



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
AMBIENTAL

“GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD MICROBIANA CON DIFERENTES
MATICES ORGÁNICAS MEDIANTE CELDAS DE COMBUSTIBLES”

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

Presentado por:

PATRICIA ABIGAIL ARMAS CHUGCHO
GEOVANY GUSTAVO RAMÍREZ YAMBOMBO

Riobamba – Ecuador

2014

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por su nivel académico desarrollado en los años de estudios, y especialmente al Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), al Dr. Celso Recalde, Dra. Magdy Echeverría y el Ing. Nelson Logroño proyecto Andes CDF-Italia por su contribución para desarrollar este trabajo fortalecido en amplios conocimientos de investigación.

Nuestros sinceros agradecimientos al Dr. Robert, Cazar, Ing. Anita Cunachi, por su incondicional apoyo y amistad durante el desarrollo de nuestro trabajo.

A la Ing. Isabel Escudero y al Ing. Carlos Carpio por su disponibilidad y apoyo en el análisis estadístico.

A todos nuestros amigos por su valioso aporte y sincera amistad.

DEDICATORIA

A mis padres con mucho cariño y amor por guardar mi bienestar en cada momento
y depositar su confianza entera en cada desafío.

A mi hermano Cuki que siempre ha estado junto mi brindándome su apoyo.

A mi familia en general por su amor y palabras de aliento.

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece” (Filipenses 4:13).

Pathy

DEDICATORIA

A mis padres por su gran amor y cariño, haberme brindado todo su apoyo, la educación
y enseñarme a tener fortaleza en todo momento.

A mis hermanas y hermanos por su amistad, en especial a mi hermana **Jesseña** por su
gran confianza y apoyar en todo momento. A todos ustedes que voy a estar eternamente
agradecido. A toda mi familia por el cariño, aprecio y sabios consejos *GRACIAS!*

Geovany

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“GENERACIÓN DE ELECTRICIDAD MICROBIANA CON DIFERENTES MATRICES ORGÁNICAS MEDIANTE CELDAS DE COMBUSTIBLE”**, de responsabilidad de la señorita egresada Patricia Abigail Armas Chugcho y el señor egresado Geovany Gustavo Ramírez Yambombo, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. César Ávalos DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS	_____	_____
Dra. Nancy Velóz DIRECTORA DE ESCUELA CIENCIAS QUÍMICAS	_____	_____
Dr. Celso Recalde DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Robert Cazar MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Ing. Eduardo Tenalanda COORDINADOR SISIB-ESPOCH	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Patricia Abigail Armas Chugcho, 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.

Patricia Abigail Armas Chugcho

Yo, Geovany Gustavo Ramírez Yambombo, 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.

Geovany Gustavo Ramírez Yambombo

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
INDICE DE ABREVIATURAS	xv
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
1.1 GENERAL	7
1.2 ESPECÍFICOS	7
CAPITULO I	8
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1. CELDAS DE COMBUSTIBLES MICROBIANAS	8
1.1.1. PRINCIPIO ELECTROQUÍMICO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE	8
1.1.2. COMBUSTIBLE MICROBIANO EN CCMs.	11
1.1.3. SUSTRATOS	14
1.1.4. MICROORGANISMOS ELECTROGÉNICOS EN LAS CCMS	15

1.2. MARCO LEGAL	17
CAPITULO II	18
2 PARTE EXPERIMENTAL	18
2.1 LUGAR DE ESTUDIO.....	18
2.2 METODOLOGÍA	19
2.2.1 MÉTODOS Y TÉCNICAS	19
2.3 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	31
2.3.1 MATERIALES	31
2.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	34
2.4.1 DISEÑO CUASI EXPERIMENTAL.....	34
2.4.2 PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS	35
CAPITULO III.....	36
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL SUELO.	36
3.2. CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DEL SUSTRATO.....	37
3.3. RECUENTO INICIAL MICROBIOLÓGICO	39
3.3.1. CUANTIFICACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DURANTE LOS 60 DIAS.....	40
3.4. PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD	42
3.4.1. REGISTRO MANUAL DE VOLTAJE (mV)	42
3.4.2. PRUEBA DE WILCOXON.....	43
3.4.3. PRUEBA KOLMOGOROV SMIRNOV	45
3.4.4. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN EN CADA CCM	46
3.4.5. COMPARACIÓN ENTRE VARIABLES	49
3.5. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.....	53
CAPITULO IV	54
CONCLUSIONES.....	54
RECOMENDACIONES.....	55
CAPITULO V	56

BIBLIOGRAFÍA.....	56
ANEXOS.....	63
ANEXO 1. RECuento EN PLACA	64
ANEXO 2. RECuento MICROBIOLOGICO INICIAL.....	65
ANEXO 3. UFC DURANTE 60 DIAS.....	69
ANEXO 4. ANALISIS FISICO- QUIMICO DEL SUELO.....	72
ANEXO 5. PROCEDIMIENTO BROMATOLÓGICO.....	73
ANEXO 6. ANALISIS BROMATOLOGICO.....	87
ANEXO 7. SUSTRATOS UTILIZADOS	90
ANEXO 8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	98
ANEXO 9. CARACTERISTICAS DISPOSITIVOS ELECTRÓNICOS	102
ANEXO 10. RECEPCIÓN DATOS SENSORES (SOFTWARE LabVIEW)	103
ANEXO 11. PRODUCCION BIOELECTRIDAD (mV).....	104

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Sustratos utilizados en CCMs.....	14
Tabla II. Cantidad de Materia Orgánica por componentes en cada Matriz.....	21
Tabla III. Contenido total de materiales para cada CCM.....	26
Tabla IV. Análisis Físico Químico del Suelo.....	28
Tabla V. Monitoreo UFC.....	31
Tabla VI. Materiales Experimentales.....	32
Tabla VII. Equipos Utilizados.....	33
Tabla VIII. Materiales de Laboratorio.....	33
Tabla IX. Caracterización del suelo Pichan Central.....	36
Tabla X. Compuestos Matriz Orgánica 1 (50:50).....	37
Tabla XI. Compuestos Matriz Orgánica 2 (75:25).....	37
Tabla XII. Compuestos Matriz Orgánica 3 (25:75).....	38
Tabla XIII. Registro Inicial de UFC Suelo Pichán.....	39
Tabla XIV. Registro Inicial UFC de M.O.....	39
Tabla XV. Registro UFC de CCMs a 72 horas.....	40
Tabla XVI. Registro Promedio diarios de Voltaje en CCMs.....	42
Tabla XVII. Resultados Prueba de Normalidad.....	45
Tabla XVIII. Análisis de Correlación CCM1.....	46
Tabla XIX. Análisis de Kendall CCM1.....	47
Tabla XX. Análisis de Correlación CCM2.....	48
Tabla XXI. Análisis de Correlación CCM3.....	49
Tabla XXII. Prueba de Kruskal-Wallis.....	49
Tabla XXIII. Análisis Kruskal Wallis en pares.....	50

Tabla XXIV. Fotografías Recuento Inicial Materia Orgánica	65
Tabla XXV. Fotografías Recuento Inicial Suelo	68
Tabla XXVI. Registro Fotográfico de UFC por semana.....	69
Tabla XXVII. Sustratos en CCM	90
Tabla XXVIII. Dispositivos Electrónicos	102
Tabla XXIX. Base de datos manuales y sensores	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de una CCM de doble cámara.	9
Figura 2. Diseño de CCM cámara simple.	11
Figura 3. Diluciones en Serie	64
Figura 4. Análisis Bromatológico Matriz 1.....	87
Figura 5. Análisis Bromatológico Matriz 2.....	88
Figura 6. Análisis Bromatológico Matriz 3.....	89

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Crecimiento Microbiano CCM 1	51
Gráfico 2. Crecimiento Microbiano CCM 2	51
Gráfico 3. Crecimiento Microbiano CCM 3	52

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Páramo Pichan Central	18
Fotografía 2. Toma de Muestra Suelo.....	20
Fotografía 3. Siembra Microbiológica Inicial de Suelo	20
Fotografía 4. Toma de muestra M.O Frutas	22
Fotografía 5. Toma de muestra Vegetales.....	22
Fotografía 6. Homogenización del suelo muestreado	23
Fotografía 7. Trituración de M.O.....	23
Fotografía 8. Configuración del compartimento anódica.....	24
Fotografía 9. Instalación del electrodo ánodo	24
Fotografía 10. Instalación de sensores	25
Fotografía 11. Colocación del electrodo cátodo.....	26
Fotografía 12. Dispositivos Electrónicos	27
Fotografía 13. Montaje de CCMs.....	28
Fotografía 14. Molienda.....	73
Fotografía 15. Muestras Preparadas	73
Fotografía 16. Crisol	75
Fotografía 17. Balanza Analítica.....	75
Fotografía 18. Desecador	75
Fotografía 19. Mufla	77
Fotografía 20. Estufa.....	77
Fotografía 21. Muestras Calcinadas	77
Fotografía 22. Peso Humedad Higroscópica.....	79
Fotografía 23. Sulfato de Sodio	80

Fotografía 24. Equipo de Extracción de Grasa	80
Fotografía 25. Beakers en estufa	81
Fotografía 26. Equipo de extracción de Fibra.....	82
Fotografía 27. Bomba de vacío	83
Fotografía 28. Muestra Digerida	85
Fotografía 29. Equipo de digestión y destilación Macro Kjeldahl.....	85
Fotografía 30. Lugar Experimental	98
Fotografía 31. Instalación de sensores y configuración.	98
Fotografía 32. Muestreo Suelo-Pichán.....	99
Fotografía 33. Siembra Inicial in-situ	99
Fotografía 34. Muestreo Materia Orgánica.....	99
Fotografía 35. Materia Orgánica Pesada.....	100
Fotografía 36. Mezcla Suelo-Materia Orgánica.....	100
Fotografía 37. Configuración de CCMs.....	100
Fotografía 38. Método de dilución en serie	101
Fotografía 39. Método de diseminación por placa.....	101
Fotografía 40. Recuento Microbiológico	101

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS	63
ANEXO 1. RECUENTO EN PLACA	64
ANEXO 2. RECUENTO MICROBIOLÓGICO INICIAL.....	65
ANEXO 3. UFC DURANTE 60 DIAS.....	69
ANEXO 4. ANALISIS FISICO- QUIMICO DEL SUELO	72
ANEXO 5. PROCEDIMIENTO BROMATOLÓGICO	73
ANEXO 6. ANALISIS BROMATOLOGICO.....	87
ANEXO 7. SUSTRATOS UTILIZADOS	90
ANEXO 8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	98
ANEXO 9. CARACTERISTICAS DISPOSITIVOS ELECTRÓNICOS.....	102
ANEXO 10. RECEPCIÓN DATOS SENSORES (SOFTWARE LabVIEW).....	103
ANEXO 11. PRODUCCION BIOELECTRIDAD (mV)	104

INDICE DE ABREVIATURAS

ESPOCH	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
INER	Instituto Nacional de Eficiencia Energética y Energías Renovables.
GEAA	Grupo de Energías Alternativas y Ambiente
DGGE	Electroforesis en gel desnaturalizante en gradiente
ONG	Organización No Gubernamental
RAPD	La amplificación aleatoria de ADN polimórfico
MIP	Membrana de Intercambio de Protones
CCM1	Celda de Combustible Microbiano 1
CCM2	Celda de Combustible Microbiano 2
CCM3	Celda de Combustible Microbiano 3
CCM	Celda de Combustible Microbiano
CCMS	Celda de Combustible Microbiano cámara Simple
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
ANE	Agar Nutritivo Enriquecido
M1	Matriz Orgánica 1
M2	Matriz Orgánica 2
M3	Matriz Orgánica 3
°C	Grados Centígrados
hPa	Hectopascales
mA	Miliamperios

S_1	Datos Voltajes Sensor 1
S_2	Datos Voltajes Sensor 2
S_3	Datos Voltajes Sensor 3
M_1	Datos Voltajes Manual 1
M_2	Datos Voltajes Manual 2
M_3	Datos Voltajes Manual 3
h	Horas
μS	microSiemens
M.O	Materia Orgánica
g	Gramos
kg	Kilogramos
m	Metro
cm	Centímetro
cm²	Centímetro Cuadrado
m³	Metro Cúbico
%	Porcentaje
mL	Mililitros
L	Litro
V	Diferencia de Potencial
R	Resistencia Eléctrica
I	Intensidad de Corriente
r_s	Correlación de Spearman
r_k	Correlación de Kendall

mV	Milivoltios
pH	Potencial de Hidrógeno
NaCl	Cloruro de Sodio
K₂HPO	Difosfato de Potasio
CO₂	Dióxido de carbono
ELN	Extracto Libre de Nitrógeno
NH₄	Amonio
P	Fósforo
K	Potasio
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
p/p	relación peso / peso
α	Nivel de significancia
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
TULSMA	Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria del Ministerio del Ambiente

RESUMEN

Se implementó Celdas de Combustible Microbiano (CCMs) para generar energía bioeléctrica. Las celdas fueron alimentadas con suelo de la Comunidad de Pichán Central de la provincia de Chimborazo y residuos orgánicos en proporciones de peso entre verduras y frutas en tres diferentes matrices orgánicas M1; M2; M3, con un peso total de la matriz orgánica de 1000 g. Para la implementación de CCMs se configuró el compartimento anódico compuesto por la matriz orgánica y suelo donde se colocó el electrodo de fibra de carbono conectado a un circuito externo, continuamente se conformó el espacio correspondiente a la Membrana de Intercambio de Protones (MIP) con una nueva proporción de suelo y carbón activado sobre esta y se colocó el electrodo cátodo para formar el circuito de las CCMs. Para monitorear el pH anódico, temperatura interna y voltaje (mV) se instaló sensores para cada CCM durante 60 días de monitoreo. El análisis microbiológico determinó Unidades Formadoras de Colonias (UFC) para cada una de las CCMs, estableciéndose una correlación inversa del número de UFCs con la generación de bioelectricidad. El análisis bromatológico presentó porcentajes similares en M1 y M3 de extracto libre de nitrógeno que asocia a compuestos de carbohidratos; M2 determinó presencia de celulosa ya que contenía mayor cantidad de verduras. La prueba de ANOVA para producción de bioelectricidad indicó un comportamiento similar en las CCM1 y CCM3, mientras que la producción de bioelectricidad de la CCM2 difiere significativamente. Indicando mejor desempeño en la producción de bioelectricidad en CCM1 y CCM3. Sin embargo, para identificar el conglomerado de microorganismos que muestre mejor respuesta bioeléctrica es necesario trabajar con técnicas moleculares.

SUMMARY

Microbial Fuel Cells (MFCs) were implemented to generate bioelectric energy. The cells were fed with soils from Central Pichán Community in the province of Chimborazo and organic waste in weight ratios between vegetables and fruit in three different organic matrices M1; M2; M3, with a total organic matrix weight of 1000 g. For the implementation of MFCs, the anode compartment was configured, which comprises the organic matrix and the soil where carbon fiber electrode connected to an external circuit was placed. The space corresponding to the Proton Exchange Membrane (PEM) was continually implemented with a new ratio of soil and activated carbon on the top of it, and the cathode electrode was placed to form the MFCs circuit. In order to monitor the anodic pH, internal temperature and voltage (mV) sensors were installed for each MFC during a 60 day period.

Microbiological analysis determined Colony Forming Units (CFU) for each of the MFCs, establishing an inverse correlation between the number of CFUs and the bioelectricity generation. The compositional analysis showed similar rates in M1 and M3 for nitrogen-free extract associated to carbohydrate compounds; M2 determined presence of cellulose since it contained a higher amount of vegetables. The ANOVA test for bioelectricity production indicated a similar behavior in the MFC1 and MFC3, while production of bioelectricity MFC2 differs significantly. This indicates a better performance in the production of bioelectricity in MFC1 and MFC3. However, to identify microorganism conglomerate showing better bioelectrical response it is necessary to work with molecular techniques.

INTRODUCCIÓN

La sociedad afronta problemas energéticos severos, llevando al uso masivo de combustibles fósiles que altera lenta pero irremediablemente el ambiente (Revelo et al., 2013). Esto ha impulsado el interés mundial de varios investigadores en buscar iniciativas de generación energética renovable vinculadas al tratamiento de residuos orgánicos y biorremediación de polutantes.

En la última década los dispositivos bioelectroquímicos denominados Celdas de Combustible Microbiana (CCM) han generado gran interés en la comunidad científica como una innovadora forma de generar energía eléctrica y al mismo tiempo tratando residuos orgánicos (Moqsud et al., 2013). Estos dispositivos aprovechan la capacidad metabólica que poseen los microorganismos electrogénicos para degradar la materia orgánica residual, liberando electrones y protones generando energía eléctrica (Pant et al., 2010). Adicionalmente esta tecnología genera un bajo impacto ambiental, ya que se evita la combustión, minimizando así las emisiones. Las CCM a diferencia de una batería convencional, funciona de forma continua siempre que el reductor (combustible) y el oxidante (oxígeno) estén disponible continuamente (Scott, 2014).

Varias aplicaciones de las CCMs han sido ampliamente exploradas (Huang et al., 2011), entre ellas sobresalen: el tratamiento de residuos orgánicos (domésticos y municipales) (El-Chakhtoura et al., 2014), tratamiento de aguas residuales (domesticas e industriales) (Ibañez y Hernández, 2008), reducción de metales pesados como el Cr^{+6} y U^{+6} (Lovley, 2011). Cada una de ellas desde distintos puntos de vista en cuanto al diseño y desempeño de las celdas. Se han centrado estudios tomando en cuenta el tipo de sustrato, concentración del sustrato, fuente de inóculo de bacterias electrogénicas, y el voltaje generado.

Para su estudio utilizan diferentes unidades para denotar el rendimiento de una CCM. La corriente I en amperios (A) se calcula utilizando la ley de Ohm ($I = V/R$), donde V es el voltaje medido en Voltios y R es la resistencia externa en Ohms. A partir de esto se puede calcular la potencia de salida (P) en vatios (W) partiendo del producto de la tensión y la corriente ($P = I \times V$) (Moqsud et al., 2013). En estos sistemas la configuración se dispone en cámara simple o cámara doble, mediante un circuito

externo que se forma desde el ánodo hasta el cátodo, para mediciones de Voltaje y Corriente. Es necesario utilizar una resistencia externa fija (conectado en serie) para aplicar este principio.

Además comúnmente se utiliza la densidad de corriente, que está representada como la corriente generada por unidad de área superficial anódica (mA/cm^2) o corriente generada por unidad de volumen de la CCM (mA/m^3) (Pant et al., 2010). Varios experimentos utilizan mediciones de Voltaje en cuanto al tiempo, estas mediciones están respecto a lo descrito anteriormente que complementa como una medición básica en estos sistemas. Para este estudio se tomó en consideración tomar mediciones de voltajes y estimar si son viables o no su implementación futura, para lo cual posteriormente será necesario evaluar las CCMs en términos de densidad de corriente y potencia generada.

La fuente de microorganismos electrogénicos en la operación de las CCMs es un factor de estudio que influye en el desempeño de las mismas, el cual se ha considerado de interés para esta investigación. El páramo alto andino Pichán Central ha sido objeto de estudio debido a la reducida intervención antropogénica e información ecológica. En este ecosistema se ha estudiado: determinación de carbono orgánico en suelo y biomasa (Haro, 2012), plan de manejo de humedades (Rodríguez, 2011) y una primera cuantificación de microorganismos con fines de aplicación en bioenergía (Logroño, 2014).

Aunque la aplicación del recurso microbiológico presente en el páramo alto andino de Pichán en el campo de bioenergía es reducida, se realizó esta investigación basándonos en el estudio **“Producción de bioelectricidad microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: Andes- Amazonia, Ecuador”** realizado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencias por el Grupo de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA), en el cual se generó bioelectricidad utilizando suelo de los Andes y de la Amazonía-Ecuador, en tres tamaños de celdas con proporción (50:50) de residuos orgánicos (frutas y verduras), evaluando su desempeño y el comportamiento de los tamaños de celdas. Para el caso de estudio Andes resultó el tamaño medio (12 L) el más adecuado en cuanto a producción de bioelectricidad (Logroño, 2014).

En Ecuador se han realizado iniciativas para generar electricidad a partir de las bacterias electrogénicas presentes en suelos de la Amazonía Ecuatoriana - territorio Achuar, colocando suelo del mismo lugar alimentado con residuos orgánicos utilizando electrodos (aluminio, fibra de carbono, etc.) para configuración en una celda de plástico. Formando un circuito eléctrico con la finalidad de obtener luz utilizando un foco led debido al bajo consumo de energía. La aplicación de este estudio fue iluminar sitios aislados donde no existe tendido eléctrico y reciclar a la vez residuos orgánicos. Este trabajo fue realizado por el Prof. Renato Fani y el Dr. Stefano Mocali de la Universidad de Florencia y del Centro de Investigación sobre la Agricultura de Florencia (Mocali et al., 2013).

