



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

### **CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

#### **“PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO A PARTIR DE LODOS RESIDUALES IRRADIADOS MEDIANTE UN PROCESO INTEGRADO DE FERMENTACIÓN OSCURA Y ELECTRÓLISIS MICROBIANA”**

##### **Trabajo de titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORA: PAULINA ALEXANDRA MÉNDEZ CUZCO**

**DIRECTOR: Dr. CELSO GUILLERMO RECALDE MORENO**

Riobamba – Ecuador

2020

© 2020, Paulina Alexandra Méndez Cuzco

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

Yo, Paulina Alexandra Méndez Cuzco, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 26 de agosto de 2020

**Paulina Alexandra Méndez Cuzco**

**060404849-6**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; tipo: Proyecto de Investigación, **PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO A PARTIR DE LODOS RESIDUALES IRRADIADOS MEDIANTE UN PROCESO INTEGRADO DE FERMENTACIÓN OSCURA Y ELECTRÓLISIS MICROBIANA**, realizado por la señorita: **PAULINA ALEXANDRA MÉNDEZ CUZCO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Alex Vinicio Gavilanes Montoya <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	_____	2020-08-26
Dr. Celso Guillermo Recalde Moreno <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	_____	2020-08-26
Ing. Juan Carlos González García <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	_____	2020-08-26

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación va dedicado primero a Dios y la Virgen de Baños de Agua Santa, por brindarme toda la capacidad, sabiduría, inteligencia y salud para alcanzar un logro más en mi vida y llegar a ser una gran profesional.

A mis padres Luis Méndez y Martha Cuzco quienes son mi ejemplo a seguir, a mi hermano Walter Méndez, a su esposa Cristina Tocachi, a mi sobrino Sebastián Méndez, a toda mi familia y a cuatro seres especiales en mi vida, quienes día a día son mi soporte fundamental de perseverancia, humildad y trabajo para vencer todas las adversidades logrando de esta forma conseguir una meta indispensable en mi vida cotidiana.

También a mis amigos, maestros e integrantes del GEAA, cuyos valiosos conocimientos y enseñanzas son importantes para aplicarlos en mi vida estudiantil y profesional.

Paulina

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y a la Virgen de Baños de Agua Santa, quienes siempre estuvieron conmigo brindándome fortaleza para cumplir mis metas y jamás darme por vencida.

A mis padres, hermanos y familia quienes me apoyaron durante todo el trayecto de mi vida estudiantil y en la realización de este proyecto de investigación.

Un agradecimiento especial al Dr. Celso Recalde, Ing. Juan Carlos González, Ing. Romel Palaguachi, Biofísica Diana Aguay y a todos los integrantes del GEAA que me brindaron sus valiosos conocimientos, apoyo y asesoramiento en la ejecución de este proyecto de investigación y titulación.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y al Grupo de Investigación de Energías Alternativas y Ambiente por abrirme sus puertas y permitir formarme como una profesional de excelencia.

Paulina

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiv
ÍNDICE DE ECUACIONES .....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xvi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT .....	xix
INTRODUCCIÓN .....	1
JUSTIFICACIÓN .....	2
OBJETIVOS.....	3

## CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO .....	5
1.1. Antecedentes de la investigación.....	5
1.2. Marco Conceptual.....	6
1.2.1. <i>Lodos residuales</i> .....	6
1.2.1.1. <i>Características principales</i> .....	7
1.2.1.2. <i>Metales pesados en lodos residuales</i> .....	7
1.2.1.3. <i>Microorganismos en lodos residuales</i> .....	7
1.2.2. <i>Radiación</i> .....	8
1.2.3. <i>Irradiador gamma con fuente de Cobalto 60</i> .....	10
1.2.3.1. <i>Ventajas y desventajas de la Fuente de Radiación Gamma</i> .....	11
1.2.4. <i>Hidrógeno</i> .....	11
1.2.4.1. <i>Ventajas del Hidrógeno</i> .....	11

1.2.4.2.	<i>Microorganismos productores de Hidrógeno</i> .....	12
<b>1.2.5.</b>	<b><i>Parámetros que inciden en el proceso de formación de biohidrógeno</i></b> .....	<b>13</b>
1.2.5.1.	<i>Inóculo</i> .....	13
1.2.5.2.	<i>Sustrato</i> .....	14
1.2.5.3.	<i>Nutrientes</i> .....	14
1.2.5.4.	<i>pH del medio</i> .....	14
1.2.5.5.	<i>Temperatura</i> .....	15
1.2.5.6.	<i>Tiempo de retención hidráulico y velocidad de carga orgánica</i> .....	15
<b>1.2.6.</b>	<b><i>Fermentación oscura</i></b> .....	<b>15</b>
<b>1.2.7.</b>	<b><i>Celdas de electrólisis microbiana (CEM)</i></b> .....	<b>18</b>

## **CAPÍTULO II**

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1.</b>	<b>Tipo y diseño de la investigación</b> .....	<b>21</b>
<b>2.2.</b>	<b>Localización del estudio</b> .....	<b>21</b>
<b>2.3.</b>	<b>Población de estudio:</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4.</b>	<b>Etapas de la investigación</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4.1.</b>	<b><i>Recolección de la muestra</i></b> .....	<b>23</b>
<b>2.4.2.</b>	<b><i>Análisis de muestras</i></b> .....	<b>23</b>
2.4.2.1.	<i>Análisis físicos y químicos de la muestra de lodos</i> .....	24
2.4.2.2.	<i>Análisis microbiológicos</i> .....	24
<b>2.4.3.</b>	<b><i>Irradiación de las muestras de lodos residuales</i></b> .....	<b>24</b>
2.4.3.1.	<i>Determinación del tiempo de irradiación</i> .....	25
<b>2.4.4.</b>	<b><i>Configuración de los reactores de fermentación oscura</i></b> .....	<b>26</b>
2.4.4.1.	<i>Características principales de diseño del reactor</i> .....	26
<b>2.4.5.</b>	<b><i>Armado del sistema de descarga del gas hidrógeno</i></b> .....	<b>29</b>
<b>2.4.6.</b>	<b><i>Ensamblaje de cápsula externa para sensor de gas Hidrógeno</i></b> .....	<b>30</b>
<b>2.4.7.</b>	<b><i>Construcción de soporte para los reactores</i></b> .....	<b>31</b>

