16
109	293	289	228	17
110	291	288	225	16
111	289	286	223	16
112	291	281	209	17
113	293	286	209	16
114	285	289	214	18
115	282	450	214	15
116	346	315	210	16
117	404	378	298	16
118	178	273	119	13
119	302	354	205	15
120	252	327	175	17
121	243	331	170	19

122	141	285	96	18
123	306	270	150	22
124	154	228	95	24
125	150	280	82	17
126	172	260	86	16
127	186	225	95	17
128	155	278	72	21
129	156	238	70	15
130	152	232	72	16
131	148	228	65	17
132	160	215	73	18
133	153	212	75	16
134	154	207	55	18
135	146	235	82	14
136	148	229	77	14
137	135	220	75	16
138	132	218	63	17
139	128	232	72	15
140	115	218	65	18
141	126	176	75	18,5
142	122	192	73	15
143	125	264	180	17
144	125	279	92	12
145	76	280	93	15
146	178	276	106	15
147	108	274	103	16
148	106	275	89	17
149	94	268	98	15
150	96	259	102	18
151	65	363	86	17
152	72	358	84	15
153	68	352	90	17
154				
155				
156				
157	78	280	87	18
158	80	194	76	21
159	76	174	72	20
160	74	165	70	16
161				
162	72	162	68	17
163	77	172	74	18
164	76	168	73	16

165	82	180	75	18
166	86	210	82	19
167	92	235	84	21
168				
169	84	26	80	18
170	88	218	82	16
171	41	198	67	19

Fuente: Logroño W.