Para este estudio se utilizó CCMs de 12L de capacidad, alimentadas con tres matrices orgánicas compuestas por verduras y frutas en tres relaciones p/p: M1 (50:50), M2 (75:25) y M3 (25:75) como se detalla en el CAPITULO 2. Se registró una generación promedio de bioelectricidad para: CCM1 (110.2 mV), CCM2 (76.1 mV) y CCM3 (98.43) durante 60 días de monitoreo. En cuanto a generación de bioelectricidad presentan dos tendencias estadísticamente distintas diferenciando dos grupos: la más baja en generación de bioelectricidad la CCM2; y las celdas que mostraron mayor generación de bioelectricidad fueron la CCM1 y la CCM3 debido a que estas fueron alimentadas con mayor proporción de frutas reflejado en cada matriz orgánica, aportando mayor cantidad de compuestos asociados a carbohidratos y glucosa. En cuanto al crecimiento microbiano se estableció correlaciones negativas con la generación de bioelectricidad, se cuantificó microorganismos cultivables aeróbicos presentes en las CCMs.

JUSTIFICACIÓN

La demanda mundial energética actual busca establecer nuevas fuentes de generación energética que mantengan un principio de sustentabilidad con el ambiente, por esta razón se desarrolla el interés de investigadores para incursionar en nuevas formas de obtención de energía eléctrica que produzcan un impacto social positivo en aquellas regiones sin acceso a la red eléctrica.

En el Ecuador la oferta energética es dependiente de la explotación del petróleo, actualmente representa el 90% de la generación total de energía primaria. El crecimiento de fuente energética en base a la producción de gas natural fue de 9,6% y de energías renovables un 9,5% (hidroenergía, leña y productos de caña), de acuerdo al balance energético de año 2013 en base al año 2012 (Carvajal y Orbe, 2013). Existen varias iniciativas en Latinoamérica y en el Ecuador en temas de investigación con CCMs, por esta razón se incursionó en la utilización de CCMs que emplean sustrato orgánico aprovechable por microorganismos electrogénicos presentes en el suelo alto andino de Pinchan Central. El aporte nutricional de la matriz orgánica y el metabolismo de las bacterias electrogénicas influye en la generación de electricidad. La aplicación de estas tecnologías tiene ventajas sobre otras fuentes de energía, convirtiéndose en una tecnología que aporta positivamente a la disminución de la crisis energética, minimizando los problemas ambientales y creando nuevas líneas de investigación innovadoras.

Estructurado en cimientos de un aprovechamiento sostenible con el ambiente en busca de energías renovables alineadas en la importancia del desarrollo y bienestar social establecido por el plan nacional del buen vivir del Ecuador el mismo que impulsa el fortalecimiento de nuevas tecnologías. En base a lo expuesto, el GEAA de la Facultad de Ciencias-ESPOCH trabaja en el área de energías alternativas a través del proyecto de Bioelectricidad auspiciado por el proyecto Andes-CFD Italia, se desarrolló esta investigación integrando proyectos enfocados al uso y generación de bioenergías.

OBJETIVOS

1.1 GENERAL

- Analizar diferentes matrices orgánicas mediante Celdas de Combustible Microbiano (CCM) para la generación de bioelectricidad.

1.2 ESPECÍFICOS

- Implementar tres Celdas de Combustible Microbiano (CCM) con diferentes matrices orgánicas en relación de verduras y frutas (50:50), (75:25), (25:75) los mismos que son residuos orgánicos recogidos de un mercado de la localidad.
- Comparar la generación de bioelectricidad en las diferentes CCMs durante 60 días de monitoreo.
- Determinar el crecimiento microbiano expresadas en UFC de cada una de las CCM durante 60 días de monitoreo en relación a la generación de bioelectricidad.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. CELDAS DE COMBUSTIBLES MICROBIANAS

1.1.1. PRINCIPIO ELECTROQUÍMICO DE UNA CELDA DE COMBUSTIBLE

Las celdas de combustible microbiano (CCM) comprenden una nueva tecnología alternativa y emergente en combatir la crisis energética mundial. Recientemente estos sistemas han sido objeto de estudio en busca de generar energía limpia a partir de fuentes de carbono orgánico e inorgánico como la biomasa lignocelulótica y aguas residuales (Lovley, 2006). Operan bajo distintas condiciones con diversas fuentes de inóculos y variedad de sustratos, se han obtenido un buen desempeño a temperaturas bajas produciendo menor cantidad de CO₂ en comparación a tecnologías convencionales en obtención de energía (Das y Mangwani, 2010).

En el futuro promete ser una tecnología que podrían ser implementadas en lugares remotos donde el tendido eléctrico no existe, adicionalmente podría ser fuente de energía en sensores para medición de variables ambientales terrestres y acuáticos (Pant et al., 2010). En ambientes como el nuestro existe una gran variedad de sustratos y fuentes de microorganismos que se encuentra de forma natural y abundante contribuyendo al desarrollo de las CCMs (Fuentes-Albarrán et al., 2010). El desarrollo de este tipo de dispositivos hace que el trabajo sea de carácter multidisciplinario vinculando áreas de microbiología, ingeniería química, biología molecular e ingeniería electrónica permitiendo avances en este tipo de tecnologías.

El funcionamiento típico de una CCM está determinada por la acción metabólica de las comunidades microbianas generalmente formando biofilm anódico para oxidar los sistemas biodegradables o sustratos (material orgánico e inorgánico) (Logan y Regan, 2006). El diseño de una CCM presenta dos cámaras separadas (Ver Ilustración 1): la primera es la cámara anódica en donde se encuentra el electrodo (ánodo) y en la

segunda es la cámara catódica en donde se encuentra el electrodo (cátodo) que físicamente están separadas a través una membrana semipermeable conocido como membrana de intercambio protónico (MIP) (Ortiz et al., 2014). Paralelamente se realizan estudios en celdas de combustible microbiana de cámara simple (CCMS) cuya arquitectura incluye la cámara catódica en la parte superior y la cámara anódica en la parte inferior separadas a cierta distancia por la MIP (Ver Ilustración 2), facilitando la aplicabilidad y su implementación en este trabajo (Zhu et al., 2011).

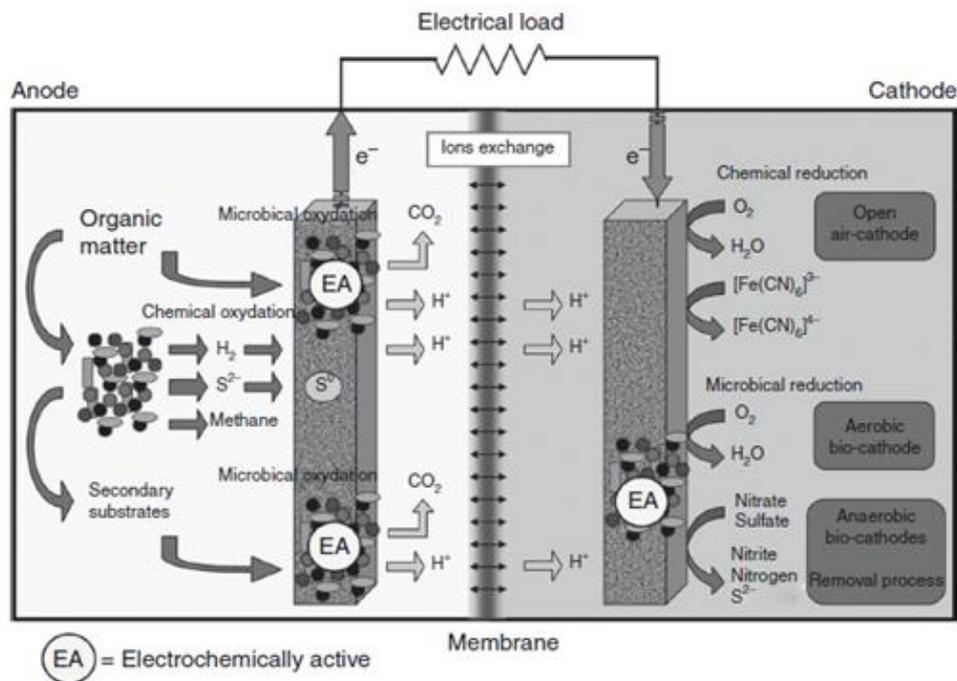


Figura 1. Esquema de una CCM de doble cámara.

Fuente: (Scott, 2014)

Las CCMSs son sistemas prometedores por cuanto a su facilidad técnica de instalación, manejo y simplicidad. Acoplándose a procesos de remediación ambiental como es el caso del tratamiento de aguas residuales (domesticas e industriales), y el tratamiento de residuos sólidos orgánicos e inorgánicos convirtiéndose prioridad en el campo científico cumpliendo políticas ambientales actuales (López, 2010).

1.1.1.1. Compartimento Anódico.

En este compartimiento se da el proceso de oxidación del sustrato presentes en las CCMs a través de las comunidades microbianas como catalizadores para generar:

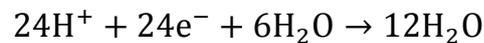
dióxido de carbono y liberar electrones, estos son captados por el electrodo ánodo y transferidos al cátodo utilizando un circuito externo. La glucosa es el principal nutriente para el crecimiento bacteriano, dándose la siguiente reacción:



Simultáneamente en el compartimento anódico se generan protones que alcanzan el compartimento catódico mediante la MIP combinando con el oxígeno del aire y reduciéndose a agua (Li et al., 2011). La transferencia de electrones es un punto importante en CCMs, debido a que utilizan distintas vías: citocromos, mediadores y pilis. Los electrones son conducidos mediante un circuito externo y los protones son captados en el cátodo para combinarse con el oxígeno y formar agua (Zhou et al., 2014).

1.1.1.2. Compartimento Catódico

Este compartimento desempeña un papel importante en el rendimiento de las CCM, la eficiencia depende de la reacción en concentración de protones y el oxígeno como aceptor de electrones debido a su potencial estándar (0,818 mV), bajo costo y compatibilidad. Estableciendo la siguiente ecuación:



Para aumentar la velocidad de reducción del oxígeno se utiliza catalizadores químicos como de Pt (Platino) que funciona de manera eficaz. Sin embargo su aplicación tiene un costo elevado (Zhou et al., 2014). En el contexto actual se determina el gran potencial de esta nueva tecnología de generación de bioelectricidad evaluando su desempeño bajo distintas condiciones de operación y estudio con fines de aplicabilidad futura.

En las CCMs el desempeño de los electrodos es importante a ser estudiado ya que está influenciado por distintos factores que se reflejan en valores medidos mediante los siguientes parámetros: a) la diferencia de potencial (ΔV), b) la densidad de corriente (A/m^2) y c) la densidad de potencia (W/m^2), expresados en relación al área superficial de los electrodos. La herramienta más utilizada en las CCMs son las curvas de polarización cíclicas que permiten obtener el potencial y la intensidad, picos anódicos y catódicos. Para aplicar estas pruebas mencionadas implica tener estabilidad en estos

sistemas de acuerdo a su configuración de diseño. Existen estudios realizados con CCMSs (Ver ilustración 2), que explican “hasta cierto grado” fenómenos que influyen en estos sistemas (Burgos, 2012).

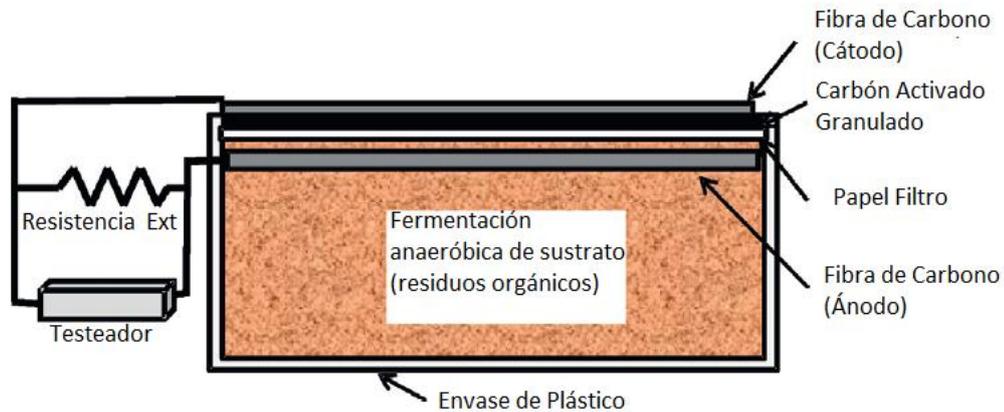


Figura 2. Diseño de CCM cámara simple.

Fuente: Modificado a partir de (Moqsud et al., 2013)

1.1.2. COMBUSTIBLE MICROBIANO EN CCMs.

1.1.1.3. RESIDUOS ORGÁNICOS BIODEGRADABLES.

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

La bioenergía se ha convertido en una fuente sostenible de producción energética en varias comunidades como una alternativa en conservación del ambiente, originando tecnologías prometedoras pero desafiantes basándose en la espontaneidad de convertir la biomasa en electricidad. (Behrend, 2011). La utilización de biomasa para generar electricidad mediante CCM podría ser una alternativa energética en el futuro. Aunque la corriente y potencia generadas son bajas comparando con otras fuentes convencionales, su interés radica en identificar la población microbiana presente en las CCMs (Martin et

al., 2013), por ello se han realizado estudios con el fin de identificar la diversidad genética de estas comunidades microbianas cultivables secuenciando el gen 16S rRNA para su identificación (Mocali et al., 2013). Sin embargo se ha indagado los principales sustratos a base de aguas residuales y biomasa lignocelulótica probando su rendimiento, limitaciones y los mejores nutrientes utilizados para maximizar su desempeño y potenciar esta aplicación creando sistemas sostenibles y sustentables (Pant et al., 2010).

Para las CCMs es imprescindible el aporte del sustrato como fuente de nutrición para la comunidad bacteriana, por esta razón se implementan en plantas de tratamientos de aguas residuales utilizando sustratos como el estiércol de animales, lodos de ríos, entre otros. Siendo su objetivo la remoción de contaminantes utilizando CCMs con diseños de cámara doble y cámara simple, generando simultáneamente electricidad (Ibañez y Hernández, 2008).

1.1.1.1. BIOMASA LIGNOCELULOTICA.

Gran cantidad de materia lignocelulótica es resultado de diferentes actividades agrícolas y fuente para la producción de energía renovable formado por lignina, celulosa y hemicelulosa las cuales son primordiales en diversas industrias a nivel mundial. A pesar de su abundante producción su obstáculo radica en su conversión mediante la hidrolización de celulosa a azúcares y la presencia de lignina para lograr su degradación. De igual manera su aplicación en CCM no puede ser aprovechada directamente por los microorganismos existentes en el ánodo de la CCM por consecuencias de transformación de biomasa lignocelulótica a unidades de bajo peso molecular como monosacáridos (Pant et al., 2010). Al utilizar este tipo de sustrato demanda una comunidad de microorganismos con acción celulolítica, de manera que aún no se han encontrado comunidades hacia la conversión de pentosas (componente del hidrolizado lignocelulósicos).

Basándonos en la capacidad degradadora de microorganismos electrogénicos sobre sustratos (residuos orgánicos). Se realizó un trabajo previo utilizando residuos orgánicos: verduras y frutas en proporciones en peso 50:50 respectivamente, se utilizó simultáneamente dos casos de estudio como fuente de inóculo: suelo de la Comunidad Pichan Central-Andes y suelo de la Comunidad Achuar Kaipatch- Amazonia. De tal

manera que fueron configurados las CCM a diferentes volúmenes (20L, 12L y 4L). Debido a que fueron monitoreados en distintas regiones con condiciones propias para cada caso de estudio se determinó el tamaño para Andes: celda de 12 L y para Amazonía: celda de 4 L para Amazonía mostrando mejor desempeño para cada caso (Logroño, 2014). Partiendo de esta investigación se realizó la configuración e instalación de CCM de 12 L con diferentes matrices orgánicas (residuos orgánicos) como sustratos, relación en peso de verduras y frutas: M1 (50:50), M2 (75:25), M3 (25:25). Monitoreados durante 60 días registrando la electricidad en mili voltios (mV), temperatura interna de las celdas (°C), pH en la zona anódica de las CCM. El registro del voltaje fue de forma manual (Multímetro) y automático mediante sensores. Además se evaluó el crecimiento microbiano del compartimento anódico expresado en unidades formadoras de colonias (UFC) de cada una de las celdas verificando la influencia es esta sobre la generación de electricidad durante el tiempo de operación.

1.1.1.4. AGUAS RESIDUALES

De manera general en los últimos años se utiliza glucosa y acetato para la generación de energía en sistemas bioelectroquímicos, de manera que nos permite en la actualidad implementar sustratos complejos y amigables con el ambiente mediante métodos de depuración como la biorremediación de aguas residuales para remoción de su carga orgánica presente. Este sustrato es económicamente aplicable, abundante y de fácil obtención contribuyendo un desarrollo prometedor para el tratamiento de aguas residuales industriales o domésticas. (Revelo et al., 2013).

Para la Industria de fabricación de colorantes y textiles es un reto en la conservación del ambiente se considera la presencia de compuestos azoicos en efluentes provenientes de estas industrias a nivel mundial. (Walters et al., 2005). La investigación científica se ha enfocado a una producción más limpia en procesos finales industriales aplicando tecnologías alternativas, como es el desarrollo de CCMs para disminuir la contaminación causada por la liberación de sustancias como aminas aromáticas químicamente perjudiciales para la salud y el ambiente. Sin embargo aplicando esta tecnología se busca generar simultáneamente energía eléctrica, se ha considerado la mezcla de agua residual domestica e industrial con la finalidad de mejorar el desempeño

de las CCMs y se recomienda probar con otros compuestos complejos como lixiviados (Pant et al., 2010).

Según (Buitron y Pérez, 2011) se aplicó CCMs para el tratamiento de aguas residuales en el Campus Juriquilla de la UNAM, se realizó pruebas cinéticas de electricidad en diferentes distancias de electrodos determinando el voltaje producido en tres CCMs con diferentes volúmenes (40, 80 y 120 mL) en condiciones similares siendo su alimentación de 100 mL de acetato de sodio en agua residual; como resultado no se mantuvo efecto negativo alguno por la distancia de los electrones (CCM 120 mL se alcanzó un voltaje de 660 mV, CCM 40 y 80 mL se obtuvo 532 mV a 540 mV). Sin embargo la potencia volumétrica se relaciona directamente con la distancia de los electrodos, lo cual se debe optimizar el diseño de las CCMs en razón de potencia.

1.1.3. SUSTRATOS

En sistemas de CCMs el sustrato constituye un factor esencial para la generación de energía (Ver Anexo 7). Se emplea una extensa variedad de sustratos desde sustancias puras (glucosa y acetato) hasta mezclas complejas (lodos residuales y residuos orgánicos e inorgánicos) (Revelo et al., 2013). En revisiones bibliográficas se encuentran distintas investigaciones que han empleado diferentes concentraciones de sustrato (Ver Tabla I).

Tabla I. Sustratos utilizados en CCMs

SUSTRATO	TIPO DE CCM	P_{max} (mW/m ²)	REFERENCIA
Glucosa	Cámara doble	283	Rahimnejad et al. (2011)
Suero de Queso	Cámara doble	42	Stamatelatou et al. (2011)
Desperdicios de Alimentos	Cámara simple	207,2**	Kannaiah and Venkata (2011)
Con aceite de palma de acetato de efluentes	Cámara doble	622	Jong et al. (2011)
Las aguas residuales Lácteos	Cámara simple	5,7	Ayyaru and Dharmalingam (2011)
Lixiviados	Cámara simple	20,9	Va'zquez-Larios et al. (2011)
Basura compuesta de alimentos	Cámara simple	107,89	Goud et al. (2011)
Farmacéutica Aguas Residuales	Cámara simple	177,36	Velvizhi and Venkata (2011)
Colorantes Azo	Cámara simple	-	Sun et al. (2011)

Las heces humanas de Aguas Residuales	Cámara doble	70,8	Du et al. (2011)
Las aguas residuales penicilina sintético con glucosa	Cámara simple	101.2*	Wen et al. (2011)
Aguas residuales de papel	Cámara simple	125***	Velasquez et al. (2011)
Aguas Residuales Lácteos	Cámara simple	25***	
Aguas Residuales de Cervecería y panadería	Cámara simple	10***	
Aguas Residuales de destilerías	Cámara simple	245,34	Mohanakrishna et al. (2012)
Los lodos de depuradora	Tubular MFC	73	Yuan et al. (2012)
Efluente del clarificador primario	Cámara simple	13	Ishii et al. (2012)
Aguas residuales de destilería de alcohol	Cámara doble	1000	Ha et al. (2012)
Aguas residuales de agricultura	Cámara simple	13	Nimje et al. (2012)
Aguas residuales Domésticas	Cámara simple	42	-
Aguas residuales de Papel	Cámara simple	8	-
Aguas residuales de alimentos/de leche	Cámara simple	15	-
Vino Descompuesto	Cámara doble	3,82*	Rengasamy and Berchmans (2012)

*Wm⁻³

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

***mA/m²

Fuente: (Zhou et al., 2014)

1.1.4. MICROORGANISMOS ELECTROGÉNICOS EN LAS CCMS

El desarrollo de microorganismos electrogénicos está determinado por la disponibilidad macro y micronutrientes para su adecuado desarrollo, facilitando la biosíntesis del sustrato y la producción de energía (Prescott et al., 2004). En sistemas CCM el desarrollo microbiano dependerá de las rutas metabólicas como la hidrólisis y la fermentación (Velasquez et al., 2011) que van a determinar el flujo de electrones y protones de acuerdo a la disponibilidad del sustrato en el compartimento anódico. El potencial del ánodo determina la transferencia de electrones, mientras mayor sea el potencial mayor será la transferencia de electrones. Las condiciones de operación en este estudio fue a campo abierto, indicando que las CCMS estaban sujetos a cambios de temperatura ambiental (Revelo et al., 2013).