2.4.8.	<i>Colocación de lodos en los reactores</i> .....	32
2.4.9.	<i>Preparación de los electrodos para la electrólisis microbiana</i> .....	32
2.4.10.	<i>Distribución de procesos en los reactores</i> .....	34
2.4.11.	<i>Configuración del sistema para procesamiento de datos</i> .....	34
2.4.12.	<i>Descripción técnica de sensores electrónicos MQ-4, MQ-8 y DHT11</i> .....	36
2.4.12.1.	<i>Sensor MQ-4</i> .....	36
2.4.12.2.	<i>Sensor MQ-8</i> .....	37
2.4.12.3.	<i>Sensor DHT11</i> .....	38
2.4.12.4.	<i>Placa Arduino UNO</i> .....	40
2.4.13.	<i>Precisión de sensores MQ</i> .....	40
2.4.14.	<i>Ejecución de los procesos FO Y EM</i> .....	41
2.5.	<b>Establecimiento de variables independientes y dependientes</b> .....	43
2.6.	<b>Formulación de la hipótesis</b> .....	43
2.6.1.	<i>Hipótesis nula</i> .....	43
2.6.2.	<i>Hipótesis alternativa</i> .....	43
2.6.3.	<i>Nivel de significancia</i> .....	44
2.6.4.	<i>Prueba estadística</i> .....	44

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b> .....	45
3.1.	<b>Análisis físicos, químicos y microbiológicos de las muestras de lodos</b> .....	45
3.2.	<b>Adaptación de los equipos al medio de experimentación</b> .....	52
3.2.1.	<i>Curva de calibración del sensor electrónico MQ-4 sensible al gas CH<sub>4</sub></i> .....	53
3.2.2.	<i>Curva de calibración del sensor electrónico MQ-8 sensible al gas H<sub>2</sub></i> .....	54
3.3.	<b>Estimación de la producción de biohidrógeno</b> .....	56
3.3.1.	<i>Cantidad de Hidrógeno producido expresado en volumen (mL)</i> .....	56
3.3.2.	<i>Cantidad de Hidrógeno producido expresado en concentración(ppm)</i> .....	58
3.4.	<b>Análisis estadístico</b> .....	63

3.4.1.	<i>Análisis descriptivo estadístico</i> .....	63
3.4.2.	<i>Análisis de Hipótesis mediante la prueba Paramétrica de Normalidad</i> .....	65
3.5.	Balance de masa .....	66
3.6.	Rendimiento del proceso de obtención de biohidrógeno .....	67
<b>CONCLUSIONES</b> .....		<b>69</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		<b>70</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Reacciones generados por los electrodos .....	18
<b>Tabla 2-1:</b>	Elementos principales de la CEM .....	19
<b>Tabla 1-2:</b>	Tiempo de irradiación para la dosis requerida.....	27
<b>Tabla 2-2:</b>	Diseño experimental de FO y EM .....	35
<b>Tabla 3-2:</b>	Características de funcionamiento del sensor MQ-4 .....	18
<b>Tabla 4-2:</b>	Características de funcionamiento del sensor MQ-8 .....	18
<b>Tabla 5-2:</b>	Características de funcionamiento del sensor DHT11.....	18
<b>Tabla 6-2:</b>	Procesamiento de datos de DHT11 .....	18
<b>Tabla 7-2:</b>	Características técnicas de la placa Arduino UNO.....	18
<b>Tabla 8-2:</b>	Definición de variables independientes y variable dependiente.....	18
<b>Tabla 1-3:</b>	Resultados analíticos de muestras antes de ser irradiados.....	18
<b>Tabla 2-3:</b>	Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 21 días por proceso).....	18
<b>Tabla 3-3:</b>	Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 10 y 11 días por proceso).....	18
<b>Tabla 4-3:</b>	Relación $R_s/R_o$ versus la concentración de $CH_4$ .....	18
<b>Tabla 5-3:</b>	Relación $R_s/R_o$ versus la concentración de $H_2$ .....	18
<b>Tabla 6-3:</b>	Análisis descriptivo estadístico de las concentraciones de Hidrógeno y Metano..	18
<b>Tabla 7-3:</b>	Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk.....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Efecto fotoeléctrico .....	9
<b>Figura 2-1:</b> Efecto Compton .....	9
<b>Figura 3-1:</b> Producción de pares .....	9
<b>Figura 4-1:</b> Curva de crecimiento microbiano .....	13
<b>Figura 1-2:</b> Mapa del punto de muestreo de lodos de coordenadas UTM 9661525 N y 0643750 E, en el río Chico, en una zona minera Barranco Colorado ubicada en Camilo Ponce Enríquez .....	23
<b>Figura 2-2:</b> Ubicación del Laboratorio del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente - ESPOCH .....	23
<b>Figura 3-2:</b> (a) Muestreo de lodos residuales en recipientes de vidrio y bolsas ziploc (b) Sellado de los recipientes con muestra para su transporte y análisis .....	24
<b>Figura 4-2:</b> (a) Materiales empleados para el ensamblaje de tapas de los reactores (b) Equipos de venoclisis y válvulas usadas para el transporte de gases .....	28
<b>Figura 5-2:</b> (a) Colocación de acoples de cobre tipo rosca y tapones de caucho en las tapas (b) Cubrimiento de acoples y mangueras con teflón y papel film .....	29
<b>Figura 6-2:</b> (a) Diseño de protector en Solid Works 2018 (b) Protector de acrílico, sensores colocados y conexión de cables a los sensores .....	18
<b>Figura 7-2:</b> Sistema de descarga del gas Hidrógeno .....	31
<b>Figura 8-2:</b> Cápsula con sensor externo de Hidrógeno .....	31
<b>Figura 9-2:</b> Soporte de canaleta de plásticos para reactores y soporte de cartón para el sistema de descarga de gas .....	18
<b>Figura 10-2:</b> (a) Autoclavado de los reactores (b) Colocación de lodos en los reactores .....	18
<b>Figura 11-2:</b> (a) Materiales usados para los electrodos (b) Electrodos sumergidos en agua destilada .....	34
<b>Figura 12-2:</b> (a) Autoclavado de los electrodos (b) Electrodos sumergidos en solución de acetato de sodio .....	34