Se han realizado estudios de la diversidad microbiológica en CCMs relacionadas directamente con la generación de electricidad (Rubaba et al, 2013). La caracterización de especies bacterianas electroquímicamente activas buscan mejorar el rendimiento de las CCMs (Jung y Regan, 2007). Estudios han evaluado la capacidad de los microorganismos electrogénicos tratando con cepas puras y poblaciones microbianas evaluando en términos de eficiencia coulombica, tratando con cepas puras de *Geobacter sulfurreducens* y *Rhodospirillum rubrum* que generó una eficiencia coulombica de 98%, mientras que tratando con poblaciones microbianas generó eficiencias coulombicas de 90%. Para estos tratamientos se utilizó como combustible glucosa y acetato (Burgos, 2012). Otros estudios se han determinado grupos de microorganismos presentes en las CCMs mediante electroforesis en gel desnaturizante en gradiente (bandas de DGGE), técnica molecular que implica la secuenciación de los genes 16S de los grupos bacterianos más representativos presentes en el compartimento anódico de las CCMs. Se determinó las comunidades bacterianas predominantes como asociadas a los géneros: *Geobacter*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Enterobacter*, *Dechlorosoma* (Mocali et al., 2013).

La presencia de diversas comunidades microbianas en CCMs ha mostrado un buen desempeño de estos dispositivos debido a que están sujetos a diversos factores: la disponibilidad y cambios del sustrato (Zhang et al., 2011), las relaciones ecológicas como competencia y sucesión (Jung y Regan, 2007), relacionados a factores de operación. Muchas investigaciones se realizan a nivel de laboratorio y el presente trabajo se realizó a nivel de campo ya que incluye bacterias provenientes del suelo (páramo Alto Andino Pichán) alimentado con residuos de materia orgánica.

1.2. MARCO LEGAL

Según el TULSMA (28)

Título VII (régimen del buen vivir)

Capítulo segundo (Biodiversidad y recursos naturales)

Sección séptima (Biosfera, ecología urbana y energías alternativas)

Art. 413.-El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua.

Art. 414.- El Estado adoptará medidas adecuadas y transversales para la mitigación del cambio climático, mediante la limitación de las emisiones de gases de efecto Invernadero, de la deforestación y de la contaminación atmosférica; tomará medidas para la conservación de los bosques y la vegetación, y protegerá a la población en riesgo.

Art. 415.- El Estado central y los gobiernos autónomos descentralizados adoptarán políticas integrales y participativas de ordenamiento territorial urbano y de uso del suelo, que permitan regular el crecimiento urbano, el manejo de la fauna urbana e Incentiven el establecimiento de zonas verdes. Los gobiernos autónomos descentralizados desarrollarán programas de uso racional del agua, y de reducción, reciclaje y tratamiento adecuado de desechos sólidos y líquidos. Se incentivará y facilitará el transporte terrestre no motorizado, en especial mediante el establecimiento de ciclo vías (Legislación, 2013).

CAPITULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE ESTUDIO

El suelo Alto Andino del Páramo Pichán Central-Ecuador ha sido de interés por parte del Consejo Provincial y de ONGs nacionales e internacionales que en colaboración con la ESPOCH, han ejecutado varios trabajos de graduación: determinación de carbono orgánico, plan de manejo de humedades y una primera cuantificación de microorganismos con fines de aplicación en bioenergía demostrando su gran diversidad. Las condiciones climáticas fueron determinadas por la ubicación geográfica y la topografía. Se georeferenció el lugar de muestreo cuya ubicación es 763136E – 9833824S (07 de Mayo de 2014 a las 11H30) utilizando una estación meteorológica portátil (Kestrel 1000) se obtuvo los siguientes datos: altura 4075 m.s.n.m.; velocidad promedio del viento 0,8 m/s; temperatura ambiente 9,9 °C; presión barométrica 631,6 hPa; temperatura del suelo 9,1 °C pero puede llegar a bajo cero grados centígrados en las madrugadas. El suelo de Pichán es prometedor principalmente al ser un ecosistema del páramo el cual permite el almacenamiento de líquido vital y carbono orgánico (Ver Fotografía 1).

Fotografía 1. Páramo Pichan Central



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

2.2 METODOLOGÍA

2.2.1 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.2.1.1 MÉTODOS

2.2.1.1.1 MUESTREO DE SUELO Y MATERIA ORGANICA PARA LAS CCM

A. MUESTREO DE SUELO

Las características fisicoquímicas son determinantes en cuanto a la ecología microbiana presente en el suelo como aporte para las CCMs y su estudio. Las condiciones topográficas y climáticas que presenta el lugar muestreado (ubicado junto a una laguna) (Ver Fotografía 1) determina la gran diversidad del páramo de Pichán Central (Rügnitz Tito et al., 2009).

Se consideró profundidades desde 0,30 m a 0,50 m con un área de 6 m x 6 m, estableciendo un trazo en forma de X tomando muestras a cada 0,5 m para 24 puntos en total mediante un barreno de muestreo (Ver Fotografía 2) (Cunalata et al., 2013). Se homogenizó el suelo muestreado y se colocó en fundas plásticas etiquetadas para su traslado en forma aséptica hacia el lugar de instalación de las CCMs, se tomó aproximadamente 8 kg de suelo, cantidad suficiente para ser usadas en las tres CCMSs con matrices orgánicas diferentes.

Además se procedió a tomar la primera muestra de suelo para estimar su crecimiento mediante la siembra in situ de la muestra (Ver Fotografía 3) utilizando 1 g suelo en diluciones (-1), (-2) y (-3) tomando en cuenta las condiciones iniciales y el efecto de la temperatura óptima del microorganismo cultivable (Ver Anexo 1). Se propuso tres diferentes temperaturas de incubación Temperatura mínima (4 grados centígrados), Temperatura máxima (30 grados centígrados) y Temperatura Ambiente en laboratorio (17 grados centígrados) para mantenerlas en observación y conteo. (Rodriguez et al., 2005)

Fotografía 2. Toma de Muestra Suelo



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 3. Siembra Microbiológica Inicial de Suelo



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

B. MUESTREO MATERIA ORGANICA PARA CCM

Los residuos sólidos orgánicos constituyen una mezcla de hidratos de carbono, proteínas, lípidos y fibras (celulosa, hemicelulosa y lignina) (El-Chakhtoura et al., 2014), por tanto poseen gran cantidad de microorganismos que degradan los compuestos orgánicos complejos bajo distintas condiciones, de esta forma puede ser aprovechado en sistemas CCMs, (De la Cruz Rodriguez, 2012). Los residuos orgánicos biodegradables se han convertido en el sustrato ideal en CCMs, debido a su fácil acceso ya que diariamente salen como residuos en hogares y mercados.

La selección de materia orgánica para formar el sustrato en las CCMS, se tomó en consideración frutas y verduras que más comúnmente son desechados en los mercados de la localidad por lo tanto se puede obtener en cualquier época del año. Para esta investigación se trabajó con residuos de M.O del mercado la Condamine de la ciudad de Riobamba (760779E – 9814915S, altura 2762 m.s.n.m.) en una relación en peso de verduras-frutas M1(50:50); M2(75:25) y M3(25:75) respectivamente, las frutas seleccionadas fueron: (banano) *Musa acuminata* (Robinson y Saúco, 2011), (naranja) *Citrus sinensis* (Albán y Freire, 2009), (manzana) *Malus communis* (Palomo et al., 2010), (piña) *Ananas comosus Merrill* (Cerdas, 2003) (considerada para esta investigación por su alto contenido de azúcar) y verduras (cáscara de alverja) *Pisum sativum* (Mocali et al., 2013), (Cáscara de Haba) *Vicia faba* (Peralta, Cevallos et al., 1993), (Cáscara de zapallo) *Cucurbita máxima* (Ordóñez, 2008), (Col) *Brassica Pekinensis* (Jaramillo y Díaz , 2006)), las relaciones de M.O para cada celda fue de 1000g de contenido total aproximadamente respecto a las relaciones correspondientes para cada celda para conformar las matrices antes mencionadas y la distribución de pesos para cada componente (Ver Tabla II).

Tabla II. Cantidad de Materia Orgánica por componentes en cada Matriz.

MATRIZ ORGÁNICA					Peso total por Matriz en g
RELACIÓN	FRUTAS	Peso c/u en g	VERDURAS	Peso c/u en g	
M1 50:50	Piña	125	Col	125	1000
	Manzana		Haba		
	Naranja		Alverja		
	Banano		Zapallo		
M2 75:25	Piña	63	Col	188	1004
	Manzana		Haba		
	Naranja		Alverja		
	Banano		Zapallo		
M3 25:75	Piña	188	Col	63	1004
	Manzana		Haba		
	Naranja		Alverja		
	Banano		Zapallo		
				TOTAL M.O	3008 g

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 4. Toma de muestra M.O Frutas



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 5. Toma de muestra Vegetales



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

2.2.1.1.2 INSTALACIÓN Y CONFIGURACION DE LAS CCM

A. HOMOGENIZACIÓN DEL SUELO Y CONFIGURACIÓN DE LA MATRIZ ORGÁNICA.

Se homogenizó el suelo muestreado para cada celda (Ver Fotografía 6) y de igual forma con la materia orgánica, las cuales fueron triturados a trozos menos de 1cm para lograr una mejor homogenización (Ver Fotografía 7). Se realizó de manera individual para cada fruta y verdura para conformar la Matriz Orgánica que es el sustrato de las CCM, se tomó los pesos para cada componente tomando en cuenta los pesos individuales de cada matriz M1, M2 y M3 (Ver Tabla II).

Fotografía 6. Homogenización del suelo muestreado



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 7. Trituración de M.O.



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

B. CONFIGURACIÓN DE LAS CCMs

La instalación de las CCMs para este estudio se utilizó el diseño de cámara simple distribuyendo sus componentes en las celdas con capacidad volumétrica de 12L (Ver Tabla III). Para la configuración de cada una de las CCMs se siguieron los siguientes procedimientos:

- a) El compartimento anódico se distribuye añadiendo 2,1 Kg de suelo muestreado homogenizado (Ver apartado 2.2.1.1.2 A) con 0,9 Kg de residuos sólidos orgánicos que corresponde a la matriz orgánica homogenizada (Ver Tabla II), se hizo una mezcla homogénea de estos

componentes y se colocó de manera uniforme en cada una de las celdas (Ver fotografía 8).

Fotografía 8. Configuración del compartimento anódica



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

- b) Sobre la mezcla de la celda se colocó el electrodo ánodo, para este estudio se utilizó fibra de carbono (tela de carbono) con dimensiones (0,3 m * 0,25 m) cubriendo una superficie de 750 cm² en cada celda, sujetado con un lagarto de conexión con un cable de cobre para formar el circuito externo (Ver Fotografía 9).

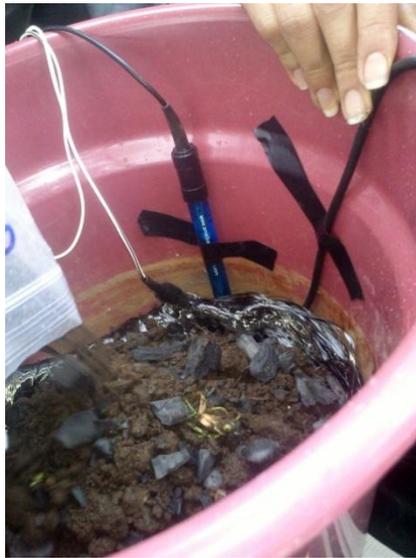
Fotografía 9. Instalación del electrodo ánodo



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

- c) Sobre el electrodo ánodo se configuró el espacio que corresponde a la MIP (Membrana de Intercambio de Protones) mezclando 0,9 kg de suelo muestreado homogenizado con 120 g de carbón activado tamaños que comprende de 1-2 cm. Se instaló los sensores de pH y Temperatura colocados en la pared interna de las celdas situando de tal forma que estén en el compartimento anódico (Ver Fotografía 10).

Fotografía 10. Instalación de sensores



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

- d) Sobre la MIP se colocó el electrodo cátodo de igual forma que el electrodo ánodo. Se colocó agua en la celda hasta que el nivel del mismo sobrepase 2cm del electrodo cátodo con el fin de crear condiciones anaeróbicas en el compartimento anódico (Ver Fotografía 11).

Fotografía 11. Colocación del electrodo cátodo



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Tabla III. Contenido total de materiales para cada CCM

RELACIONES DE MATERIALES UTILIZADOS				
CCM	Repetición	Suelo (kg)	Residuos orgánicos (kg)	Carbón (g)
12L	1	2.1	0.9	120

Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

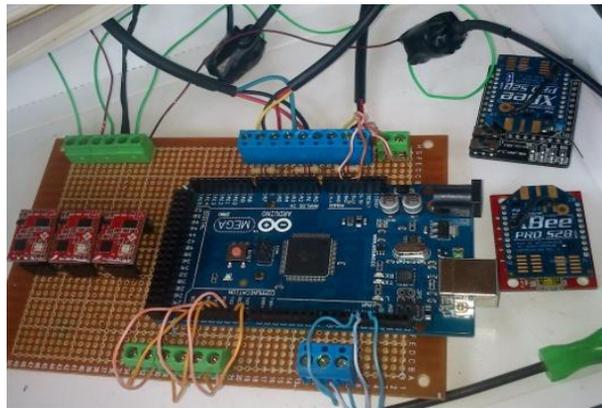
C. INSTALACION DE LOS SENSORES Y TRANSMISION DE DATOS DE LAS CCMs

El monitoreo de parámetros como pH, temperatura y el voltaje es importante para determinar el comportamiento de las CCM. Se instaló sensores de temperatura (Sensor de temperatura DS18B20), pH (American Marine PINPOINT pH Probe Arduino) (Ver Anexo 9) y el voltaje considerando su ubicación en la parte anódica (Ver Fotografía 10) los cuales fueron conectados a una tarjeta electrónica (Arduino Mega 2560 R3). Mediante lenguaje de programación se realizó lecturas de pH, voltaje y temperatura de la CCM.

Se utilizó dispositivos electrónicos para transmisión de datos de forma inalámbrica hacia un servidor el cual recibió datos a cada 10 min durante 60 días de monitoreo, se utilizó módulos XBEE PRO S2 que tiene la capacidad de conectividad inalámbrica con comunicación serial, estos módulos fueron configurados desde la PC utilizando el programa X-CTU, los módulos fueron adaptados al ARDUINO mediante XBee

Explorer Regulated para el envío de datos y para la recepción de datos mediante XBee Explorer USB conectado al servidor (Ver fotografía 12). La recepción y almacenamiento de datos en el servidor se lo hizo utilizando el software LabVIEW (Ver Anexo 10) que receptaba los datos a cada 10 min almacenando un registro de cada parámetro (Ver Anexo 9).

Fotografía 12. Dispositivos Electrónicos



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Finalmente culminado los procedimientos detallados en los apartados 2.2.1.1.1 y 2.2.1.1.2 se procedió a montar las celdas sobre una estructura de madera a una altura aproximadamente 1,5 metros con la finalidad de facilitar la transmisión de datos. Los sensores fueron alimentados por una toma corriente convencional utilizando transformadores de 5 V de salida. Se inició las pruebas de transferencia de datos y pruebas de los sensores el cual durante los dos primeros días y ocasionalmente en el tiempo de monitoreo hubo pérdida de datos por ajustes en la programación de transferencia tanto para envío como recepción de datos (Ver Fotografía 13).

Fotografía 13. Montaje de CCMs



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Además se tomó datos de forma manual tres veces al día; 8H00, 12H00 y 19H00 durante los 60 días de monitoreo utilizando un multímetro para realizar las mediciones en milivoltios de cada CCMs en funcionamiento. Para el manejo y análisis de datos se utilizó el Software IBM SPSS Statistics 22 e InfoStat con la finalidad de obtener una base de datos óptima y reflejar el funcionamiento de los dispositivos electrónicos en resultados finales.

2.2.1.2 TÉCNICAS

2.2.1.2.1 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL SUELO

El análisis correspondiente de las propiedades físico-químicas de suelo del páramo Alto Andino-Pichan Central se realizó en el laboratorio del Departamento de Suelos Facultad de Recursos Naturales-Espoch determinando la cantidad de nutrientes y características principales, relacionando para aplicación en la generación de bioelectricidad (Ver Anexo 4).

Tabla IV. Análisis Físico Químico del Suelo

IDENTIFICACIÓN	pH	% M.O	mg/L		Meq/100g			uS
			NH4	P	K	Ca	Mg	Conducción eléctrica
SUELO PÁRAMO PICHÁN	5.5 L. Ac	3.7 M	11.5 B	68.1 A	0.24 B	10.2 M	5.7 Notable	203/ No salino
MÉTODO UTILIZADO	METODO OLSEN							

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014 (Resultados Departamento de Suelos)

2.2.1.2.2 ANALISIS BROMATOLOGICO DE MATERIA ORGANICA

También conocido como Análisis Proximal Weende el cual permite determinar y analizar los compuestos de mayor proporción presentes en los alimentos utilizando este método estandarizado incluye: Extracto etéreo, Ceniza, Humedad, Fibra cruda, Proteína total y Extracto libre de Nitrógeno, para este caso en diferentes proporciones de verduras-frutas en cada MFC. Cabe destacar la necesidad de las condiciones de cada análisis para no generar errores que perjudiquen el resultado final de cantidades respectivas de cada contenido. Los análisis se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias mediante técnicas de procedimiento adecuadas para cada análisis como se detalla (Ver Anexo 5), en cual nos aportó resultados con información necesaria de la composición de cada matriz orgánica como sustrato enriquecido para el funcionamiento de las CCMs .

2.2.1.2.3 TOMA DE MUESTRA DE LAS CCM

Las CCMs al estar compuesta por muestras de suelo y materia orgánica contienen una gran variedad de poblaciones microbianas por lo que es importante conocer la cantidad representativa de estas poblaciones utilizando técnicas de cuantificación microbiológica. Se tomó muestras de un gramo aproximadamente del compartimento anódico durante 60 días a las 19H00 mediante una espátula diseñada para dicho fin. Para el procedimiento de cultivo se mantuvo en refrigeración hasta el siguiente día. Se mantuvo condiciones estériles al momento de cultivar en instrumentos y equipos utilizados durante el proceso de cultivo. Dicho procedimiento se realizó en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales-Espoch.

2.2.1.2.4 CULTIVO Y CONTEO BACTERIANO.

El crecimiento de microorganismos depende de las condiciones adecuadas tanto químicas como físicas para su adaptación de acuerdo a características propias del organismo para observación y nutrientes artificiales preparadas como medios de cultivos (ANE). Para su desarrollo intervienen factores de crecimiento tales como: Disponibilidad de nutrientes, consistencia del medio, acidez-alcalinidad, presencia o no

de oxígeno, grado de humedad, luz ambiental, pH, temperatura y esterilización del medio para el crecimiento óptimo de bacterias, libres de contaminación para una multiplicación adecuada (Santambrosio, 2009).

El resultado de crecimiento bacteriano en medio sólido está determinado por unidades formadoras de colonias (UFC) consideradas como el crecimiento celular de manera asincrónica, ya que cada microorganismo puede encontrarse en diferente punto del ciclo celular (Madigan et al., 2004). Mediante un recuento viable diario se estimó el número de colonias presentes a diferentes horas de incubación; 48 horas, 72 horas y 96 horas en diferentes diluciones (Ver Tabla V) durante los 60 días de monitoreo de las CCMs.

Se realizó un recuento inicial en el día de instalación 07/05/2014 se utilizó agar nutritivo enriquecido con glucosa (ANE) para estimar el crecimiento y adaptación de la población bacteriana en materia orgánica proveniente del mercado de la localidad y el suelo de páramo central de Pichán después de 48-72 horas de incubación de cada muestra a diferentes temperaturas: Temperatura Ambiente (17°C), Temperatura mínima (4 grados centígrados) y Temperatura máxima (30 grados centígrados) para diluciones (-1, -2, -3) y determinar inicialmente su desarrollo y adaptación mediante la técnica de la reducción progresiva de una concentración en disolución llamada dilución en serie y diseminación superficial en placa (Ver Anexo 1.).

Además para los siguientes recuentos durante los primeros 9 días de monitoreo siguientes se realizó siembras a las diluciones (-1, -2, -3) para estimar las diluciones apropiadas para el conteo, cultivadas a temperatura ambiente (17°C). Para las diluciones (-4, -5, -6) se realizó los 15 días siguientes y las diluciones (-5, -6, -7) se conservaron para todos los siguientes días hasta finalizar la toma de muestra y el registro de UFC de cada CCM. Basándonos en las observaciones anteriores se tomó como referencia las diluciones (-5, -6, -7) como resultado de un conteo óptimo y observación de crecimiento progresivo de microorganismos en cada una de las muestras (Ver Tabla V).

Tabla V. Monitoreo UFC

MONITOREO	DILUCIONES						
	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7
Primera semana (07/05/2014- 15/05/2014)	x	x	x				
Segunda y Tercera semana (16/05/2014- 29/05/2014)				x	x	x	
Cuarta a Novena semana (30/05/2014- 05/07/2014)					x	x	x

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Para el análisis gráfico de datos de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se utilizó la transformación logaritmo natural $\ln(x+1)$ para datos que tienen un rango amplio por lo tanto es conveniente representarlos con la finalidad de comprender su comportamiento (Bahamonde, 1985) en los datos de la dilución 10^{-6} a las 72 horas.

2.3 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

2.3.1 MATERIALES

2.3.1.2 LUGAR EXPERIMENTAL

La Instalación y Monitoreo de las CCMs se realizó en la estación meteorológica automática de la Facultad de Ciencias INER– ESPOCH en la ciudad de Riobamba donde se construyó una estructura de madera con objetivo de soporte para las celdas a una altura aproximadamente 1,5 metros para facilitar la transmisión de datos a 200 metros del servidor.

2.3.1.3 MATERIALES EXPERIMENTALES

Los materiales utilizados en este trabajo de investigación tanto en campo, instalación y laboratorio se detalla en la siguiente tabla:

Tabla VI. Materiales Experimentales

ETAPA DEL PROYECTO	MATERIALES	CANTIDAD
Muestreo de suelo de páramo Pichán Central para CCM	Guantes látex (par)	2
	Fundas plásticas	10
	Balanza portátil	1
	Agua Litros	5
	Pala de desfonde	1
	Marco rectangular de madera	1
	Barreno	1
	Alcohol litro	1
	Cinta métrica	1
Muestreo de la materia orgánica	Guantes látex	1
	Fundas plásticas	8
	Balanza portátil	1
Instalación de las CCMs	Baldes de 12 L	3
	Balanza portátil	1
	Fibra de carbono 0.3m x 0.3 m	6
	Cable de cobre delgada de 0.6 m Lagartos de conexión	6
	Tijeras	3
	Cuchillo	2
	Destornilladores	2
Muestreo para análisis microbiano	Cuchara para toma de muestra.	1
	Fundas plásticas.	4
	Alcohol L	1
	Agua L	2

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Tabla VII. Equipos Utilizados

ETAPA DEL PROYECTO	EQUIPOS	CANTIDAD
Muestreo de suelo de páramo Pichán Central para CCM	Estación meteorológica portátil	1
	GPS	1
	Termómetro de suelo	1
	pH-metro	1
Instalación de las CCMs	Arduino Mega R3	1
	Módulos Xbee pro S2	2
	XBee Explorer Regulated	1
	XBee Explorer USB	1
	Sensor de Temperatura Ds 18n20	3
	Sensor de pH American	3
	Marine Pinpoint pH Probe	3
Análisis Microbiológico	Multímetro	1
	Cámara de flujo laminar	1
	Balanza Analítica	1
	Agitador magnético	1
	Autoclave	1

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

2.3.1.4 MATERIALES DE LABORATORIO

Los materiales utilizados para el análisis microbiológico durante el tiempo de monitoreo se detallan en la siguiente tabla:

Tabla VIII. Materiales de Laboratorio

MATERIALES	REACTIVOS	SUSTANCIAS	EQUIPOS
Gradillas Toalla de Cocina Algodón Mechero Papel Aluminio Erlenmeyer de 250 ml Erlenmeyer de 500 ml Frasco para laboratorio tapa rosca 1000 ml. Probeta de 500 ml Pipeta de 10 ml Cucharas y espátulas	Agar nutritivo Glucosa K ₂ HPO NaCl	Alcohol al 70% Agua destilada Nistatin	Cámara de flujo laminar Balanza Analítica Agitador magnético Autoclave Refrigeradora

Pera de succión Tubos pirex con tapa 20ml Cajas Petri Micropipeteador de 100µl Micropipeteador de 1000µl Puntas volumétricas para micropipeteador Dispersores Marcadores Cinta de embalaje			
--	--	--	--

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

2.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.4.1 DISEÑO CUASI EXPERIMENTAL

Para la presente investigación no está sujeta a la manipulación de variables, se enfoca directamente a los sucesos o fenómenos que se manifiestan en el proceso natural del desempeño de las CCMs y sus variables (PH Anódico, Temperatura interna, Temperatura Ambiente, Unidades Formadoras de Colonias (UFC) y producción (mV)) para luego analizarlos mediante el Software IBM SPSS Statistics 22 como herramienta estadística a partir de registros diarios durante un periodo de 60 días mediante sensores y manuales. Se inició con la fase descriptiva de los datos obtenidos en la cual se realizó la limpieza y organización de la base de datos por sensores y manuales para su estudio detallado, seguidamente en la fase inferencial se evaluó la hipótesis y variables mediante un análisis univariado en la cual se comprobó nuestra hipótesis basándonos en pruebas no paramétricas disponibles (datos que no siguen una distribución normal) y aplicables para esta investigación.

2.4.2 PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

2.4.2.1 HIPÓTESIS TEXTUAL

Las proporciones de sustrato orgánico suministradas como combustible en CCMs influyen en la generación de bioelectricidad.

2.4.2.2 HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

$$H_0 = \mu M1 = \mu M2 = \mu M3$$

$$H_1 = \text{al menos un par es diferente}$$

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICO DEL SUELO.

Se determinó la cantidad de nutrientes y composición del suelo no antropogénico del Páramo de Pichan su importancia es de gran interés al proporcionar el mayor porcentaje de materia orgánica la cual al degradarse lentamente por el clima, presencia de ceniza de origen volcánico forma uno de los suelos propicios para su generoso aprovechamiento. Su contenido disponible participara en la influencia en la generación de bioelectricidad, presenta un suelo ácido en pH: 5.5 de tipo mineral presentando buenas características físicas, % de Materia Orgánica: 3.7 tiene una influencia en la capacidad de retención del grado de humedad por lo general su apariencia es de color oscura por causa de mayor cantidad de materia orgánica incrementando su capacidad de intercambio catiónico (CIC) e indica un excelente fuente de nutrientes para microorganismos beneficiosos, Amonio: 11.5B, Fosforo: 68.1 A, Potasio: 0.24B, Calcio: 10.2 M, Magnesio: 5.7 Notable, factores que intervienen notablemente en la caracterización química del suelo y Conducción Eléctrica en micro Siemens: 203 μ S/No salino (Ver Anexo 4).

Tabla IX. Caracterización del suelo Pichan Central

PARAMETRO	DATO
Ph	5.5 L. Ac
% Materia Orgánica	3.7 M
NH ₄ (Amonio)	11.5 B
P (Fósforo)	68.1 A
K (Potasio)	0.24 B
Ca (Calcio)	10.2 M
Mg (Magnesio)	5.7 Notable
Conducción Eléctrica	203 μ S/No salino

CODIGO	
N: Neutro	A: Alto
S: Suficiente	M: Medio
L. Ac: Lig. Acido	B: Bajo

Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

3.2. CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DEL SUSTRATO.

Mediante el análisis bromatológico del sustrato suministrado para cada matriz (Ver Anexo 6) nos proporcionó características en cuanto al aporte de nutrientes cuantitativas y cualitativas para cada una de las CCMs en sus respectiva matriz orgánica relación en peso verduras-frutas, M1 (50:50), M2 (75:25) y M3 (25,75):

Tabla X. Compuestos Matriz Orgánica 1 (50:50)

M1	
PARÁMETRO	DATO
MATERIA SECA	91,39%
HUMEDAD	8,61%
CENIZAS	8,48%
PROTEINA	10,67%
FIBRA CRUDA	20,53%
EXTRACTO ETereo	2,55%
ELN	49,17%

Fuente: Armas P, Ramírez G.2014 (Resultados de Laboratorio de Nutrición y Bromatología)

Tabla XI. Compuestos Matriz Orgánica 2 (75:25)

M2	
PARÁMETRO	DATO
MATERIA SECA	89,81%
HUMEDAD	10,19%
CENIZAS	7,44%
PROTEINA	7,43%
FIBRA CRUDA	25,00%
EXTRACTO ETereo	2,78%
ELN	47,16%

Fuente: Armas P, Ramírez G.2014 (Resultados de Laboratorio de Nutrición y Bromatología)

Tabla XII. Compuestos Matriz Orgánica 3 (25:75)

M3	
PARÁMETRO	DATO
MATERIA SECA	90,42%
HUMEDAD	9,58%
CENIZAS	9,28%
PROTEINA	9,76%
FIBRA CRUDA	21,79%
EXTRACTO ETereo	2,08%
ELN	48,20%

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014 (Resultados de Laboratorio de Nutrición y Bromatología)

Mediante el análisis proximal se determinó el porcentaje de nutrientes en materia seca de cada matriz, parámetros que determinaron el funcionamiento de las CCMs, porcentajes casi similares de los parámetros en cada CCMs. Para el porcentaje de humedad en cada una de las matrices presentó un resultado mayor de 10,19% en contenido de agua para la M2 (Ver Tabla XI), la cual se debe a la mayor cantidad de vegetales presente en esta matriz orgánica. En la obtención de compuestos inorgánicos restantes está representada por la cantidad de ceniza con un porcentaje mayor 9,28% para la M3 (Ver Tabla XII). Para el contenido de nitrógeno representado por la cantidad de proteína presenta con porcentaje mayor 10,67% en la M1 (Ver Tabla X). Para la fibra cruda formada por lignina, oligosacáridos, polisacáridos y otros compuestos contienen resultados similares excepto por M2 su contenido presenta 25,00% ya que contiene mayor cantidad de vegetales y menos contenido de frutas. En cuanto al contenido de grasa presente se determinó porcentajes inferiores al 2,78% para cada matriz orgánica.

Sin embargo los resultados en cuanto a Extracto libre de Nitrógeno determinado por el contenido de carbohidratos digeribles, vitaminas y otros compuestos solubles fundamentales para la formación de glucosa, el cual mediante proceso metabólico de glucolisis son transformados a energía. Presenta porcentajes similares en M1 y M3 la cual podríamos afirmar la presencia de compuestos asociados a carbohidratos provenientes en cuanto al contenido de frutas. Mientras M2 se ve determinada por el contenido mayoritario de verduras por tanto mayor cantidad de celulosa.

3.3. RECUENTO INICIAL MICROBIOLÓGICO

Se realizó un recuento inicial a diferente temperatura comprobando la presencia de colonias tanto en suelo (Ver Tabla XIII) y materia orgánica (Ver Tabla XIV). Para cuantificar el número de colonias bacterianas se utilizó la ecuación $UFC\ g\ suelo = N \times FD \times Vt/Vi \times S$, donde N es Numero de colonias, FD es Factor de dilución, Vt es Volumen de dilución (10 mL), Vi es Volumen inoculado en mL y S es Cantidad de suelo utilizado para la siembra, fue reportado como unidades formadoras de colonias (Ver Anexo 2).

Tabla XIII. Registro Inicial de UFC Suelo Pichán

	DILUCIONES		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
T Ambiente (17°C)	3.00E+05	1.16E+06	5.30E+06
T 30 °C	3.00E+05	1.55E+06	1.85E+07
T 4 °C	3.00E+05	5.00E+05	4.00E+06

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Presentó un gran crecimiento en las condiciones iniciales con características de morfología de colonias de: color blanco, plano y circular. Cabe resaltar que después de las 72 horas de incubación aparecen colonias amarillas con características similares, las cuales podrían diferir con las primeras por sus características únicas con influencia en la producción de bioelectricidad.

Tabla XIV. Registro Inicial UFC de M.O

REGISTRO UFC MATERIA ORGÁNICA				
MATRIZ ORGÁNICA	TEMPERATURAS	DILUCIONES		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
M1	T Ambiente	3.00E+05	3.00E+06	3.00E+07
	T 30 °C	3.00E+05	3.00E+06	3.00E+07
	T 4 °C	3.00E+05	3.64E+06	9.10E+06
M2	T Ambiente	3.00E+05	3.00E+06	3.00E+07
	T 30 °C	3.00E+05	3.00E+06	3.96E+07
	T 4 °C	3.00E+05	4.92E+06	1.40E+07
M3	T Ambiente	3.00E+05	3.00E+06	3.00E+07
	T 30 °C	3.00E+05	3.00E+06	3.00E+07
	T 4 °C	3.00E+05	3.00E+06	2.08E+07

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

3.3.1. CUANTIFICACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DURANTE LOS 60 DIAS.

Implementadas las CCMs se llevó a cabo el monitoreo de las celdas tomando muestras diarias del compartimento anódico, se describe en el apartado 2.2.1.2.3 para comprender el comportamiento microbiano en cada una de las CCMs y determinar su influencia en factores como: temperatura (°C), voltaje (mV), pH, Temperatura ambiente (°C), llevando un registro continuo de conteos a diferentes diluciones durante 60 días (Ver Anexo 3). Se consideró para el análisis la dilución (-6) y conteo a las 72 horas ya que presentó un crecimiento estable durante el tiempo de monitoreo (Ver Tabla XV).

Tabla XV. Registro UFC de CCMs a 72 horas

UFC dilución 10 ⁻⁶		
CCM1	CCM2	CCM3
4.35E+09	6.90E+09	8.90E+09
8.40E+09	4.80E+09	3.60E+09
4.80E+09	3.60E+09	6.80E+09
3.60E+09	5.63E+09	4.80E+09
4.20E+09	1.80E+09	6.00E+08
5.40E+09	4.88E+09	1.25E+10
4.80E+09	3.00E+10	8.70E+09
6.00E+09	3.23E+09	3.00E+10
1.00E+10	8.03E+09	1.13E+10
9.15E+09	3.30E+09	3.00E+10
1.12E+10	6.40E+09	9.00E+09
9.80E+09	1.20E+09	1.08E+10
9.90E+09	1.10E+09	3.00E+10
9.23E+09	5.90E+10	8.50E+09
7.35E+08	2.43E+10	9.10E+09
7.80E+08	1.71E+10	6.75E+09
1.11E+10	8.00E+08	1.50E+09
4.73E+09	6.00E+08	4.80E+09
6.60E+09	5.00E+08	2.60E+09
3.00E+09	2.00E+09	2.60E+09
6.00E+09	3.00E+10	1.06E+10
3.74E+09	2.00E+08	9.45E+09
8.44E+09	2.00E+08	7.35E+09
2.80E+09	2.10E+09	2.00E+09
3.30E+09	1.00E+08	9.00E+09
2.00E+09	1.40E+09	3.70E+09

1.10E+09	5.00E+08	3.20E+09
3.00E+08	1.00E+08	1.70E+09
1.50E+09	1.00E+08	2.00E+08
1.10E+09	1.00E+08	8.00E+08
7.00E+08	1.00E+08	1.10E+09
1.90E+09	2.10E+09	2.25E+09
1.40E+09	3.20E+10	6.30E+09
7.65E+09	5.00E+08	2.00E+09
1.16E+10	7.50E+09	1.00E+09
6.00E+08	4.28E+10	7.80E+09
6.53E+09	3.00E+10	1.00E+09
1.17E+10	3.62E+10	9.60E+09
5.40E+09	3.00E+08	9.60E+09
7.50E+09	2.70E+09	5.00E+08
3.00E+08	3.00E+08	8.00E+08
8.00E+08	4.00E+08	1.90E+09
8.00E+08	1.00E+09	9.83E+09
8.00E+08	1.30E+09	2.00E+08
2.70E+09	4.00E+08	1.80E+09
2.30E+09	1.60E+09	7.00E+08
1.10E+09	1.60E+09	1.00E+08
2.30E+09	5.00E+08	2.00E+09
1.50E+09	2.00E+08	1.30E+09
2.00E+08	2.00E+08	2.00E+08
9.00E+08	1.00E+08	1.00E+08

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

3.4. PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD

3.4.1. REGISTRO MANUAL DE VOLTAJE (mV)

Tabla XVI. Registro Promedio diarios de Voltaje en CCMs

CCM1	CCM2	CCM3
78.0	27.0	73.5
157.0	115.0	84.5
225.0	63.1	53.5
229.0	29.0	68.0
156.6	22.0	70.7
236.0	34.0	69.0
156.0	16.5	63.5
120.0	66.0	42.0
54.4	33.1	36.1
16.0	18.3	34.1
30.3	17.8	36.3
5.0	12.1	32.3
77.8	16.1	56.7
98.0	9.7	78.3
80.4	8.4	53.0
69.0	9.1	61.7
71.2	6.6	57.3
57.1	5.5	60.8
47.0	3.8	41.9
48.2	5.9	42.9
38.3	12.6	37.7
37.3	11.2	64.0
42.1	17.2	97.8
48.4	15.6	111.4
35.5	14.1	93.0
29.0	11.7	78.2
39.0	36.3	93.7
40.7	63.9	60.8
14.2	21.4	52.6
35.9	22.9	46.1
43.7	24.1	65.8
42.3	20.3	79.2
52.8	26.7	71.9
65.0	30.5	51.5
43.2	32.6	95.6
43.7	33.3	114.5

65.7	52.8	125.2
97.9	56.8	120.9
159.0	79.6	103.4
163.0	72.5	130.9
159.3	103.7	126.9
171.0	127.3	135.0
165.0	124.0	116.8
128.8	124.0	106.9
149.2	117.5	108.6
191.1	102.8	118.5
194.4	116.3	148.4
211.0	188.6	182.2
198.4	174.1	192.8
239.3	165.8	200.3
260.0	231.3	290.0
241.0	268.3	320.5
201.7	221.7	257.7
149.0	207.3	140.9
139.7	178.3	131.3
150.0	192.0	127.7
138.3	189.7	147.7
118.7	183.7	99.7
138.3	189.7	147.7
118.7	183.7	99.7

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Se analizó la producción de bioelectricidad registrados en forma manual con datos registrados por los sensores con la finalidad de validar el comportamiento durante el tiempo de monitoreo de la CCMs (Ver Anexo 11). Para lo cual se aplicó la prueba de Wilcoxon con un nivel de significancia de 0.05 y 0.01.

3.4.2. PRUEBA DE WILCOXON

Hipótesis

H_0 : Los datos de producción de bioelectricidad registrados en forma manual son iguales a los datos registrados por los sensores.

H_1 : Los datos de producción de bioelectricidad registrados en forma manual son diferentes a los datos registrados por los sensores.

Celda de Combustible Microbiano 1 (CCM1)

Hipótesis

$$H_0 : M_1 = S_1$$

$$H_1 : M_1 \neq S_1$$

El valor de p para CCM1 fue 0.0397 que es menor al nivel de significancia (0.05), por lo que se rechaza H_0 al 95% de confiabilidad, es decir existen diferencias significativas entre voltajes registrados de forma manual y voltajes registrados por los sensores. Sin embargo a un nivel de significancia de 0.01 (p-valor $0.03 > 0.01$) se acepta la H_0 al 99% de confiabilidad, es decir no existe diferencia significativa entre los voltajes registrados de forma manual y los voltajes registrados por los sensores, la cual será considerada para la evaluación entre CCM.

Celda de Combustible Microbiano 2 (CCM2)

$$H_0 : M_2 = S_2$$

$$H_1 : M_2 \neq S_2$$

El valor de p para la CCM2 fue 0.2077 que es mayor al nivel de significancia (0.05), por lo que se acepta H_0 , indicando que no existe diferencia significativa entre los voltajes registrados de forma manual (M_2) y los voltajes registrados por los sensores (S_2) al 95% de confiabilidad.