<b>Figura 13-2:</b> Esquema de circuito electrónico de conexión de sensores a la placa Arduino UNO .....	18
<b>Figura 14-2:</b> (a)Placa Arduino UNO para procesamiento de datos (b) Sistema de reactores conectados a la computadora y lectura de datos .....	18
<b>Figura 15-2:</b> (a) Dimensiones del sensor DHT11 (b) Configuración electrónica del sensor DHT11 .....	18
<b>Figura 16-2:</b> Reactores protegidos con papel aluminio y conectados a la placa ARDUINO UNO .....	18
<b>Figura 17-2:</b> (a) Purgado de reactores con Nitrógeno (b) Purgado de la cápsula externa .....	18
<b>Figura 1-3:</b> Lectura de datos de Hidrógeno, Metano, Temperatura y Humedad en el Software LabView.....	18
<b>Figura 2-3:</b> Balance de masa de la muestra de lodos residuales de una zona minera.....	18

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre el pH .....	49
<b>Gráfico 2-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre el Nitrógeno Total .....	49
<b>Gráfico 3-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre la conductividad .....	50
<b>Gráfico 4-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre Sólidos Totales Disueltos .....	50
<b>Gráfico 5-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre la temperatura.....	51
<b>Gráfico 6-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre <i>Enterobacter</i> .....	51
<b>Gráfico 7-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre la Materia Orgánica.....	52
<b>Gráfico 8-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre Coliformes fecales.....	52
<b>Gráfico 7-3:</b>	Efecto del tratamiento sobre Demanda Química de Oxígeno .....	53
<b>Gráfico 9-3:</b>	Curva de calibración de sensor MQ-4 (Relación Rs/Ro y ppm de CH <sub>4</sub> ).....	54
<b>Gráfico 10-3:</b>	Curva de calibración de sensor MQ-8 (Relación Rs/Ro y ppm de H <sub>2</sub> ) .....	56
<b>Gráfico 11-3:</b>	Cantidad de H <sub>2</sub> producido por día en mililitros, en base al tiempo aplicado por proceso .....	18
<b>Gráfico 12-3:</b>	Producción acumulada de H <sub>2</sub> , en base al tiempo aplicado por proceso.....	18
<b>Gráfico 13-3:</b>	Concentración de H <sub>2</sub> obtenido por el sensor interno, en base al tiempo aplicado por proceso.....	18
<b>Gráfico 14-3:</b>	Concentración de H <sub>2</sub> obtenido por el sensor externo, en base al tiempo aplicado por proceso.....	18
<b>Gráfico 15-3:</b>	Concentración de CH <sub>4</sub> obtenido, en base al tiempo aplicado por proceso.....	18
<b>Gráfico 16-3:</b>	Concentración de H <sub>2</sub> promedio, en base al tiempo aplicado por proceso .....	18
<b>Gráfico 17-3:</b>	Concentración de CH <sub>4</sub> promedio, en base al tiempo aplicado por proceso.....	18

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1-1:</b>	Reacción de degradación de materia orgánica en lodos .....	8
<b>Ecuación 2-1:</b>	Estimación de la producción teórica de Hidrógeno .....	16
<b>Ecuación 3-1:</b>	Fermentación de glucosa a acetato .....	17
<b>Ecuación 4-1:</b>	Fermentación de glucosa a formiato.....	17
<b>Ecuación 5-1:</b>	Función matemática modificada de Gompertz .....	17
<b>Ecuación 1-2:</b>	Señal de salida del sensor .....	37
<b>Ecuación 1-3:</b>	Determinación de resistencia de sensibilidad del sensor .....	55
<b>Ecuación 2-3:</b>	Determinación de la concentración de CH <sub>4</sub> .....	55
<b>Ecuación 3-3:</b>	Determinación de la concentración de H <sub>2</sub> .....	57
<b>Ecuación 4-3:</b>	Ecuación general de balance de la materia .....	67
<b>Ecuación 5-3:</b>	Ecuación general el rendimiento de un proceso .....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo A:** Certificado de irradiación de lodos emitido por la SCAN

**Anexo B:** Resultados analíticos de muestras de lodos antes de ser sometidos a irradiación y a la experimentación

**Anexo C:** Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 21 días por proceso)

**Anexo D:** Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 10 y 11 días por proceso)

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>NO<sub>x</sub></b>	Óxidos de Nitrógeno
<b>CO</b>	Mónóxido de Carbono
<b>SO<sub>x</sub></b>	Óxidos de Azufre
<b>MP</b>	Material Particulado
<b>CEM</b>	Celdas de Electrólisis Microbiana
<b>CCM</b>	Celdas de Combustible Microbiana
<b>CH<sub>4</sub></b>	Metano
<b>Bio-H<sub>2</sub></b>	Biohidrógeno
<b>SAE</b>	Servicio de Acreditación Ecuatoriana
<b>GEAA</b>	Grupo de Energías Alternativas y Ambiente
<b>SCAN</b>	Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares
<b>DOCS</b>	Demanda de Oxígeno Químico Soluble
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno
<b>V</b>	Voltios
<b>Co60</b>	Cobalto 60
<b>pH</b>	Potencial Hidrógeno
<b>TRC</b>	Tiempo de Retención Celular
<b>TRH</b>	Tiempo de Retención Hidráulica
<b>VCO</b>	Velocidad de Carga Orgánica
<b>AGV</b>	Ácidos Grasos Volátiles
<b>A</b>	Amperios
<b>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup></b>	Ion Hidronio
<b>MH</b>	Enlace metal-hidrógeno
<b>PEM</b>	Membrana de Intercambio Protónico
<b>AEM</b>	Membrana de Intercambio Aniónico
<b>FO</b>	Fermentación Oscura
<b>EM</b>	Electrólisis Microbiana
<b>MQ-4</b>	Sensor electrónico para detección de gas Metano
<b>MQ-8</b>	Sensor electrónico para detección de gas Hidrógeno
<b>DHT11</b>	Sensor electrónico para detección de temperatura y humedad

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo la producción de biohidrógeno a partir de lodos residuales irradiados con una dosis de 350 Gy aplicando un proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana basándose en el tiempo máximo y medio de crecimiento de los microorganismos, logrando de esta forma la disminución de contaminación de residuos generados por la actividad minera y a la vez generando un gas ideal para la producción de energía. Las muestras se recolectaron de un punto del río Chico cercano a una zona minera en Azuay, posteriormente se realizó un análisis físico in situ y ex situ, químico y microbiológico (*Enterobacter* y *E. coli*) de las muestras antes y después de aplicarse fermentación oscura (FO) y electrólisis microbiana (EM) siguiendo los protocolos establecidos por la normativa; luego se trataron electrodos de fibra de carbón y acero inoxidable y 4 reactores de fermentación oscura conectados a sensores electrónicos calibrados MQ-4(metano), MQ-8(hidrógeno) y DHT11(temperatura y humedad). Se aplicó tiempos largos (21 días) y cortos (10 y 11 días) de experimentación para FO y EM en base al tiempo de crecimiento de los microorganismos y los datos generados fueron leídos por una placa Arduino 1. Se concluyó que a mayor tiempo aplicado (crecimiento de los microorganismos) en el proceso integrado de FO y EM, mayor es la producción de biohidrógeno obteniéndose un volumen máximo y concentración promedio de Hidrógeno de 676 mL y 104.74 ppm, respectivamente; mientras que la concentración de metano fue mínimo. Por ende, se recomienda hacer inoculaciones en el residuo utilizado de microorganismos selectivos productores de Hidrógeno como de los géneros *Enterobacter* o *Clostridium* para tener un control exhaustivo del crecimiento de los mismos y verificar su comportamiento en la producción de biohidrógeno.

**Palabras claves:** <HIDRÓGENO>, <FERMENTACIÓN OSCURA>, <ELECTRÓLISIS MICROBIANA>, <LODOS RESIDUALES>, <IRRADIACIÓN>, <CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS>, <ENTEROBACTERIAS>, <DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO>.



22-07-2020

0142-DBRAI-UPT-2020

## ABSTRACT

This study aimed to produce biohydrogen from residual sludge irradiated with a dose of 350 Gy by applying an integrated process of dark fermentation and microbial electrolysis based on the maximum and half growth time of microorganisms, thus achieving the reduction of waste pollution generated by mining activity and at the same time generating an ideal gas for energy production. The samples were collected from a point in the Chico river near a mining area in Azuay, later a physical analysis was carried out in situ and ex-situ, chemical, and microbiological (*Enterobacter* and *E. coli*) of the samples before and after dark fermentation (DF) and microbial electrolysis (ME) following the protocols established by the regulations; then, carbon fiber and stainless steel electrodes and 4 dark fermentation reactors connected to calibrated electronic sensors MQ-4 (methane), MQ-8 (hydrogen) and DHT11 (temperature and humidity) will be treated. Long (21 days) and short (10 and 11 days) experimentation times were applied for DF and ME based on the growth time of the microorganisms and the data generated were read by an Arduino 1 board. It was concluded that the longer the time affected (growth of microorganisms) in the integrated DF and ME process, the higher the production of biohydrogen obtaining a maximum volume and average concentration of Hydrogen of 676 mL and 104.74 ppm, respectively; while the methane concentration was minimal. Therefore, it is recommended to make inoculations in the used destination of selective hydrogen-producing microorganisms such as the *Enterobacter* o *Clostridium* to have a thorough control of their growth and verify their behavior in the production of biohydrogen.

**Keywords:** <HYDROGEN>, <DARK FERMENTATION>, <MICROBIAL ELECTROLYSIS>, <RESIDUAL SLUDGE>, <IRRADIATION>, <GROWTH OF MICROORGANISMS>, <ENTEROBACTERIUM>, <CHEMICAL OXYGEN DEMAND>.

## INTRODUCCIÓN

Según, Jussila (2015, pp.141-142), la energía es fundamental para el desarrollo del planeta, pero el 85% se obtiene masivamente de combustibles procedentes de fuentes que no se pueden restaurar y a la vez estas son costosas y se están agotando paulatinamente, además, emiten gases tóxicos como CO<sub>2</sub>, Metano, NO<sub>x</sub>, CO, SO<sub>x</sub>, material particulado (MP) y volátil. Mientras que el escaso desarrollo de energías sostenibles alternativas no avizora mejoras en la búsqueda de un equilibrio ecológico. Riba Romeva (2012, pp.43-197), anuncia que debido a que la combustión que se produce para obtener energía no es completa, ha conllevado a una elevación significativa de los gases dañinos que se acumulan en la atmósfera, derivándose en problemas como el incremento o reducción drástica de la temperatura, cambio del clima, entre otros, los mismos que son acontecimientos que más han afectado al planeta. Inclusive, las formas comunes de obtención de energía no tienen la facultad de ser multifuncionales como la disminución de elementos contaminantes a través del reciclaje de residuos, producción de biogases como el hidrógeno y ser de bajo precio.

Según una investigación realizada por Medina Méndez (2013, pp.13-14), existe mucha intranquilidad debido al nivel de polución que se da en el cuerpo de agua del río Chico indispensables para el desarrollo ecológico y de todos los seres vivos ubicado en Shumiral-Azuay, debido al conglomerado de minas y las actividades que conllevan en ese lugar, que han ocasionado muchos problemas de salud; incluso, ciertos puntos del río Gala que están conectados con el río Chico en Camilo Ponce Enríquez contienen material contaminante, debido a que abarcan un sinnúmero de lagunas de cianuro provenientes de todos los molinos de las mineras (AZD, 2019: 1A). Además, los fangos derivados de la minería no son tratados apropiadamente o son dispersados directamente a cuerpos hídricos o la alcantarilla generando una dispersión de los mismos llegando a afectar la calidad de ríos, la salud de los seres humanos del entorno, por la emanación de gases peligrosos como el amoníaco o metano como resultado de la actividad biológica (Rivera et al., 2018: pp.63-64), también puede darse la propagación de insectos, microorganismos patógenos y roedores; inclusive son dispersados en las áreas de cultivo con el fin de emplearlos como fertilizante, pero el problema es que estos lodos aún no han sido tratados ni neutralizados para adaptarlos a las propiedades del suelo (Oviedo-Anchundia et al., 2017: pp.437-438).