Celda de Combustible Microbiano 3 (CCM3)

$$H_0 : M_3 = S_3$$

$$H_1 : M_3 \neq S_3$$

El valor de p para la CCM3 fue 0.01612 que es menor al nivel de significancia (0.05), por lo que se rechaza H_0 al 95% de confiabilidad, es decir existen diferencias significativas entre los voltajes registrados en forma manual y los voltajes registrados por los sensores. Sin embargo a un nivel de significancia de 0.01 (p-valor $0.02 > 0.01$) se

acepta la H_0 al 99% de confiabilidad, es decir no existe diferencia significativa entre los voltajes registrados en forma manual y los voltajes registrados por los sensores, la cual será considerada para la evaluación entre CCM.

3.4.3. PRUEBA KOLMOGOROV SMIRNOV

Hipótesis

H_0 : Los datos siguen distribución normal

H_1 : Los datos no siguen distribución normal

Nivel de significancia (α): Se trabajó a un nivel de significancia de 0.05.

Tabla XVII. Resultados Prueba de Normalidad

	N	PARAMETROS NORMALES		MAXIMAS DIFERENCIAS			ESTAD.PRUEB	SIG.ASINTÓTICA
		Media	Desv. Estand	Absoluto	Positivo	Negativo		
M1	58	109.6874	72.12738	0.158	0.158	-0.086	0.158	.001 ^c
M2	58	72.2681	72.50008	0.242	0.242	-0.172	0.242	.000 ^c
M3	58	98.4336	61.14706	0.14	0.124	-0.14	0.14	.007 ^c
T1	58	14.5603	1.85085	0.09	0.08	-0.09	0.09	.200 ^{c,d}
T2	55	15.11	1.806	0.093	0.068	-0.093	0.093	.200 ^{c,d}
T3	57	15.56	2.132	0.15	0.11	-0.15	0.15	.003 ^c
TAMB	58	12.6379	1.16359	0.155	0.086	-0.155	0.155	.001 ^c
PH1	54	5.1111	0.37197	0.525	0.525	-0.383	0.525	.000 ^c
PH2	54	5.5926	0.63002	0.297	0.271	-0.297	0.297	.000 ^c
PH3	54	5.0556	0.49208	0.397	0.397	-0.362	0.397	.000 ^c
UFCEL1	51	4445784314	3600969643	0.136	0.136	-0.119	0.136	.019 ^c
UFCEL2	51	7452352941	1.3233E+10	0.306	0.306	-0.287	0.306	.000 ^c
UFCEL3	51	5908431373	7158102087	0.205	0.17	-0.205	0.205	.000 ^c

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Según el análisis en la tabla XVII el valor de p para cada variable presentó un valor inferior al nivel de significancia (0.05), es decir, se rechaza H_0 y se acepta H_1 ; afirmando que las variables de producción de electricidad medidos manualmente M1 (0.001), M2 (0.000), M3 (0.007), T3 (0.003), TAMB (0.001); Potencial de Hidrógeno pH1(0.000), pH2 (0.000) pH3 (0.000); Unidades Formadoras de Colonias UFCcelda1 (0.019), UFCcelda2 (0.000), UFCcelda3 (0.000) no sigue una distribución normal, a excepción de temperaturas T1 (0.200), T2 (0.200) que siguen una distribución normal al 95% de confiabilidad.

Dado que la mayoría de variables no siguen una distribución normal se consideró realizar transformaciones para normalizar datos como: transformación raíz cuadrada $\sqrt{x+1}$, transformación logaritmo natural $\ln(x+1)$, transformación logarítmica $\log(x+1)$, transformación arco-seno ($\arcsen \sqrt{x}/100$) y Box-Cox. Estas transformaciones no se logró normalizar los datos por lo cual se aplicó pruebas no paramétricas al no obtener resultados de normalización (Bahamonde González, 1985).

3.4.4. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN EN CADA CCM

Este análisis establece el grado de intensidad existente entre variables medidos de cada una de las CCM, mediante el coeficiente de correlación de Spearman (r_s) para datos sin distribución normal.

Hipótesis:

$$H_0 : r_s = 0$$

$$H_1 : r_s \neq 0$$

Tabla XVIII. Análisis de Correlación CCM1

		M1	T1	TAMBI	PH1	UFCCEL1
M1	Coeficiente de correlación	1.000	-.223	-.234	.235	-.229
	Sig. (bilateral)	.	.092	.077	.087	.106
	N	58	58	58	54	51
T1	Coeficiente de correlación	-.223	1.000	.579**	.005	.113
	Sig. (bilateral)	.092	.	.000	.971	.429
	N	58	58	58	54	51
TAMBI	Coeficiente de correlación	-.234	.579**	1.000	.169	.091
	Sig. (bilateral)	.077	.000	.	.223	.526
	N	58	58	58	54	51
PH1	Coeficiente de correlación	.235	.005	.169	1.000	.172
	Sig. (bilateral)	.087	.971	.223	.	.232
	N	54	54	54	54	50
UFCCEL1	Coeficiente de correlación	-.229	.113	.091	.172	1.000
	Sig. (bilateral)	.106	.429	.526	.232	.
	N	51	51	51	50	51

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Según la Tabla XVIII para la CCM1 no presenta valores de correlación del voltaje significativos ($p > \alpha$), la correlación de Spearman para este caso no ayuda a explicar el nivel de correlación del voltaje con cada una de las variables T1 (0.092), TAMB (0.077), pH1 (0.087) y UFCelda1 (0.106). Por esta razón se utilizó coeficiente de concordancia de Kendall (r_k) al nivel de significancia de 0.05 ya que nos ayuda a explicar las asociaciones del voltaje con las demás variables.

Hipótesis

$$H_0 : r_k = 0$$

$$H_1 : r_k \neq 0$$

Tabla XIX. Análisis de Kendall CCM1

PRUEBA W DE KENDALL					
Coeficiente de Concordancia de Kendall		T1	TAMB	PH1	UFCCEL1
M1	N	58	58	54	51
	W de Kendall	,932	1,000	1,000	1,000
	Chi-cuadrado	54,069	58,000	54,000	51,000
	gl	1	1	1	1
	Sig. asintótica	,000	,000	,000	,000

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

El análisis de Kendall (ver tabla XIX) muestra asociaciones entre la producción de bioelectricidad y las variables: T1 (0.000), TAMB (0.000), pH1 (0.000) y UFCelda1 (0.000), es decir se rechaza H_0 y se acepta H_1 demostrando asociación entre el voltaje generado con las variables en estudio en la CCM1 al 95 % de confiabilidad.

Tabla XX. Análisis de Correlación CCM2

		M2	T2	TAMBI	PH2	UFCCEL2
M2	Coeficiente de correlación	1.000	-.232	-.388**	-.113	-.288*
	Sig. (bilateral)	.	.089	.003	.416	.040
	N	58	55	58	54	51
T2	Coeficiente de correlación	-.232	1.000	.612**	.133	.090
	Sig. (bilateral)	.089	.	.000	.346	.528
	N	55	55	55	52	51
TAMBI	Coeficiente de correlación	-.388**	.612**	1.000	.108	.059
	Sig. (bilateral)	.003	.000	.	.435	.679
	N	58	55	58	54	51
PH2	Coeficiente de correlación	-.113	.133	.108	1.000	.191
	Sig. (bilateral)	.416	.346	.435	.	.184
	N	54	52	54	54	50
UFCCEL2	Coeficiente de correlación	-.288*	.090	.059	.191	1.000
	Sig. (bilateral)	.040	.528	.679	.184	.
	N	51	51	51	50	51

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Según la tabla XX indicó correlaciones negativas (inversamente proporcional) entre la producción de bioelectricidad (mV) con: la temperatura ambiente (TAMBI: -0.388) y con las Unidades Formadoras de Colonias (UFC: -0.288). Sin embargo no existen correlaciones con la temperatura interna de la celda (T2) y PH anódico (PH 2).

Tabla XXI. Análisis de Correlación CCM3

		M3	T3	TAMBI	PH3	UFCCEL3
M3	Coeficiente de correlación	1.000	-.291	-.437**	.282	-.573**
	Sig. (bilateral)	.	.028	.001	.039	.000
	N	58	57	58	54	51
T3	Coeficiente de correlación	-.291*	1.000	.537**	-.196	.104
	Sig. (bilateral)	.028	.	.000	.159	.467
	N	57	57	57	53	51
TAMBI	Coeficiente de correlación	-.437**	.537**	1.000	-.127	.066
	Sig. (bilateral)	.001	.000	.	.361	.646
	N	58	57	58	54	51
PH3	Coeficiente de correlación	.282*	-.196	-.127	1.000	-.275
	Sig. (bilateral)	.039	.159	.361	.	.054
	N	54	53	54	54	50
UFCCEL3	Coeficiente de correlación	-.573**	.104	.066	-.275	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.467	.646	.054	.
	N	51	51	51	50	51

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

La tabla XXI indicó correlaciones negativas ((inversamente proporcional) entre la producción de bioelectricidad con: la temperatura (T3: -0.291), la temperatura ambiente (TAMB: -0.437) y las Unidades Formadoras de Colonias (UFC: -0.573); con el (pH: 0.282) la correlación es positiva.

3.4.5. COMPARACIÓN ENTRE VARIABLES

Para cada variable presente en CCMs se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (ANOVA datos no paramétricos)

Tabla XXII. Prueba de Kruskal-Wallis

	PRODUCCION	TEMPERATURA	PH	UFC
Chi-cuadrado	16.145	10.005	32.339	4.818
Gl	2	2	2	2
Sig. Asintótica	.000	.007	.000	.090

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Los resultados de la prueba de ANOVA (Tabla XXII) indica que los grupos en tratamiento son estadísticamente diferentes tanto para la producción de bioelectricidad (M1, M2, M3), temperaturas internas (T1, T2, T3), pH anódico de cada CCMs (PH1, PH2, PH3). Con respecto a las Unidades Formadoras de Colonias (UFCCEL1, UFCCEL2, UFCCEL3) no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Sin embargo se aplicó la misma prueba Kruskal-Wallis en pares en InfoStat y se obtuvo los siguientes resultados.

Tabla XXIII. Análisis Kruskal Wallis en pares

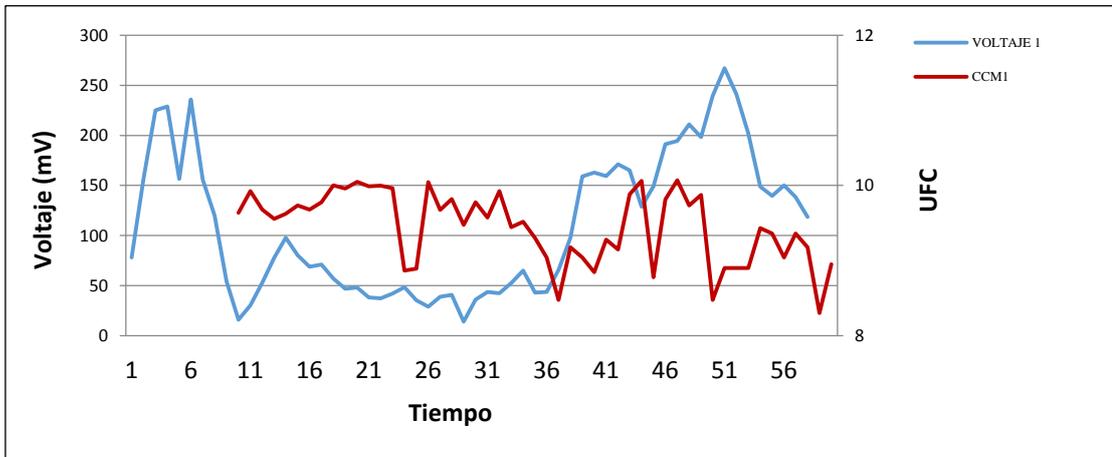
VARIABLE	CCM	N	MEDIAS	D.E	MEDIANAS	H	p
Voltaje	1	58	110.52	71.17	89.12	17.0	0.0002
Voltaje	2	58	72.27	72.50	33.22		
Voltaje	3	58	98.43	61.15	81.83		

GRUPOS	RANGOS	
Voltaje 2	65.3706896551724	A
Voltaje 3	96.0689655172414	B
Voltaje 1	101.060344827586	B

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

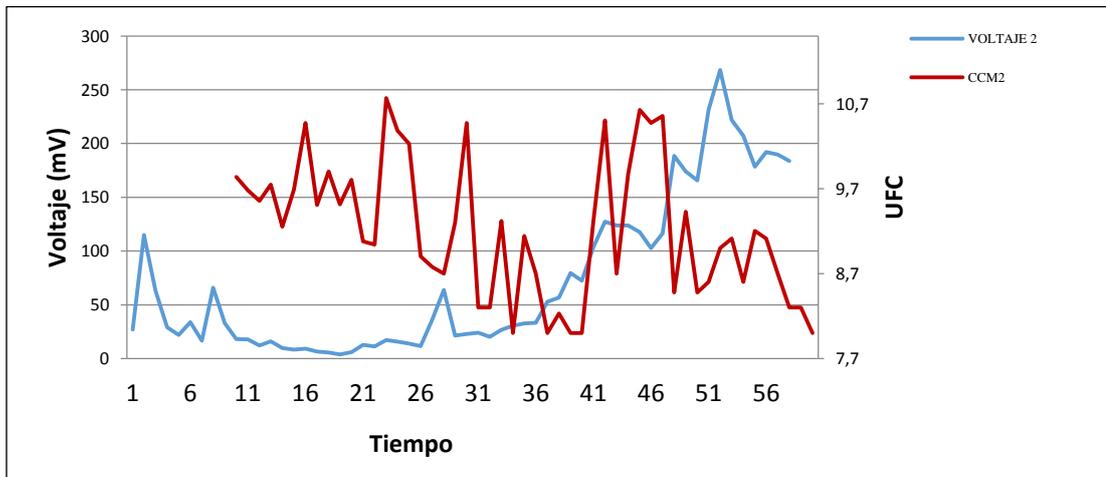
Presenta dos grupos A y B, el grupo B muestra similaridad entre CCM1 (50% de frutas y 50% de verduras) y CCM3 (75% de frutas y 25% de verduras). Concluyendo que el contenido de sustrato influye en la generación de bioelectricidad.

Gráfico 1. Crecimiento Microbiano CCM 1



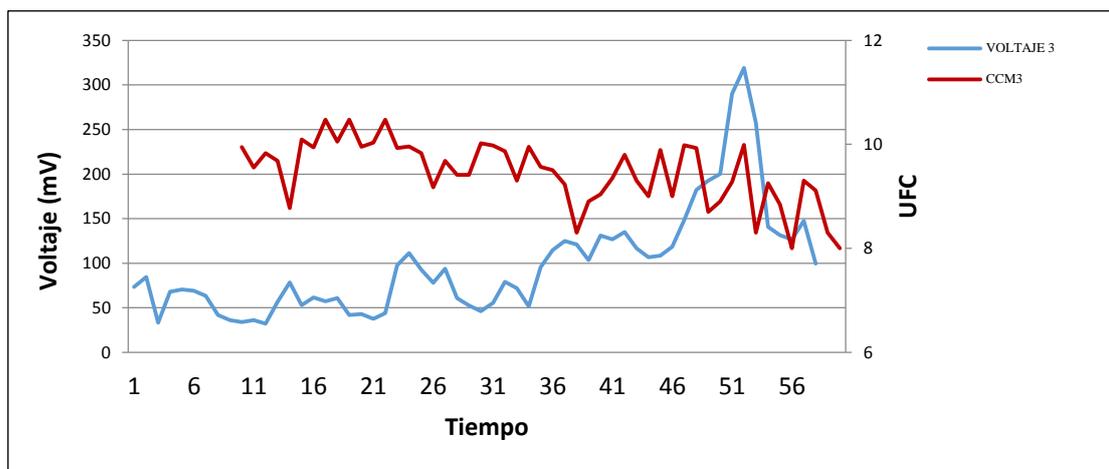
Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Gráfico 2. Crecimiento Microbiano CCM 2



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Gráfico 3. Crecimiento Microbiano CCM 3



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

En base al análisis de correlación en el apartado 3.4.4 y 3.4.5 se determinó similitudes de comportamiento en el crecimiento microbiológico de las Celdas de Combustible Microbiano (Gráficos: 1, 2 y 3), Correlaciones inversas con la generación de bioelectricidad y el conteo bacteriano. Para este caso el crecimiento microbiano no tiene mayor incidencia en la generación de voltaje (mV) (Núñez, 2008). Debido a que no todas las bacterias presentes en el mix bacteriano participan activamente en el proceso bioeléctrico sino un grupo específico o posiblemente la menos abundante que influyó en el desempeño de la celda (Escalante et al., 2004).

3.5. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

$$H_0 = \mu M1 = \mu M2 = \mu M3$$

$$H_1 = \text{al menos un par es diferente}$$

Los residuos orgánicos son el sustrato principal como combustible para la CCMs. Mediante los análisis estadísticos realizados en el apartado 3.4, demostró diferencias estadísticas en el resultado de producción de bioelectricidad entre los tratamientos CCM1, CCM2 y CCM3 en probabilidad menor a 0,05 por tanto se rechaza H_0 y se acepta H_1 , las proporciones diferentes de sustratos M1 (50:50), M2 (75:25) y M3 (25:75) influyen en la generación de bioelectricidad.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

Se instaló tres CCMSs con capacidad volumétrica de 12 L alimentados con diferentes matrices orgánicas comprendidas por residuos de verduras y frutas. El análisis físico químico del suelo y el análisis bromatológico de la matriz orgánica indicaron características adecuados para el crecimiento de microorganismos electrogénicos, observándose que las celdas generaron bioelectricidad durante los 60 días del monitoreo.

El comportamiento de las CCMs en cuanto a generación de bioelectricidad presentan dos tendencias estadísticamente distintas durante el tiempo monitoreado. El análisis estadístico de las variables internas con la generación de electricidad mostró correlaciones significativas, demostrando la influencia de estas variables con la producción de bioelectricidad. La CCM1 y la CCM3 tuvieron una generación más alta de bioelectricidad por el mayor contenido de frutas asociando mayor cantidad de carbohidratos y glucosa.

El conteo microbiológico expresado en unidades formadores de colonias por gramo de muestra (UFC/g) mostró correlaciones negativas con la generación de bioelectricidad. Considerando las condiciones de laboratorio se cuantificó principalmente microorganismos cultivables aeróbicos.

RECOMENDACIONES

- Interpretar la influencia del tipo de material como electrodos, tipos y concentración de sustratos y distancia de electrodos entre otros, puedan incidir en el desempeño de las celdas mediante una planificación adecuada y detallada. De esta forma reducir en lo posible errores sistemáticos y aleatorios.
- Analizar la configuración de las celdas en series y en paralelo con la finalidad de aumentar la generación del voltaje para ser aprovechado en equipos electrónicos de bajo consumo de energía.
- Utilizar materiales resistentes que eviten la oxidación en contacto con agua, para la conexión se sugiere utilizar lagartos de cobre en cuanto a la parte operativa e instalación de las CCMSs.
- Caracterizar las poblaciones microbianas que actúan en el compartimento anódico utilizando técnicas moleculares. Para trabajar con especies específicas a partir de bacterias provenientes del páramo y probar el desempeño en las CCMSs.
- Realizar pre pruebas al utilizar dispositivos electrónicos para evitar pérdidas de datos durante la generación de bioelectricidad.
- Determinar azúcares totales del sustrato utilizado.