Hoy en día en Ecuador, solo se han hecho avances en tecnologías básicas para obtener energía a base de recursos renovables como las represas hidráulicas o los paneles solares, pero no existen suficientes planteamientos biotecnológicos para la purificación de lodos residuales derivados de la actividad minera y los intentos por fomentar tecnologías que permitan conseguir energía o gases no contaminantes por medio del aprovechamiento de los residuos derivados de la acción humana como la minería son muy escasos. Varios autores (Khongkliang et al., 2019; Mu et al., 2020; Xue et al., 2019),

solo se han enfocado en implementar métodos por separado como la fermentación oscura(FO), celdas de electrólisis y combustible basadas en la actividad de los microorganismos(CEM y CCM) y solo han empleado como sustratos orgánicos a base de lignina o celulosa, pero no lodos activos o aguas excedentes contaminadas resultantes de varias actividades manufactureras o de las plantas depuradoras. También, no se han encontrado trabajos que involucren la combinación de los procesos de fermentación oscura y electrólisis microbiana basándose en el tiempo de aplicación de estos métodos, relacionándolos con el desarrollo de los microorganismos aprovechando los lodos derivados de la minería y utilizando la irradiación gama.

### **Formulación del problema**

¿Se produce biohidrógeno a partir de lodos residuales irradiados aplicando un proceso integrado de fermentación oscura (FO) y electrólisis microbiana en base al crecimiento de los microorganismos?

### **JUSTIFICACIÓN**

Es importante indagar acerca de nuevas fuentes de energía que contribuyan a prevenir y disminuir la contaminación ambiental producto del uso de los combustibles fósiles y a la vez proteger el recurso vital que es el agua. Durante los últimos años se han venido desarrollando diversas tecnologías que se enfocan en el uso y conversión de la energía derivada de la biomasa residual, para posteriormente obtener: gas metano ( $\text{CH}_4$ ), biohidrógeno ( $\text{H}_2$ ) y bioelectricidad. Existen dos tecnologías que han llamado la atención en ámbitos de experimentación, conocidas como CEM y los reactores donde la materia se fermenta por acción microbiana sin presencia de la luz, éstas son herramientas biotecnológicas emergentes que podrían contribuir de manera directa a solucionar la crisis energética que afecta al ambiente(Marone et al., 2017: pp.1-13).

Por este motivo se propone el desarrollo de este trabajo de investigación titulado: “Producción de biohidrógeno a partir de lodos residuales irradiados mediante un proceso integrado de fermentación oscura y EM”, donde se aprovechan los sedimentos de la fuente hídrica Chico generados por una área minera de Barranco Colorado en Camilo Ponce Enríquez en la provincia del Azuay, para la generación de biohidrógeno de una manera renovable y sostenible, los mismos que poseen un alto contenido de metales pesados y materia orgánica producto de la extracción de oro, para lo cual se necesita de radiación gama para separar el material contaminante con lo cual se reducirá parte de los residuos generados por la empresa minera y con ello se mitigará en cierto grado la afectación ambiental e inclusive se podría disminuir y en ciertos casos reemplazar el uso de combustibles petroquímicos. Además, Jia et al.,(2020: pp.4-6), ha considerado a la fermentación oscura como una metodología de tratamiento previo para que los lodos se acoplen a las condiciones del medio de trabajo y se conviertan en el sustrato óptimo para los microorganismos.

Esta investigación se la implementará junto con la colaboración del laboratorio LABCESTTA de la ciudad de Guayaquil, cuyos análisis son regulados por “la norma internacional ISO 17025 del año 2018 - SAE LEN 18 – 034 y el Servicio de Acreditación del Ecuador”(SAE-LEN, 2018,p.1). También se cuenta con el aporte del Laboratorio de Análisis Clínicos donde se llevará a cabo la esterilización de los reactores y del Grupo de Investigación de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, donde se llevará a cabo la logística y la implementación de los reactores Fermentación Oscura y electrólisis microbiana como instrumentos clave para la producción y monitoreo de producción de biohidrógeno. Además, el GEAA se encuentra asociado con la Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares (SCAN), lo cual es esencial para la irradiación de las muestras de los lodos. Finalmente, el desarrollo de este tipo de tecnologías tiene costes más bajos, debido que los materiales a usar son muy pocos y fáciles de conseguir.

El trabajo realizado en el GEAA se fundamenta en la búsqueda de alternativas energéticas limpias y amigables con el ambiente a partir de muestras de lodos residuales, también se encuentra dentro de las líneas de investigación de Ingeniería de procesos y protección ambiental, porque se está desarrollando un proceso de generación de biohidrógeno que reemplace a las fuentes convencionales de energía y contribuye a la protección del ambiente, además se encuentra dentro de la sublínea de investigación, Biotecnología y Tratamiento de residuos puesto que se van mejorar las condiciones de los lodos contaminados que fueron descargados directamente a los ríos producto de la actividad minera utilizando nuevas tecnologías basadas en el tiempo de FO relacionándolo con crecimiento de los microorganismos. Inclusive se tiene previsto que el método a implementarse generará una mayor cantidad del gas deseado, a diferencia de la aplicación de una sola metodología.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Producir biohidrógeno a partir de lodos residuales irradiados mediante un proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana.

### **Objetivos Específicos:**

Determinar las características físicas, químicas y microbiológicas de los lodos antes y después del proceso aplicado.

Adaptar a las condiciones del medio de investigación a los reactores de fermentación oscura y los electrodos para la electrólisis microbiana.

Evaluar la cantidad de biohidrógeno producido mediante el uso de sensores electrónicos.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes de la investigación

Una investigación realizada por Wang y Wang (2007: pp.2-7), se enfocó en la depuración de lodos, por medio de la aplicación de la tecnología de radiación gamma debido a que es una alternativa innovadora, por su alta eficacia en la remoción de patógenos, disminución de contaminantes, reducción de olores, entre otros lo que facilitó el tratamiento, también permitió que los lodos sean más solubles reduciendo su volumen y transformando sustancias persistentes como metales pesados en degradables, eliminando de esta forma olores y materiales peligrosos; obteniendo además un biogás útil para la generación de energía. Además, Fei et al., (2020: pp.1-5), estudió el efecto de diferentes dosis de irradiación con una fuente gamma Co-60 en residuos alimenticios y luego se aplicó digestión anaerobia para generar biogás; en los residuos tratados con dosis de 8.28 kGy, la demanda de oxígeno químico soluble (DOCS) incrementó en un 70.6% de 140.1 g/L a 239.1 g/L, mientras que el rendimiento de biogás fue de 504 ml/g de Sólidos Volátiles, que fue un incremento del 14,3% en comparación con el grupo experimental no irradiado. Recalde et al., (2018: pp.2-12), evaluó la generación de hidrógeno a partir de lodo residual expuestos a 0.1, 0.35 y 0.6 kGy de radiación ionizante siendo la dosis de 0.35 kGy la más eficiente, generando una concentración de 43.9 ppm para CEM y 56.9 ppm para FO, donde se utilizó como sustratos lodo irradiado y una muestra control. El volumen y concentración de biohidrógeno originado se controló durante 201 días.