CAPITULO V

BIBLIOGRAFÍA

ALBÁN V., DIEGO M. y FREIRE M., DAVID A. Obtención de bioetanol a partir de residuos de naranja "*citrus sinensis*" provenientes del proceso agroindustrial en la provincia de Bolívar. (Tesis)(Ing. Agp). Escuela Politécnica del Ejército, Facultad de Ciencias de la vida, Escuela de Ingeniería Agropecuaria. Quito-Ecuador. 2009, p.22-140

BAHAMONDE, G. Métodos estadísticos y principios de Diseño Experimental. 2. ed., Quito-Ecuador. Universitaria. 1985, p. 221-223

BUITRON, G., y PÉREZ, J. Producción de electricidad en celdas de combustible microbianas utilizando agua residual: efecto de la distancia entre electrodos. (Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas).Vol.14, No.1. Junio 2011, Querétaro-México, p. 5-11

BURGOS, C., RUTELY C. Evaluación Electroquímica de materiales anódicos y su aplicación en celdas de combustible microbianas. (Tesis) (Ing. Quim). Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Ingeniería Química. Mérida- México. 2012, p.20-25

CERDAS, M. Las frutas del Paraíso. San José-Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 2003, p. 119-247

CUNALATA C., et. al. Determinación de carbono orgánico total presente en el suelo y la biomasa de los páramos de las comunidades de Chimborazo y Shobol Llinllin en Ecuador. (Boletín del Grupo Español del Carbón). Vol.1, No.27. Marzo 2013, Ecuador, p. 10-13

DAS, S., y MANGWANI, N. Recent developments in microbial fuel cells: a review. (Scientific & Industrial Reseach). Vol.69, No.1. October 2010, India, p. 727-731

EL-CHAKHTOURA, J., et. al. Electricity generation and microbial community structure of air-cathode microbial fuel cells powered with the organic fraction of municipal solid waste and inoculated with different sedes. (Biomass and Bioenergy). Vol.67, No.1. August 2014, Saudi Arabia, p. 24-31

ESCALANTE, A., et. al. Diversidad Bacteriana del suelo: Métodos de estudio no dependientes del cultivo bacteriano e implicaciones biotecnológicas. (Agrociencia). Vol.38, No.6. Diciembre 2004, México, p. 583-592

FUENTES, C., et. al. Influence of NaCl, Na₂SO₄ and O₂ on power generation from microbial fuel cells with non-catalyzed carbon electrodes and natural inoculation. (Solar Energy). Vol.86, No.4. April 2012, México, p. 1099-1107

GRUPO DE ENERGIA DE BOGOTÁ. Tratamiento de aguas residuales y generación simultánea de energía eléctrica mediante celdas de combustible microbianas.

<https://www.grupoenergiadebogota.com/content/download/2302/35119/file/Pregrado%20Segundo%20Lugar.pdf>.

2014-06-20

HARO A., FRANCISCO C. Determinación de Carbono orgánico en la biomasa y suelo del páramo de la comunidad Pichán Central San Isidro. (Tesis) (Ing. Biotec Amb). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas. Riobamba-Ecuador. 2012, p. 4-24

HUANG, L., REGAN, J., y QUAN, X. Electron transfer mechanisms, new applications, and performance of biocathode microbial fuel cells. (Bioresource Technology). Vol.102, No.1. January 2011, China, p. 316-323

JARAMILLO, J., y DÍAZ, C. El cultivo de las crucíferas Brócoli, Coliflor, Repollo, Col China. Rionegro-Colombia. Litomadrid-Cra. 2006, p. 14-167

JUNG, S., y REGAN, J. Comparison of anode bacterial communities and performance in microbial fuel cells with different electron donors. (Microbiology and Biotechnology). Vol.77, No.2. September 2007, Unites Estates, p. 393-402

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

Li, W., et. al. Recent advances in the separators for microbial fuel cells. (Bioresource Technology). Vol.102, No.1. January 2011, China, p. 244-252

LOGAN, B., y REGAN, J. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. (Trends in Microbiology). Vol.14, No.12. December 2006, p.512-518

LOGROÑO V., WASHINGTON N. Producción de Bioelectricidad Microbiana utilizando residuos orgánicos como sustrato, para dos casos de estudio: Andes-Amazonia, Ecuador. (Tesis)(Ing. Biotec Amb). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Biotecnología Ambiental. Riobamba-Ecuador. 2014, p.22-140

LÓPEZ, B. RAFAEL. Bioconversión de residuos sólidos para la obtención de energía (metano y electricidad) utilizando digestores anaerobios y celdas de combustibles microbianas. (Tesis) (Mtro. Bioproc). Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria. D.F-México-México. 2010, p. 22-61

LOVLEY, D. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. (Current Opinion in Biotechnology). Vol.17, No.3. June 2006, Unites Estates p. 328-332

LOVLEY, D. Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. (Environmental Microbiology). Vol.3, No.1. February 2011, Estados Unidos, p. 27-35

MADIGAN, M., et. al. Brock biología de los microorganismos.10. ed., Madrid-España. Pearson. 2004, p. 14-20

MARTIN, E., SAVADOGO, O., GUIOT, S., y TARTAKOVSKY, B. Electrochemical characterization of anodic biofilm development in a microbial fuel cell. (Springer). Vol.74, No.5. February 2013, Canadá, p. 329-337

MINISTERIO COORDINADOR DE SECTORES ESTRATEGICOS. El Balance Energético Nacional 2013 es una herramienta de planificación.

<http://www.sectoresestrategicos.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02/Balance-Energe%CC%81tico-Nacional-2013-base-2012.pdf>

2014-08-01

MOCALI, S., FANI, R., y GRAZIANI, P. Resultados preliminares de un proyecto piloto en el territorio indígena Achuar del Ecuador. Macas-Ecuador. Acra. 2013, p. 40-43.

MOCALI, S., et. al. Alteration of bacterial communities and organic matter in microbial fuel cells (MFCs) supplied with soil and organic fertilizer. (Springer). Vol.97, No.3. January 2012, Italia, p. 1299-1315.

MOQSUD, M., et. al. Microbial fuel cell (MFC) for bioelectricity generation from organic wastes. (Waste Management). Vol.33, No.11. August 2013, Japan, p. 465-469.

NÚÑEZ, A. Bacterias productoras de bioelectricidad. Actualidad Sem. Madrid-España. 2008, p. 34-39

ORDÓÑEZ O., SANDRA L. Estudio e investigación del zapallo, análisis de sus propiedades, explotación y propuesta gastronómica. (Tesis)(Adm.Gastr). Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Turismo y Preservación Ambiental, Escuela de Gastronomía. Quito-Ecuador. 2008, p. 8-152

ORTIZ, G., MORENO G, L., y JIMÉNEZ L, J. Bacterias eléctricas. Queretaro-Mexico. 2012, p. 74-77

http://www.upo.es/moleqila/export/sites/moleqila/documentos/Articulo_destacado_numero_4.pdf
2014-07-19

PALOMO, I., et. al. El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer. (Santiago). Vol.37, No.3. Septiembre 2010, Chile, p. 377-385

PANT, D., VAN BOGAERT, G., DIELS, L., y VANBROEKHOVEN, K. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. (Bioresource technology). Vol.101, No.6. November 2009, Belgium, p. 1533-1543.

PERALTA, E., CEVALLOS, E., VÁSQUEZ, J., y PINZÓN, J Guía para el cultivo de haba. Boletín Divulgatorio #230, Quito-Ecuador. INIAP 418. 1993, p. 18-40

PRESCOTT, L., HARLEY, J., y KLEIN, D. Microbiología. 5. ed., Madrid-España. McGraw-Hill Interamericana. 2004, p. 100-103

REVELO, D., HURTADO, N. H., y RUIZ, J. O. Celdas de Combustible Microbianas (CCMs) un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica. (La Serena). Vol. 24, No.6. Junio 2013, Colombia, p. 17-28

RODRÍGUEZ C., ENMA L. Plan de manejo de los humedales existentes en la comunidad de Pichan - San Isidro. (Tesis)(Ing. Biotec. Amb). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ingeniería Biotecnología Ambiental. Riobamba-Ecuador. 2012, p. 53-206

RODRIGUEZ, E., et. al. Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio. San Pedro-Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 2005, p. 440-475

ROMERO, A., VÁSQUEZ, J. A., y GONZÁLEZ, A. L. Bacterias fuente de energía para el futuro. (Tecnura). Vol.16, No.32. Junio 2012, Colombia, p. 118-143

RUBABA, O., et. al. Electricity producing property and bacterial community structure in microbial fuel cell equipped with membrane electrode assembly. (Bioscience and Bioengineering). Vol.116, No.1. March 2013, Japan, p. 106-113

RÜGNITZ, M., CHACÓN LEÓN, M., y PORRO, R. Guía para la determinación de carbono en pequeñas propiedades rurales. Lima-Perú. Centro Mundial Agroforestal (ICRAF). 2009, p 79-92

SALVA LA SELVA. Conservación de las selvas y bosques y los derechos de sus habitantes.

<http://www.salvalaselva.org/de-nosotros>

2014-07-22

SANTAMBROSIO, E. (Trabajo práctico) Preparación de medios de cultivos. Santa fe-Argentina. Universidad Tecnológica Nacional. 2009, p. 4-8

<http://www.fbcu.unl.edu.ar/media/Institucional/MEMORIA%202010%20FBCB.pdf>

2014-06-21

SCOTT, K. Membranes for Clean and Renewable Power Applications. Philadelphia-Estados Unidos. Woodhead Publishing. 2014, p. 266-300

TORTORA, J., FUNKE, B., y CASE, C. Introducción a la microbiología. 9. ed., Buenos Aires-Argentina. Médica Panamericana S.A. 2007, p. 168-185

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO. Posgrado Aprovechamiento de residuos orgánicos a través de composteo y lombricomposteo.

http://www.uaaan.mx/postgrado/images/files/hort/simposio5/05-aprov_residuos.pdf

2014-08-08

VELASQUEZ, S., et. al. Evaluation of hydrolysis and fermentation rates in microbial fuel cells. (Springer). Vol.90, No.2. April 2011, Reino Unido, p. 789-798

WALTERS, A., SANTILLO, D., y JOHNSTON, P. El tratamiento de textiles y sus repercusiones ambientales. Pensilvania- Reino Unido. Greenpeace. 2005, p.18-30

ZHANG, Y., et. al. Electricity generation and microbial community response to substrate changes in microbial fuel cell. (Elsevier). Vol.102, No.2. January 2011, Republic of Korea, p. 1156-1173

ZHOU, M., et. al. Bioelectrochemistry of Microbial Fuel Cells and their Potential Applications in Bioenergy. (Elsevier). Vol.9, No.27. January 2014, Unites Estates, p. 152-154

ZHU, N., et. al. Improved performance of membrane free single chamber air cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. (Elsevier). Vol.102, No.1. July 2011, China, p. 422–426

ANEXOS

ANEXO 1. RECuento EN PLACA

1) Técnica de Asepsia

Esterilización de materiales a utilizar en el proceso de siembra en medio sólido, evitando contaminación antes y durante de la manipulación del medio a utilizar.

2) Técnica de Diluciones en serie para muestra de suelo

El inóculo en observación (muestra 1g de suelo homogenizado) es disuelto en una serie de tubos de 9mL en solución salina, parte muy importante para la experimentación y desarrollo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Realizando diluciones 10^1 hasta 10^7 . (Gerard J. Tortora, 2007)

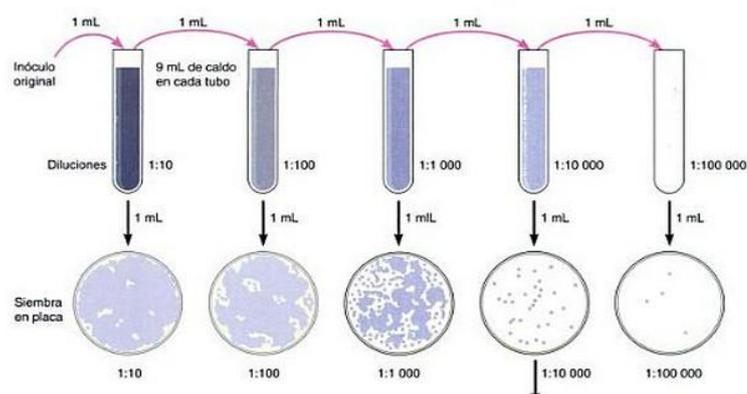


Figura 3. Diluciones en Serie

Fuente: (Gerard J. Tortora, 2007)

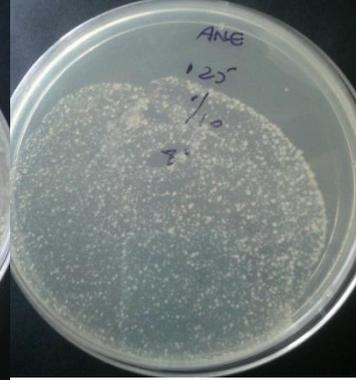
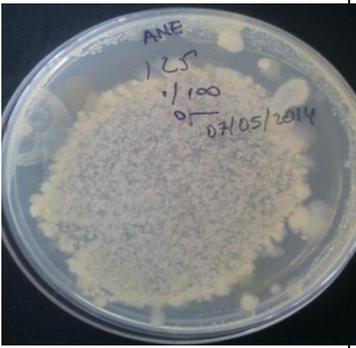
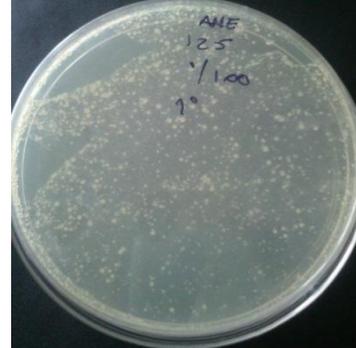
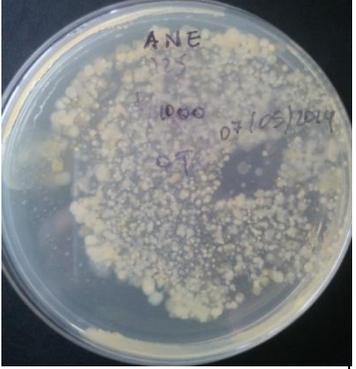
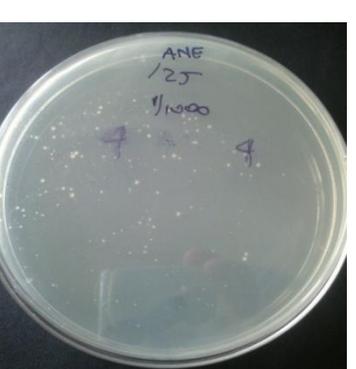
3) Diseminación en placa

Se inoculara 0,01 mL de la dilución en cada caja Petri, extendiéndola sobre la superficie del medio enriquecido (ANE) previamente preparado mediante dispersores estériles para distribuir la muestra uniformemente, etiquetar e incubar a temperatura ambiente (17°C)

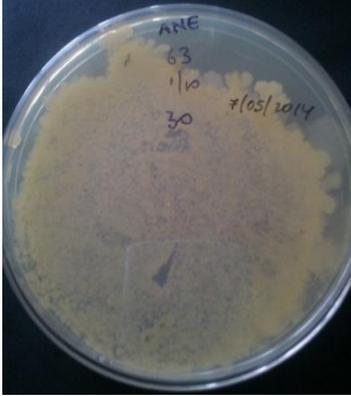
4) Conteo de UFC: Transcurrido las horas de incubación (48h, 72h y 96h) se realiza el recuento respectivo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) presentes en cada caja Petri, estimando el número de bacterias presentes en cada dilución.

ANEXO 2. RECUESTO MICROBIOLÓGICO INICIAL

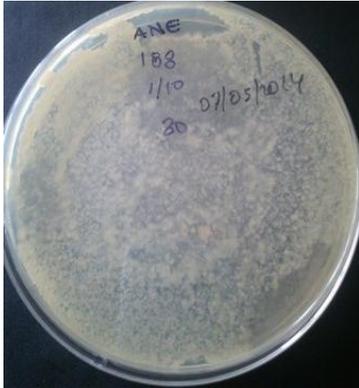
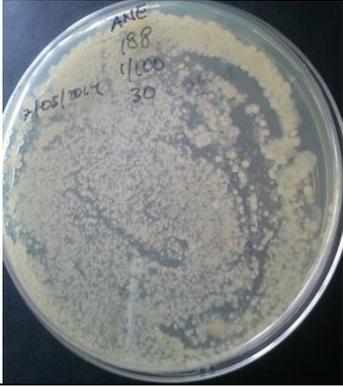
Tabla XXIV. Fotografías Recuento Inicial Materia Orgánica

CCM1 (50:50)		
TEMPERATURA AMBIENTE	TEMPERATURA 30 °C	TEMPERATURA 4 °C
10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
		
10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
		
10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
		

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

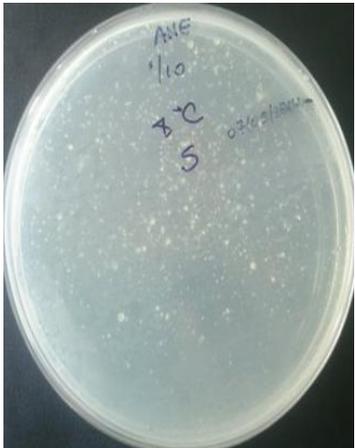
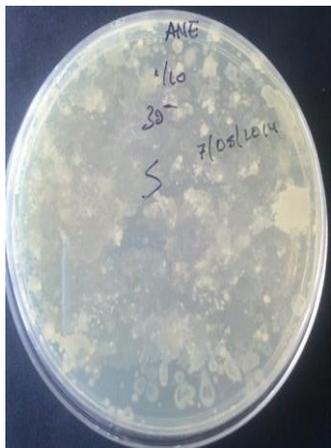
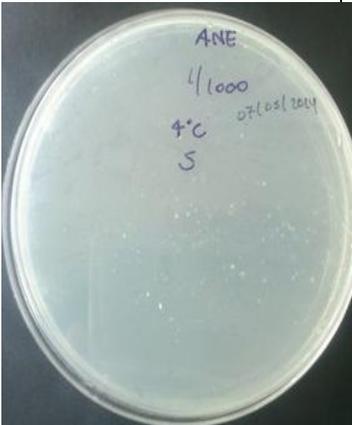
CCM2 (75:25)		
TEMPERATURA AMBIENTE	TEMPERATURA 30 °C	TEMPERATURA 4 °C
10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
		
10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻²
		
10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁻³
		

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

CCM3 (25:75)		
TEMPERATURA AMBIENTE	TEMPERATURA 30 °C	TEMPERATURA 4 °C
10^{-1} 	10^{-1} 	10^{-1} 
10^{-2} 	10^{-2} 	10^{-2} 
10^{-3} 	10^{-3} 	10^{-3} 

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

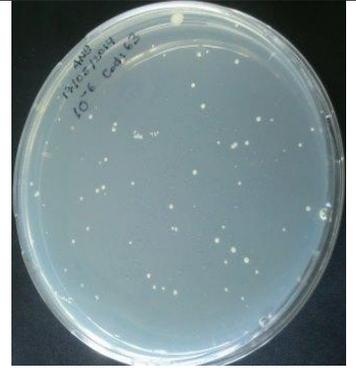
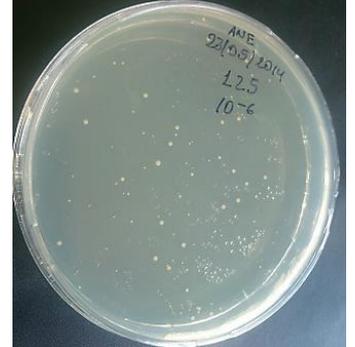
Tabla XXV. Fotografías Recuento Inicial Suelo

Suelo Pichan Central		
TEMPERATURA AMBIENTE	TEMPERATURA 30 °C	TEMPERATURA 4 °C
10^{-1} 	10^{-1} 	10^{-1} 
10^{-2} 	10^{-2} 	10^{-2} 
10^{-3} 	10^{-3} 	10^{-3} 

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

ANEXO 3. UFC DURANTE 60 DIAS

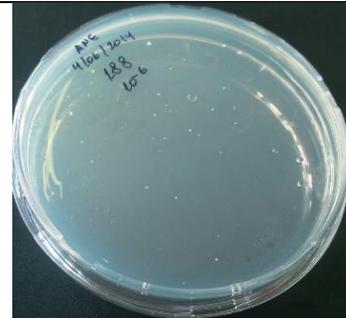
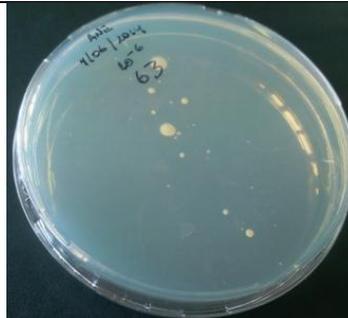
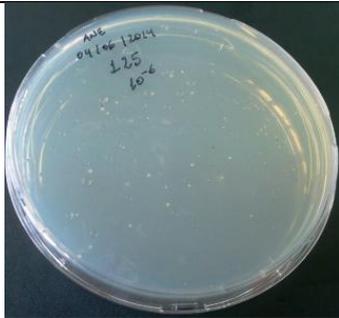
Tabla XXVI. Registro Fotográfico de UFC por semana

SEMANA 1 (08/05/2014)		
CCM1	CCM2	CCM3
		
SEMANA 2 (17/05/2014)		
		
SEMANA 3 (23/05/2014)		
		

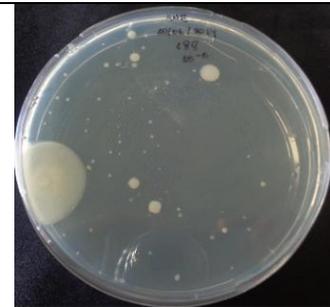
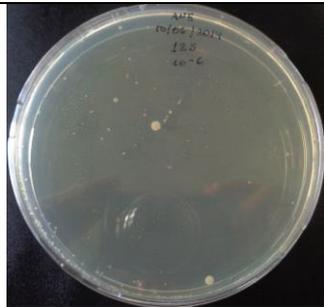
SEMANA 4 (29/05/2014)



SEMANA 5 (04/06/2014)



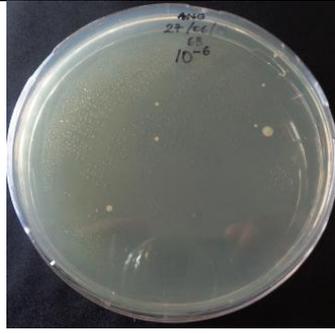
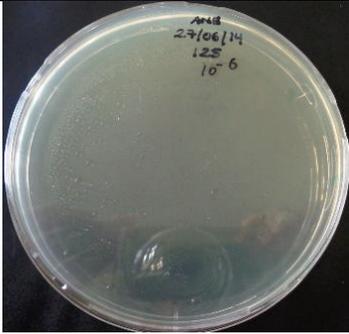
SEMANA 6 (10/06/2014)



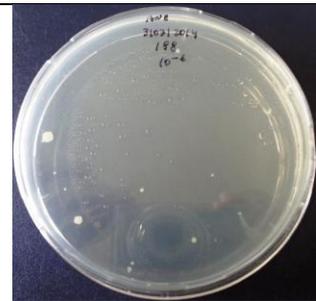
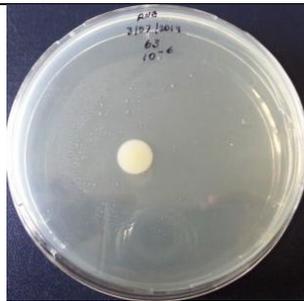
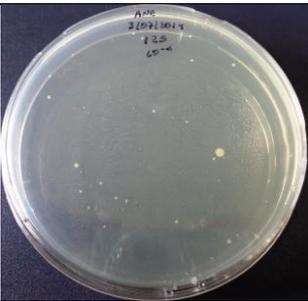
SEMANA 7 (22/06/2014)



SEMANA 8 (27/06/2014)



SEMANA 9 (03/07/2014)



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

ANEXO 4. ANALISIS FISICO- QUIMICO DEL SUELO



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



Nombre del Propietario: Geovany Ramirez
Remite:
Ubicación: Páramo De Pichán
Nombre de la granja: Parroquia Guano Cantón Chimborazo Provincia

Fecha de ingreso: 08/05/2014
Fecha de salida: 20/05/2014
Chimborazo Provincia

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DEL ANALISIS FISICO Y QUIMICO DE SUELOS

Identificación	pH	% M.O	mg/L			Mgq/100g		Cond. Eléctrica
			NH ₄	P	K	Ca	Mg	
Suelo páramo	5.5 LAc	3,7 M	11.5 B	68.1 A	0.24 B	10.2 M	5.7 Normal	203 / no salino


 Ing. José Arcos T.
 DIRECTOR DPTO DE SUELOS


 Elizabeth Pachacama
 TÉCNICO DE LABORATORIO

Dirección: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur Km1 16, Facultad de Recursos Naturales, Tulcan, Telefaxo 2998220 Extensión 418
 *Apoyando a la producción sana, rentable y amigable con la naturaleza

Fuente: Departamento de Suelos FRN

ANEXO 5. PROCEDIMIENTO BROMATOLÓGICO

A. PREPARACION DE LA MUESTRA

- Primeramente pesar las muestras frescas en proporciones iguales. Colocarlas en la estufa a 55-60 grados centígrados durante 12 horas y proceder a moler la muestra a través de un molino artesanal equipado con un tamiz de acero inoxidable o un tamiz de bronce.
- Colocar la cantidad de cada muestra molida (4g) en un recipiente de plástico limpio y seco de aproximadamente 120 mL dependiendo el tipo de muestra. Pesar y distribuir para cada análisis de componentes:

Fotografía 14. Molienda



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 15. Muestras Preparadas



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

B. DETERMINACION DE LA HUMEDAD INICIAL

Este procedimiento muy importante en la industria de alimentos la cual se basa en la evaporación total del agua presente en cada una de las muestras a través de calor. Se considera la pérdida de peso es agua expuesto a una temperatura de 55-60°C dependiendo de la muestra durante 12 horas o más utilizando recipientes que no absorban humedad presente.

PROCEDIMIENTO

- Inicialmente se pesa cada crisol a utilizar y registramos su código para cada muestra.
- Pesar 0,5 g de la muestra fresca y colocar en estufa de aire forzado a 55-60°C colocamos las muestras respectivas por un tiempo de 4 horas mínimo para obtener la materia seca de acuerdo a la muestra dada hasta que haya eliminado un 88% de humedad.
- Sacar los crisoles de la estufa y dejar enfriar por cuarenta minutos aproximadamente en el desecador.
- Pesar los crisoles con la materia seca presente luego que haya enfriado y anotar el peso.
- Realizar los cálculos respectivos para humedad inicial para cada muestra respectiva de las tres CCM en estudio.

CALCULO

$$\%H.I = \frac{(P3 - P1)}{(P2 - P1)} \times 100$$

Dónde:

P1= Peso del crisol seco y limpio (g)

P2= Peso del crisol con muestra húmeda (g)

P3= Peso del crisol con muestra seca (g)

Fotografía 16. Crisol



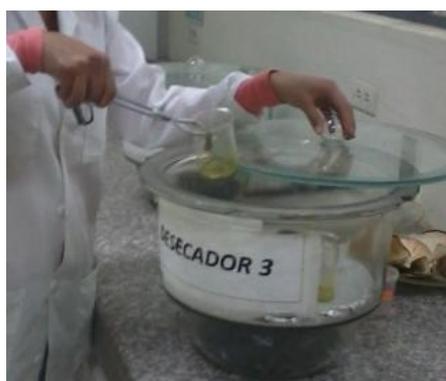
Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 17. Balanza Analítica



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 18. Desecador



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

C. DETERMINACION DE CENIZAS

Caracterizado por compuestos inorgánicos y minerales presentes en muestras de alimentos tales como cloruros, fosfatos, calcio y hierro. Se considera una temperatura alta para eliminar todo material orgánico presente mediante calcinación a 550 °C.

PROCEDIMIENTO

- Colocar los crisoles en la mufla por un periodo de 4 horas para su tarado.
- Sacar los crisoles de la mufla y dejar enfriar en el desecador por un periodo de 40 minutos y seguidamente pesar los crisoles mediante la balanza analítica y anotar.
- Pesar cuidadosamente 0.5 g de la muestra previamente preparada dentro del crisol que anteriormente se encuentra en la balanza analítica y anotar.
- Dejar calcinar las muestras observando que no presente humo negro.
- Calcinada la muestra lleve a la mufla por un periodo de 4 horas a 550°C y apague.
- Con un guante sacar las muestras de la mufla y colocar en el desecador por 4° minutos aproximadamente.
- Pesar los crisoles y anotar.
- Realizar cálculos respectivos para cada muestra de CCM en estudio.

CALCULO

$$\%CENIZAS = \frac{(PC) - (P)}{(P + M) - (P)} \times 100$$

Dónde:

PC= Peso crisol + cenizas

P= Peso crisol

M= Muestra

Fotografía 19. Mufla



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 20. Estufa



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 21. Muestras Calcinadas



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

D. MATERIA ORGANICA

$$\% \text{ de Materia Orgánica} = 100 - \% \text{ de cenizas}$$

E. DETERMINACION DE HUMEDAD HIGROSCOPICA

El agua al ser transporte de elementos nutritivos presenta una acción importante en la formación y crecimiento de plantas; por lo tanto reconoce la temperatura y la humedad como factores de comportamiento.

Inicialmente se prepara la muestra a 60 grados centígrados seguidamente se la coloca a una temperatura de 105 grados centígrados para extraer toda su humedad presente total.

PROCEDIMIENTO

- Previamente coloque los crisoles en la estufa a 105 grados centígrados por un periodo de 3 horas. (tarado)
- Utilizando una pinza, sacar los crisoles y colocarlos en el desecador por 30 minutos.
- Pesar 1 g de la muestra y coloque en el crisol presente en la balanza analítica para obtener su peso total.
- Colocar la muestra en la estufa a 105 grados centígrados por un periodo de 12 horas aproximadamente y colóquelos en el desecador.
- Pese la muestra seca y anote su peso.
- Realizar los cálculos respectivos para su porcentaje de materia seca total en cada una de las muestras en estudio.

CALCULO

$$\% \text{ MATERIA SECA} = \frac{(\text{Peso Crisol} + \text{Muestra Seca}) - (\text{Peso Crisol})}{(\text{Peso Crisol} + \text{Muestra Fresca}) - (\text{Peso Crisol})} \times 100$$

$$\% \text{ HUMEDAD} = 100 - \% \text{ MATERIA SECA}$$

Fotografía 22. Peso Humedad Higroscópica



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

F. DETERMINACION DE EXTRACTO ETÉREO

Se fundamenta en la determinación y cuantificación de compuestos lipídicos presentes en los alimentos las cuales en laboratorio son extraídas con hexano mediante evaporación que al pasar por la muestra problema separa compuestos solubles los cuales se recogen un beaker, el proceso termina con la destilación completa del hexano y residuos de grasa secos presentes en el beaker.

PROCEDIMIENTO

- Colocar los beakers para Goldfish en la estufa a una temperatura de 100 grados centígrados durante 2 horas.
- Para su enfriamiento colocar en el desecador durante 30 minutos.
- Retirar con pinzas los beakers cuidadosamente, pesar y anotar.
- Pesar 1 g de la muestra y sobre un papel limpio y colocarlo cuidadosamente en el dedal de celulosa que contiene papel filtro y cubrir con algodón.
- Situar en el porta dedal de vidrio la muestra y coloque en los ganchos metálicos del aparato de Goldfish.
- Coloque 40 mL de hexano en los beakers.
- Introduzca los beakers y ajuste en el anillo metálico del aparato de Goldfish
- Abrir las válvulas respectivas de los refrigerantes y controlar el tiempo.

- Calentar hasta finalizar la extracción durante 4 horas. Observando la evaporación del hexano.
- Al finalizar el procedimiento tenga cuidado con la muestra y coloque en la estufa a 105 grados centígrados por 30 minutos.
- Para su enfriamiento colocar en el desecador por un periodo de 30 minutos.
- Pesar y anotar su peso.
- Realizar los cálculos respectivos para su determinación en cada una de las muestras de estudio.

CALCULO

$$\% \text{ E. E} = \frac{(\text{Peso Beaker} + \text{E. E}) - (\text{Peso Beaker Solo})}{(\text{Peso Papel} + \text{Muestra}) - (\text{Peso papel solo})} \times 100$$

$$\% \text{ E. E Base Seca} = \frac{100 \times \% \text{ E. E}}{\% \text{ Materia Seca}}$$

Fotografía 23. Sulfato de Sodio



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 24. Equipo de Extracción de Grasa



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 25. Beakers en estufa



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

G. DETERMINACION DE FIBRA CRUDA.

Aplicable para una extensa variedad de alimentos de origen vegetal que contienen un porcentaje de fibra en su contenido. Resultado de la digestión ácida (Ácido Sulfúrico) y básica (Hidróxido de sodio) hidrolizando proteínas y carbohidratos presentes alcanzando cantidades de sales que posteriormente por el método de calcinación nos favorecerá para la obtención de fibra cruda de la muestra problema.

PROCEDIMIENTO

- Pesar 1 g de muestra sobre un papel y anotar.
- Añadir en el beaker de digestión 600 mL la muestra, pesar y anotar.
- Agregar 200 mL de solución de H₂SO₄ (Ácido Sulfúrico) 0.13 M y 3 mL de Alcohol-n-amílico en cada uno de los beakers con la muestra problema.
- Colocar los beakers en el equipo de extracción de fibra cruda, cuidadosamente en las hornillas y en los tubos refrigerantes respectivos.
- Abrir las válvulas de conexión del sistema de refrigeración y regular la temperatura para iniciar el proceso de digestión ácida.
- Después que haya hervido la muestra tome el tiempo de 30 minutos y agregue 20ml. de NaOH al 22%. Evitar que le material quede adherido a las paredes.
- Coloque nuevamente los beakers en el equipo de extracción de fibra regule la temperatura para iniciar el proceso de digestión alcalina.

- Para su filtración prepare un kitasato conectado a la bomba de vacío lave los beakers con agua destilada mediante una pizeta observando que no haya ningún residuo de la muestra. y agregar la lana de vidrio a los crisoles previamente preparados.
- Llevar los crisoles a la estufa a 105 grados centígrados durante 8 horas.
- Para su proceso de enfriamiento colocar en el desecador durante 40 minutos pesar y anotar.
- Utilizando las pinzas lleve los crisoles con la muestra a una temperatura de 600 grados centígrados en la mufla durante 4 horas.
- Para su enfriamiento colocar la muestra incinerada en el desecador durante 40 minutos, pesar y anotar.

CALCULO

$$\% \text{ FC} = \frac{(\text{Peso crisol con muestra digerida}) - (\text{Peso W del crisol con cenizas})}{(\text{Peso papel con muestra}) - (\text{Peso papel solo})} \times 100$$

$$\% \text{ FC. BASE SECA} = \frac{100 \times \% \text{ FIBRA}}{\% \text{ de la MUESTRA SECA}}$$

Fotografía 26. Equipo de extracción de Fibra



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 27. Bomba de vacío



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

H. DETERMINACION PROTEINA TOTAL

Las moléculas más profusas en la célula son las proteínas las cuales forman parte del 50% del cuerpo seco de la célula. Este método se fundamenta en la desintegración de toda la materia degradable presente mediante el uso de H_2SO_4 (Ácido Sulfúrico concentrado) mientras las grasas y sus derivados forman anhídrido carbónico y agua a través de un catalizador de mercurio (Hg). Con el exceso de hidróxido de sodio las moléculas se desordenan liberando amoníaco el cual se destila en H_3BO_3 (Ácido Bórico) y forma borato de amonio.

PROCESO DE DIGESTION

- Pesar 1 g de la muestra problema en papel bond y anotar
- Con la muestra en papel bond coloque en el interior del balón de Kjeldahl de 800ml para su proceso.
- Para cada muestra con su respectivo balón agregue aproximadamente 9 g de sulfato de sodio y 1 g de sulfato de cobre.
- Añada 25 mL de H_2SO_4 (Ácido Sulfúrico concentrado) en cada balón de Kjeldahl.
- Sujete los balones en el equipo de Kjeldahl, conecte y encienda las hornillas y extractor de vapores.
- Tomar el tiempo durante 2 horas hasta que cambie la muestra a color verde. (Muestra digerida).

PROCESO DE DESTILACION

- Colocar en el matraz Erlenmeyer de 500 mL, 100 mL de Ácido Bórico (H₃BO₃) a una concentración de 2.5 % mientras se procesa la muestra en el proceso de digestión.
- Después de la digestión deje enfriar los balones y proceda a preparar el equipo de destilación con los matraces previamente listos.
- Cuidadosamente agregue 200 mL de agua destilada a cada balón con la muestra digerida colocando zinc en cada uno de los balones.
- Agregue hidróxido de sodio (NaOH) 100 mL en cada balón con muestra digerida y homogenizamos.
- Regular la temperatura y encender los reverberos del equipo de destilación con cada matraz con 100 mL de Ácido Bórico (H₃BO₃) a una concentración de 2.5 % cada uno con 230- 300 mL volumen recolectado.
- Con un volumen de 230-300 mL recolectado después de la destilación añadir 2 a 3 gotas del reactivo indicador.

PROCESO DE TITULACION

- Preparar el equipo de titulación con Ácido Clorhídrico 0.1 N
- Realizar la titulación hasta el cambio de color rosado en el Matraz de Erlenmeyer con el destilado.
- Anotar la cantidad de Ácido Sulfúrico 0.1 N

CALCULO

$$\% \text{ PC} = \frac{\text{HCL 0.1 N Estandarizado} \times 0.014 \times 6.25 \times \text{mL HCL 0.1 Gastados}}{\text{Peso Muestra}}$$

$$\% \text{ PB en base seca} = (100 \times \% \text{ PB}) / (\% \text{ MS})$$

Dónde:

$14.01 / 1000 = 0.014$ (constante)

$100 / 16 = 6.25$ (constante)

Fotografía 28. Muestra Digerida



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

Fotografía 29. Equipo de digestión y destilación Macro Kjeldahl



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

I. DETERMINACION DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO (ELN)

Agrupar elementos únicos dentro del análisis bromatológico como nutrientes digeribles, carbohidratos y contenido soluble orgánico libre de nitrógeno determinado por los porcentajes resultantes de cada determinación en el alimento ya obtenidos.

$$\% \text{ ELN} = 100 - (\% \text{ Ceniza} + \% \text{ FC} + \% \text{ EE} + \% \text{ PC})$$

Dónde:

%FC= Fibra Cruda

%EE= Extracto Etéreo

%PC= Proteína Cruda.

ANEXO 6. ANALISIS BROMATOLOGICO



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
LABORATORIO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA
Dirección: Km. 1.5 Panamericana Sur Telefax: 2998231

REPORTE DE RESULTADOS

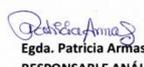
Fecha/Lugar	Riobamba 28-Mayo-2014	Comprobante de ingreso	154875
Tipo de muestra	Matriz orgánica 1	Código de muestra	14-014
Propietario	Patricia Armas	Análisis solicitado	Proximal

Parámetro	Resultado
Materia seca	91,39%
Humedad	8,61%
Cenizas *	8,48%
Proteína *	10,67%
Fibra cruda*	20,53%
Extracto etéreo*	2,55%
ELN*	49,17%

* RESULTADOS EXPRESADOS EN BASE SECA


BQF. Sandra López
TÉCNICA DE LABORATORIO


L. N. A.
F.C.P. ESPOCH
Riobamba-Ecuador


Egda. Patricia Armas
RESPONSABLE ANÁLISIS

CONTRIBUYENDO EN LA ALIMENTACION ANIMAL

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP

Figura 4. Análisis Bromatológico Matriz 1



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
LABORATORIO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA

Dirección: Km. 1.5 Panamericana Sur Telefax: 2998231

REPORTE DE RESULTADOS

Fecha/Lugar	Riobamba 28-Mayo-2014	Comprobante de ingreso	154875
Tipo de muestra	Matriz orgánica 2	Código de muestra	14-014
Propietario	Patricia Armas	Análisis solicitado	Proximal

Parámetro	Resultado
Materia seca	89,81%
Humedad	10,19%
Cenizas *	7,44%
Proteína *	7,43%
Fibra cruda*	25,00%
Extracto etéreo*	2,78%
ELN*	47,16%

* RESULTADOS EXPRESADOS EN BASE SECA

BQF. Sandra López
TÉCNICA DE LABORATORIO



Egda. Patricia Armas
RESPONSABLE ANÁLISIS

CONTRIBUYENDO EN LA ALIMENTACION ANIMAL

Figura 5. Análisis Bromatológico Matriz 2

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA
Dirección: Km. 1.5 Panamericana Sur Telefax: 2998231

REPORTE DE RESULTADOS

Fecha/Lugar	Riobamba 28-Mayo-2014	Comprobante de ingreso	154875
Tipo de muestra	Matriz orgánica 3	Código de muestra	14-014
Propietario	Patricia Armas	Análisis solicitado	Proximal

Parámetro	Resultado
Materia seca	90,42%
Humedad	9,58%
Cenizas *	9,28%
Proteína *	9,76%
Fibra cruda*	21,09%
Extracto etéreo*	2,08%
ELN*	48,20%

* RESULTADOS EXPRESADOS EN BASE SECA

BQF- Sandra López
TÉCNICA DE LABORATORIO



Egda. Patricia Armas
RESPONSABLE ANÁLISIS

CONTRIBUYENDO EN LA ALIMENTACION ANIMAL

Figura 6. Análisis Bromatológico Matriz 3

Fuente: Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología FCP

ANEXO 7. SUSTRATOS UTILIZADOS

Tabla XXVII. Sustratos en CCM

SUSTRATO	CONCENTRACIÓN	FUENTE DE INÓCULO	CONFIGURACIÓN DE CCM	DENSIDAD DE CORRIENTE (mA/cm ²) Y MÁXIMO PODER.	REFERENCIA
Acetato	1g/L	Bacterias pre-aclimatadas	CCMs con ánodo de cepillo de fibra de grafito (volumen cepillo 7170 m ² / m ³)	0.8	Logan et al. (2007)
Arabitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas	Una cámara de aire de cátodo CCM (12 ml) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.68	Catal et al. (2008b)
Decolorante azoico con glucosa	300 mg/L	Mezcla de lodos aerobios y anaerobios	Una cámara de CCM aire cátodo con ánodo de papel de carbón (36 cm ²)	0.09	Sun et al. (2009a)
Carboximetil celulosa (CMC)	1 g/L	Co-cultivo de Clostridium cellulolyticum y G.	Dos cámaras de CCM con placas de grafito como electrodos (16 cm ²) y catódico ferricianuro	0.05	Ren et al. (2008)
partículas de celulosa	4 g/L	Cultivo puro de <i>Enterobacter cloacae</i>	CCM de tubo en U con ánodo de tela de carbono (1.13 cm ²) y fibras de carbono como cátodo	0.02	Rezaei et al. (2009)
Biomasa rastrojo de	1 g/L DQO	aguas residuales domésticas	Una cámara de membrana CCM menos aire del cátodo con ánodo de papel de carbón (7.1 cm ²) y el cátodo tela de	0.15	Zuo et al.