Según un estudio llevado a cabo por Paz Mireles (2016, pp.38-40), analizó los parámetros que influyen en la generación de biohidrógeno al utilizar una CEM, como son voltaje que va de 0.6 a 1V, inóculo microbiano, sustratos adecuados como el acetato y una combinación de ácidos grasos volátiles derivados del proceso de FO, también se toma en cuenta la configuración de la estructura de la celda donde influyen el tipo de electrodos aplicados y el material de la CEM. Chen et al., (2019: pp. 57-59), demostró que un aumento en la recuperación de gas catódico condujo a una disminución de las emisiones por kg de hidrógeno producido por el potencial de calentamiento de operación de la CEM que fue de 18.8 kg de dióxido de carbono/kg de hidrógeno con los siguientes factores: voltaje de 0.5 Voltios, rendimiento de conversión de electricidad del 90% y almacenamiento de gas catódico del 90%.

Khongkliang et al., (2017: pp.1-9), se centró en la producción de hidrógeno, empleando como base el residuo generado en el procesamiento de almidón de yuca, mediante la técnica de fermentación termofílica en dos etapas y CEM, la misma que no tenía membrana, se aplicó un voltaje óptimo de 1.1 V, donde se obtuvo un rendimiento de hidrógeno de 245 ml de  $H_2$  gDQO<sup>-1</sup>. La CEM tiene

una eficiencia de hidrógeno de 182 ml H<sub>2</sub> gDQO<sup>-1</sup> con un tiempo de retención de 48 h con un rendimiento de recuperación de energía del 217%. La FO integrada de dos etapas continua y la EM tienen un rendimiento de hidrógeno de 465 ml de H<sub>2</sub> gDQO<sup>-1</sup> con una mejora de rendimiento de hidrógeno dos veces mayor en comparación con una sola etapa y se logró una eliminación máxima de DQO del 58%. Las bacterias dominantes eran exoelectrógenos pertenecientes a los géneros: *Brevibacillus sp.*, *Caloranaerobacter sp.* y *Geobacillus sp.* Otro avance realizado por (Khongkliang et al., 2019: pp.1-10), se enfocó en la generación de biohidrógeno empleando como sustrato el efluente del molino de aceite de palma por medio de fermentación oscura en dos etapas y electrólisis microbiana en un ambiente termofílico, donde el pH fue de 6.5 con un rendimiento de hidrógeno de 73 mL H<sub>2</sub>·gDQO<sup>-1</sup> y eliminación óptima de DQO fue de 65 g·L<sup>-1</sup> y el. El efluente de fermentación oscura contenía dos elementos principales como acetato y butirato. El rango de voltaje óptimo para EM se encontró entre 0.7 a 1.1 V con un rendimiento de hidrógeno de 163 ml de H<sub>2</sub>·gDQO<sup>-1</sup>. El rendimiento de hidrógeno de FO continua en dos etapas y EM fue de 236 ml de H<sub>2</sub>·gDQO<sup>-1</sup> con una tasa de producción de hidrógeno de 7.81L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>; es decir aumentó tres veces en comparación con la fermentación oscura sola, siendo *Thermoanaerobacterium sp.* el microorganismo que abundó en la etapa de fermentación oscura mientras que *Geobacter sp.* y *Desulfovibrio sp.* dominaron en la electrólisis microbiana. La agrupación de estas dos tecnologías se ha convertido en un mecanismo innovador dentro de un concepto de biorrefinería ambiental donde se espera una producción sostenible de energía renovable. Otra investigación realizada por Marone et al.,(2017: pp.1-13), se llevó a cabo la evaluación de seis aguas residuales e industriales provenientes de fábricas de quesos, jugos de frutas, papel, azúcar, procesamiento de frutas y licores donde la producción general de hidrógeno al acoplar la fermentación oscura y la electrólisis microbiana se incrementó hasta 13 veces en comparación con la fermentación sola, logrando un rendimiento global máximo de hidrógeno de 1608.6 ± 266.2 mLH<sub>2</sub>/g y un máximo de 78.5 ± 5.7% de eliminación de DQO.

## **1.2. Marco Conceptual**

### **1.2.1. Lodos residuales**

Son flóculos o fangos de tipo sólido, semisólido o líquido, que se forman a partir de procesos desarrollados por las actividades urbanas y rurales y por las industrias textiles, mineras, alimenticias, faenadoras, etc; los mismos que poseen una alta proporción de materia orgánica, bacterias y minerales (nitrógeno y fósforo) que favorecen al mejoramiento de los elementos edáficos del suelo y a la vez pueden emplearse como combustible debido a su alto poder energético (FAO,2000,pp.3-5). Contienen compuestos químicos, dentro de los cuales se encuentran los metales pesados nocivos como el arsénico y el mercurio, que pueden ser tóxicos para la salud

por la presencia de agregados químicos, virus y bacterias, por lo que se requiere de un manejo correcto para prevenir eventuales impactos al ambiente (Chen et al.,2019:pp.268-275).

La capacidad de radiación gama para eliminar patógenos y contaminantes en los lodos de forma eficiente, ha sido muy estudiada, ya que este tratamiento no genera efectos adversos sobre el contenido nutricional de los lodos, estos se someten a una intensa fuente de radiación, durante un cierto tiempo, para acumular una dosis especificada e inactivar grasas y aceites (33%), Demanda química de Oxígeno(11%), detergentes(92%) y fenoles(50%), disminuyendo de esta forma la toxicidad del lodo (Moreno y Colín, 2000:pp.219-223).

#### *1.2.1.1. Características principales*

Las proporciones de materia orgánica y de nutrientes (Nitrógeno y Potasio), convierten a estos materiales en esenciales para el aprovechamiento agrícola; sin embargo, valores elevados de pH y de concentración de Calcio pueden provocar limitaciones de uso en suelos básicos ya que disminuye la disponibilidad de oligoelementos para el desarrollo de la flora (Potisek-Talavera et al.,2010: pp.327-332).

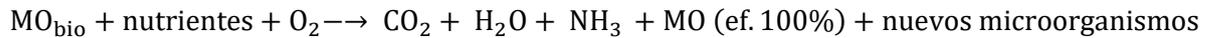
#### *1.2.1.2. Metales pesados en lodos residuales*

Los metales pesados se convierten en nocivos cuando aumenta su concentración y supera las dosis establecidas, lo cual ocasiona problemas al ambiente y a la salud de las personas. Dichos metales se registran en pequeñas concentraciones en aguas residuales urbanas y domésticas, mientras que las concentraciones elevadas son preocupantes a nivel de aguas residuales industriales. En los flóculos residuales generados en zonas mineras se presentan metales como: plomo, mercurio, cromo, arsénico y cianuro; los cuales en su mayoría son usados para conseguir el mineral oro (Chen et al.,2019: pp.268-275) .

#### *1.2.1.3. Microorganismos en lodos residuales*

La mayoría de los lodos residuales están constituidos por microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y compuestos tóxicos, a la vez presentan microorganismos que ayudan a la estabilización del lodo y que lo hacen apto para aplicaciones de restauración ambiental y como fuente energética, en este caso se encuentran las aerobias Gram negativas heterótrofas, las cuales emplean la materia orgánica como fuente de carbono y las quimiolitótrofas las cuales oxidan el amoníaco y los nitritos, por lo general, sus tamaños oscilan entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$ . Las bacterias aerobias son capaces de agruparse con otras para llegar a formar flóculos (flocs) que están integrados por microorganismos, materia orgánica e inorgánica, y filamentos asociados en una matriz de glicocálix que es un material polimérico extracelular formado por proteínas y

carbohidratos secretado por bacterias como la *Zooglea ramigera* que en unión con las bacterias filamentosas conforman la estructura de los flocs (Moeller y Tomasini Ortíz, 2004:pp.149-177).



### **Ecuación 1-1:** Reacción de degradación de materia orgánica en lodos

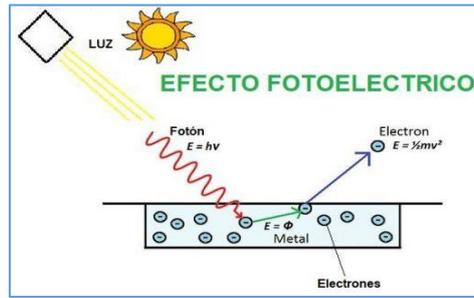
**Fuente:** (Moeller y Tomasini Ortíz, 2004:pp.149-177)

#### **1.2.2. Radiación**

Según, Fernández Niello (2007, pp.9-47), es el movimiento de electrones, señales o partículas para transferir energía a otro cuerpo en base a la velocidad de la luz. La materia está conformada por átomos y moléculas, a su vez los átomos están integrados por un núcleo constituido por partículas como protones (con carga eléctrica positiva), neutrones (no poseen carga eléctrica) y orbitando en torno al núcleo están los electrones (con carga eléctrica negativa). La radiación es una tecnología prometedora ya que tiene la capacidad de purificar sistemas acuosos contaminados con compuestos y moléculas orgánicos mediante su mineralización, permite la desintoxicación, decoloración, desinfección y mejora la degradación biológica de contaminantes a través de su polimerización, procesos rédox y coagulación de coloides (Makarov y Ponomarev,2017:pp.83-88).

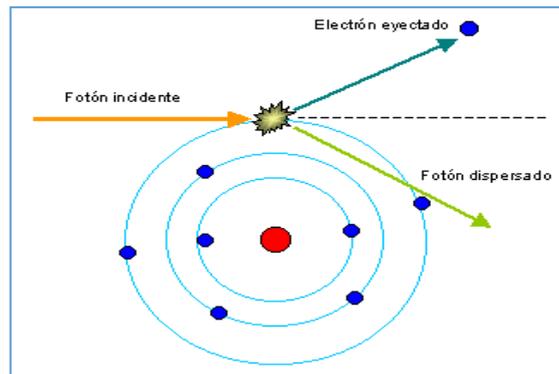
La radiación gamma tiene una similitud a la luz visible y a las ondas de radio, pero difiere en la longitud de onda ( $\lambda$ ) que es muy corta y, por ende, posee mayor energía que la luz ( $\lambda < 0,1 \text{ \AA}$  (10-10 m)); por lo que penetra profundamente dentro de ciertos materiales incluyendo los de geometría poco uniforme y que tiene elevada densidad sin generar transformaciones en el núcleo del material ya que solamente se pierde energía. Además, la radiación gama al no poseer carga no pueden ser detenidos por efecto de la ionización al penetrar en el material, sino que experimentan otros procesos que provocan su desaparición, y con ello transfieren energía sin afectar a los materiales que atraviesan. Luego sufren varios efectos que se detallan a continuación y es ahí que depositan gran parte de su energía (Fernández Niello, 2007, pp.9-47).

**Efecto Fotoeléctrico:** El fotón interactúa con un elemento de carga negativa de las capas más cercanas al núcleo del átomo de un material tal como se muestra en la figura 1-1, luego el fotón inicial desaparece trasladando toda su energía al electrón en forma de energía cinética la cual es igual a la radiación que incide directamente, y es importante para separarlo de su átomo y transformarlo en proyectil, luego se detiene por ionización y excitación del material (Fernández-Niello,2007,pp.39-40).Este efecto se produce desde un kiloelectroVolt (keV) hasta los 30 keV (Becerril y Juárez, 2010:p.301).