maíz			carbón		(2006)
Cisteína	385 mg/L	Muestra de sedimento de 30 cm de profundidad	Dos cámaras-CCM con papel de carbón como electrodos (11.25 cm ²)	0.0186	Logan et al. (2005)
1,2-dicloroetano	99 mg/L	Consortios microbianos de etilo enriquecidos MFC	Dos cámaras de CCM con ánodo de placa de grafito (20 cm ²) y gránulos de grafito cátodo	0.008	Pham et al. (2009a)
Etolol	10 mM	Lodo anaeróbico de planta de aguas residuales	Dos cámaras de CCM cátodo acuoso con electrodos de papel carbón (22,5 cm ²)	0.025	Kim et al. (2007)
Estiércol	3 kg in wáter (20% p/v)	ambiente anaeróbico	Una vasija de reactor de estiércol con ánodo en la parte inferior y el cátodo encima del estiércol; electrodos de tela de carbón (256 cm ²)	0.004	Scott and Murano (2007)
Furfural	6.8 mM	Bacterias pre-ambientada de ánodo de un ferricianuro-cátodo CCM	Una cámara de aire CCM con el ánodo y el cátodo papel carbón (7 cm ²)	0.17	Luo et al. (2010)
Galactitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas	Una cámara de aire del cátodo CCM (12 ml) con un paño húmedo no impermeabilizado carbón como ánodo (2 cm ²) y tela de carbón impermeabilizado húmeda como cátodo (7 cm ²)	0.78	Catal et al. (2008b)
Glucosa	6.7 mM	Cultivo bacteriano mixto mantuvo en acetato de sodio por 1 año (Paracoccus y Rhodococcus)	Una cámara de aire del cátodo CCM (12 ml) con un paño húmedo no impermeabilizado carbón como ánodo (2 cm ²) y tela de carbón impermeabilizado húmeda como cátodo (7 cm ²)	0.70	Catal et al. (2008a)

ácido glucurónico	6.7 mM	Cultivo bacteriano mixto	Una cámara de aire del cátodo CCM (12 ml) con un paño húmedo no impermeabilizado carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmeda como cátodo (7 cm ²)	1.18	Catal et al. (2008a)
Lactato	18 mM	Cultivo puro de <i>S. oneidensis</i> MR-1	CCM de doble cámara electrodo de grafito (cm ²)	0.005	Manohar and Mansfeld (2009)
Lixiviados de relleno sanitario	6000 mg/L	Lodos y lixiviados	CCM de doble cámara con electrodo tela de carbono (30 cm ²)	0.0004	Greenman et al. (2009)
macroalgas, <i>Ulva lactuca</i>	2500 mg/L DQO	Aguas residuales (clarificador primario) de una planta de tratamiento.	CCM de cámara simple de cátodo aireado (25 mL) conelectrodo y ánodo de cepillo de grafito.	0.25	Velasquez-Orta et al. (2009)
Extracto de malta, extracto de levadura y glucosa.	1%	Cultivo puro de <i>E. cloacae</i>	CCM de doble cámara con mediadores de sal y placa de grafito como electrodo (15 cm ²)	0.067	Mohan et al. (2008)
Manitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas para CCM	CCM de cámara simple de cátodo aireado (12 mL) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.58	Catal et al. (2008b)

Microalgas, <i>Chlorella vulgaris</i>	2500 mg/L DQO	Aguas residuales (clarificador primario) de una planta de tratamiento.	CCM de cámara simple de cátodo aireado (25 mL) con electrodo y ánodo de cepillo de grafito.	0.20	0.20 Velasquez-Orta et al. (2009)
celulosa microcristalina	7.5 g/L	Microorganismos a partir del rumen de una vaca	CCM de doble cámara con placas de grafito como electrodos (84 cm ²)	0.02	Rismani-Yazdi et al. (2007)
Ácido nitrilotriacético (NTA)	48.5 mg/L	Consortio Oligotrófico enriquecido con agua de río	CCM de doble cámara con filtro de grafito como electrodos (24 cm ²)	0.0005	Jang et al. (2006)
Fenol	400 mg/L	Lodo activado mixto y lodo anaerobio (1: 1, v / v)	CCM de doble cámara con cátodo de aire acuosa, electrodo de trabajo de carbono (25 cm ²)	0.1	Luo et al. (2009)
Propionato	0.53 mM	lodo anaeróbico	CCM de doble cámara con papel de carbono como electrodos (22,5 cm ²)	0.035	Oh and Logan (2005)
Ribitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas para CCM	CCM de cámara simple de cátodo aireado (12 mL) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.73	Catal et al. (2008b)
Formiato de sodio	20 mM	Líquido anaerobio digerido de una planta de tratamiento de aguas residuales	CCM de doble cámara con filtro de grafito como electrodos (22,5 cm ²)	0.22	Ha et al. (2008)

Fumarato de sodio	25 mM	Cultivo puro de <i>G. sulfurreducens</i>	Cátodo de acero inoxidable (2,5 cm ²) células medio contrapesados en -600 mV frente a Ag / AgCl	2.05	Dumas et al. (2008)
Sorbitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas para CCM	CCM de cámara simple de cátodo aireado (12 mL) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.62	Catal et al. (2008b)
Almidón	10 g/L	Cultivo puro de <i>Clostridium butyricum</i>	CCM de doble cámara con ánodo de grafito tejida (7 cm ²) y catódico ferricianuro	1.3	Niessen et al. (2004)
Sacarosa	2674 mg/L	Lodo anaerobio de un pozo séptico	CCM de doble cámara con mediadores, malla de acero inoxidable como ánodo (213.29 cm ²) y el cátodo (176.45 cm ²); KMnO ₄ (0,2 g / L) como catolito	0.19	Behera and Ghangrekar (2009)
Xilitol	1220 mg/L	Bacterias pre-aclimatadas para CCM	CCM de cámara simple de cátodo aireado (12 mL) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.71	Catal et al. (2008b)
Xilosa	6.7 mM	Cultivo mixto bacteriano	CCM de cámara simple de cátodo aireado (12 mL) con un paño húmedo no impermeabilizado de carbono como ánodo (2 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmedo como cátodo (7 cm ²)	0.74	Catal et al. (2008a)
Xilosa y ácido húmico	10 mM	Aguas residuales domesticas	CCM de doble cámara con electrodo de papel carbón (76.5 cm ²)	0.06	Huang and Angelidaki (2008)

AGUAS RESIDUALES					
Aguas residuales artificial con glucosa y glutamato	300 mg/L	Lodo anaeróbico	Membrana-menos CCM con ánodo (465 cm ²) en la parte inferior y el cátodo (89 cm ²) en la parte superior del cilindro; fieltro de grafito tanto como electrodo	0.02	Jang et al. (2004)
Aguas residuales Brewery	2240 mg/L	Aguas residuales de cervecería	CCM de cámara simple de cátodo aireado con un paño húmedo no impermeabilizado carbono como ánodo (7 cm ²) y tela de carbono impermeabilizado húmeda que contiene Pt como cátodo	0.2	Feng et al. (2008)
Aguas residuales de cervecería	600 mg/L	Consortios anaerobios mixtos	CCM de cámara simple con fibras de carbono como ánodo	0.18	Wen et al. (2009)
Aguas residuales de industria del chocolate	1459 mg/L DQO	lodo activado	CCM de doble cámara con barras de grafito como electrodos (16.485 cm ²) y ferricianuro como catolito	0.302	Patil et al. (2009)
Aguas residuales domésticas	600 mg/L	Lodo anaeróbico	CCM de doble cámara sin membrana con electrodo de grafito natural (50 cm ²)	0.06	Wang et al. (2009a)
Aguas residuales de procesamiento de alimentos	1672 mg/L DQO	Lodo anaeróbico	CCM de doble cámara con papel de carbono como electrodos (22.5 cm ²)	0.05	Oh and Logan (2005)

Aguas residuales procedentes de procesadoras de carnes	1420 mg/L	Aguas residuales domesticas	CCM de cámara simple (28 mL) con electrodos de papel carbón (25 m ² / m ³)	0.115	Heilmann and Logan (2006)
Aguas residuales de planta de reciclaje de papel	2.452 g/L	Agua residual diluido de recicladora de papel	CCM de cámara simple con ánodo de grafito con fibra de cepillo (volumen cepillo 5418 m ² /m ³)	0.25	Huang and Logan
Aguas residuales rico en proteínas	1.75 g/L DQO	Lodos anaerobios mesófilos	CCM de doble cámara con barras de grafito como electrodo (65 cm ²)	0.008	Liu et al. (2009)
Aguas residuales urbanas	330 mg/L	Aguas residuales domesticas	Anolitos separados (1000 cm ³) y cámaras catódico (100 cm ³) conectados con un puente de sal; ánodo cilindro de grafito (20 cm ²)	0.018	Rodrigo et al. (2007)
Aguas residuales de procesamiento de almidón	4852 mg/L DQO	Aguas residuales de procesamiento de almidón	CCM de cámara simple de cátodo aireado con ánodo de papel de carbón (25 cm ²)	0.09	Lu et al. (2009)
Aguas residuales con residuos de cerdos	8320 mg/L DQO	Aguas residuales porcinos sin diluir	CCM de cámara simple (28 mL) con papel de Toray de carbono como ánodo (25 m ² /m ³) y tela de carbono como cátodo	0.015	Min et al. (2005)

Agua sintética acida de drenajes de minas	0.007 M Fe ²⁺	Medio con NaCl y NaHCO ₃ rociado con N ₂ y CO ₂	CCM de doble cámara con ánodo de tela de carbono (7 cm ²) y el cátodo tela de carbono platinado	0.064	Cheng et al. (2007)
Agua residual sintética	12.1 g/L DQO	Consortios anaerobios mixtos que producen oxígeno	CCM de doble cámara con el electrodo de placa de grafito (83.56 cm ²)	0.086	Venkata Mohan et al. (2008a)
Agua residual sintética	16 g DQO /día	Lodo granular de un flujo ascendente de manto de lodos anaerobios reactor (UASB)	CCM sin membrana, sin mediadores con electrodos de carbón vítreo (160 cm ²)	0.017	Aldrovandi et al. (2009)
Agua residual sintética	510 mg/L	Cultivo anaerobio a partir de otra CCM	CCM de doble cámara con el acero inoxidable como ánodo (170 cm ²) y grafito varillas como cátodo (150 cm ²)	0.008	Jadhav and Ghangrekar (2009)
Agua residual sintética con melaza y urea	1000 mg/L	Mezcla anaeróbica de la planta de aguas residuales	CCM de doble cámara on hilos de cobre como ánodo (20.1 cm ²) y oro cubierto cables de cobre como cátodo	0.005	Kargi and Eker (2007)
Aguas residuales modificado con acetato	1600 mg/L	Aguas residuales domesticas	CCM sumergible, con un ánodo sumergido (papel carbón, 16 cm ²) y una cámara de aire-cátodo en un reactor anaeróbico	0.08	Min and Angelidaki (2008)

Fuente: modificado a partir de (Pant, Van Bogaert, Diels, & Vanbroekhoven, 2010)

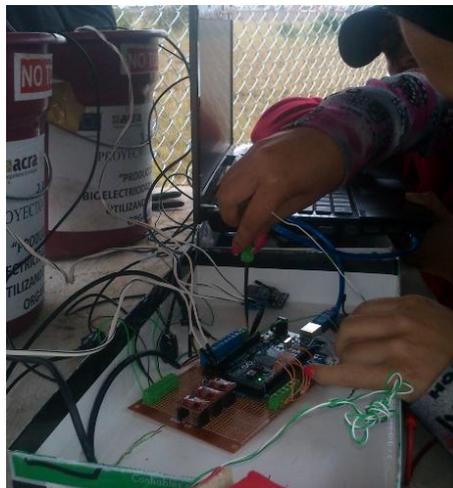
ANEXO 8. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Fotografía 30. Lugar Experimental



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 31. Instalación de sensores y configuración.



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 32. Muestreo Suelo-Pichán



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 33. Siembra Inicial in-situ



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 34. Muestreo Materia Orgánica



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 35. Materia Orgánica Pesada



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 36. Mezcla Suelo-Materia Orgánica



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 37. Configuración de CCMs



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 38. Método de dilución en serie



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 39. Método de diseminación por placa



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

Fotografía 40. Recuento Microbiológico



Fuente: Armas P, Ramírez G.2014

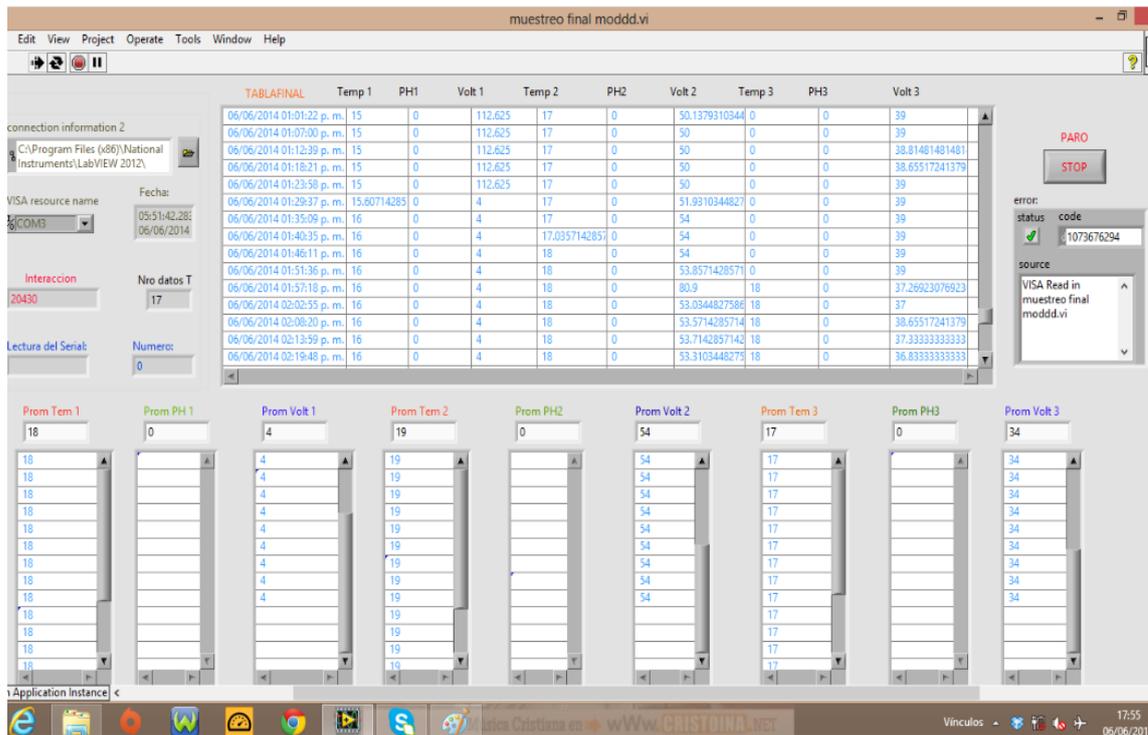
ANEXO 9. CARACTERÍSTICAS DISPOSITIVOS ELECTRÓNICOS

Tabla XXVIII. Dispositivos Electrónicos

SENSORES UTILIZADOS PARA MONITOREAR LAS CCMs		
TIPO SENSOR	CARACTERÍSTICAS	UNIDAD DE MEDICIÓN
Arduino Mega 2560 R3	Microcontrolador Atmega2560 Voltaje de entrada 7-12V 54 pines digitales 1/0 (14 salidas PWM) 16 entradas analógicas 256kb de memoria flash Velocidad de reloj 16 MHz	mV (se conectaron los demás sensores para transmisión de datos)
Arduino sonda DS18B20	Reporta cambios de temperatura con una precisión de 9 a 12 bits, desde -55°C hasta 125 °C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$). Rango de alimentación de 3V a 5.5 V	Grados Centígrados (°C)
pH CIRCUIT FOR ARDUINO American Marine PINPOINT pH Probe	PH Gama completa lectura 0,01-14,00 Precisión dentro de dos cifras significativas (XX.XX) Protocolo de calibración simple Conjunto de instrucciones simple que consta de sólo 11 comandos 2.5V a 5.5V Tensión	pH

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

ANEXO 10. RECEPCIÓN DATOS SENSORES (SOFTWARE LabVIEW)



Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014

ANEXO 11. PRODUCCION BIOELECTRICIDAD (mV)

Tabla XXIX. Base de datos manuales y sensores

REGISTROS MANUAL (mV)			REGISTROS SENSOR (mV)		
CCM1	CCM2	CCM3	CCM1	CCM2	CCM3
78.0	27.0	73.5			
157.0	115.0	84.5			
225.0	63.1	53.5	97.8	21.5	46.0
229.0	29.0	68.0	145.7	24.5	53.4
156.6	22.0	70.7	199.1	20.8	69.2
236.0	34.0	69.0	167.1	20.9	58.8
156.0	16.5	63.5	185.0	32.3	56.1
120.0	66.0	42.0	66.6	6.1	26.9
54.4	33.1	36.1	89.1		35.3
16.0	18.3	34.1	61.7		46.4
30.3	17.8	36.3	27.1		33.9
5.0	12.1	32.3	29.9	5.0	16.2
77.8	16.1	56.7	8.9	5.0	15.0
98.0	9.7	78.3	36.5	4.7	12.5
80.4	8.4	53.0	59.5	5.5	31.0
69.0	9.1	61.7	75.4	45.3	57.1
71.2	6.6	57.3	64.3		51.9
57.1	5.5	60.8	57.6		54.3
47.0	3.8	41.9	56.6		40.6
48.2	5.9	42.9	39.9		31.9
38.3	12.6	37.7	30.8	0.7	30.4
37.3	11.2	64.0	28.1	0.1	28.5
42.1	17.2	97.8	26.5	1.1	7.7
48.4	15.6	111.4	24.2	1.6	54.0
35.5	14.1	93.0	32.0		85.8
29.0	11.7	78.2	32.6		88.9
39.0	36.3	93.7	13.1	0.0	83.6
40.7	63.9	60.8	9.4	0.0	63.7
14.2	21.4	52.6	4.8		66.2
35.9	22.9	46.1	19.8	37.2	37.1
43.7	24.1	65.8	14.6	1.9	36.1
42.3	20.3	79.2	14.5	5.8	31.8
52.8	26.7	71.9	23.8	6.5	33.4
65.0	30.5	51.5	23.0	8.0	58.1
43.2	32.6	95.6	29.3	6.6	52.9
43.7	33.3	114.5	35.0	13.3	36.3

65.7	52.8	125.2	27.6	17.2	85.4
97.9	56.8	120.9	20.3	14.3	98.5
159.0	79.6	103.4	30.9	24.5	91.5
163.0	72.5	130.9	88.7	44.2	90.1
159.3	103.7	126.9	140.4	62.0	88.0
171.0	127.3	135.0	138.9	52.5	111.2
165.0	124.0	116.8	140.1	74.9	117.7
128.8	124.0	106.9	151.8	111.6	119.1
149.2	117.5	108.6	139.1	107.2	102.1
191.1	102.8	118.5	109.4	70.5	84.0
194.4	116.3	148.4	129.9	104.8	89.6
211.0	188.6	182.2	175.1	92.5	103.2
198.4	174.1	192.8	188.8	126.1	129.9
239.3	165.8	200.3	196.1	173.1	158.5
260.0	231.3	290.0	188.1	167.6	149.7
241.0	268.3	320.5	200.9	149.6	168.0
201.7	221.7	257.7	246.6	218.3	
149.0	207.3	140.9	229.4	225.4	
139.7	178.3	131.3	202.4	214.7	238.3
150.0	192.0	127.7	113.7	194.9	148.4
138.3	189.7	147.7	105.9	188.8	127.4
118.7	183.7	99.7	76.8	175.1	114.8
138.3	189.7	147.7	121.4	174.0	122.1
118.7	183.7	99.7	99.8	168.7	76.0

Fuente: Armas, P., Ramírez, G.2014