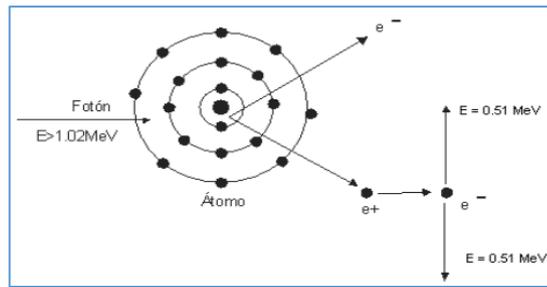
**Figura 1-1:** Efecto fotoeléctrico  
**Fuente:** (Apino, 2018)

**Efecto Compton:** El fotón colisiona con elementos de carga negativa posicionados débilmente en el núcleo del átomo, el cual gana solo una pequeña parte de la energía del fotón y es transportado a la parte externa del átomo, generándose un fotón de baja energía como consecuencia de la interacción y éste es dirigido hacia una nueva trayectoria que está influenciado por la incidencia y ángulo del mismo (Fernández-Niello,2007,pp.40-41). Este efecto se produce desde los 30 keV a los 20 MegaelectroVolt (MeV) (Becerril y Juárez, 2010;p.301).



**Figura 2-1:** Efecto Compton  
**Fuente:** (Miranda, 2015)

**Formación de pares:** El fotón incidente choca con el núcleo del átomo de forma que su energía pasa a ser materia originando dos elementos, uno de carga negativa y otro de carga positiva. La producción de pares se genera con energías del fotón superiores a 1.022 keV. Al momento en que el positrón está estático debido a la pérdida de energía por la desintegración de los átomos y éste se neutraliza con un electrón presente en el medio. Posteriormente, se pierden los dos elementos y se crean 2 fotones de 511 keV emitidos en una misma dirección (Fernández-Niello,2007,pp.40-41-42).



**Figura 3-1:** Formación de pares  
Fuente: (León Zamora, 2012)

### 1.2.3. Irradiador gamma con fuente de Cobalto 60

Es un instrumento encapsulado en pequeños cilindros introducidos en vainas de acero inoxidable, los mismos que se encuentran herméticamente cerrados. La radiación penetra el encapsulado para incidir en el material, llegando a incidir más de 60 centímetros en varios materiales si se irradian en ambos lados. El Co60 emite radiación de forma continua y los irradiadores generalmente poseen blindajes de concreto o acero (Rangel, 2007,pp.1-5).

El radionúclido cobalto-60 es la fuente de radiación gamma más utilizada para la tecnología de radiación, tanto para fines industriales como médicos, cuya producción se deriva del cobalto natural (metal), que constituye aproximadamente 0.001% de la corteza terrestre y generalmente soldado en cápsulas de Zircaloy que son colocados en un reactor de energía nuclear, donde permanecen por un período de 18 a 24 meses, lo cual depende del flujo de neutrones. El Cobalto 60 ( $^{60}\text{Co}$ ) es un radioisótopo sintético del Cobalto, que presenta desintegración beta cada 5,3 años, transformándose en Níquel 60 ( $^{60}\text{Ni}$ ) por acumulación de neutrones, producto de este proceso se desprende un electrón con una energía de 315 keV y el isótopo  $^{60}\text{Ni}$  genera dos rayos incidentes con una energía de 1,17 y 1,33 MeV, los mismos que se encargan del procesamiento de la radiación en los irradiadores. Cuando cada átomo de  $^{60}\text{Co}$  se desintegra, el nivel de radioactividad de la fuente de cobalto disminuye 12% en 1 año y 50% en 5.3 años (Mehta y Chmielewski, 2005:p.5-9).

La irradiación de materiales se lo hace con la finalidad de conservar, transformar o mejorar sus características iniciales. Este proceso se lleva a cabo colocando el producto cerca de una fuente de radiación (como el cobalto 60) durante un intervalo de tiempo fijo por el cual el producto está expuesto a la radiación que emana de la fuente. Una parte de la radiación que llega al material es absorbida por éste, lo cual está influenciado por su masa, composición y el tiempo al que se expone. El material que se irradia con rayos gamma no se vuelve radiactivo de tal forma que puede manipularse sin ningún riesgo, tal como sucede con los rayos X (Mehta y Chmielewski, 2005:p.4).

### *1.2.3.1. Ventajas y desventajas de la Fuente de Radiación Gamma*

**Ventajas:** Presenta una disponibilidad de energía del 95%, sus rayos son muy penetrantes, la aplicación de dosis es uniforme y es una tecnología eficiente y comprobada (Rangel, 2007, pp.1-5).

**Desventajas:** Para su funcionamiento requiere de alta intensidad energética, se necesita recargar el equipo cada cierto tiempo y en el caso de material alimenticio, el proceso de radiación es muy lenta (Rangel, 2007, pp.1-5).

### *1.2.4. Hidrógeno*

Es un elemento que posee un peso relativo atómico muy pequeño y es menos denso que el aire, además, es un gas que no tiene color, olor, es insípido, no presenta toxicidad y es muy inflamable. También es un combustible limpio que no contamina el ambiente generando agua lo cual no altera el equilibrio ecológico evitando la producción de gases de efecto invernadero derivados de la quema de combustibles fósiles. El H<sub>2</sub>, es muy eficiente ya que tiene un elevado valor energético por unidad de peso entre los combustibles gaseosos e incluso tiene un alto grado de ignición ya que reacciona fácilmente en contacto con el Oxígeno generando una llama de color azul (Suárez Alcántara, 2019, pp. 72-80) (Prades, 2006, pp.52-53).

#### *1.2.4.1. Ventajas del Hidrógeno*

**Sostenible y sustentable:** No contamina ni necesita de la explotación de los elementos de la naturaleza ya que se lo puede obtener de los residuos generados por la actividad humana. Además, el H<sub>2</sub> proviene del agua, se oxida y regresa al agua, con lo que no se generan otros compuestos tóxicos como CO<sub>2</sub> o SO<sub>x</sub> (Prades, 2006, pp.58-60).

**Seguridad:** Presenta una mayor seguridad que los combustibles fósiles derivados de fuentes petroquímicas, ya que se disipa fácilmente y rápidamente en la atmósfera cuando puedan existir fugas, sin alterar el equilibrio del ambiente (Prades, 2006, pp.58-60).

**Alta eficiencia:** Mediante tecnologías como celdas de electrólisis y combustible activadas por la actividad de los microorganismos y reactores de fermentación oscura, transforman la energía química derivado de materiales lignocelulósicos a electricidad de forma eficiente (Prades, 2006, pp.58-60).

**Modularidad:** Se pueden construir tecnologías de diversos tamaños, pequeñas para impulsar un vehículo pequeño y grandes para abastecer de energía a una población entera, es decir en base a la demanda permite incrementar la energía de los sistemas cuya inversión es mínima (Prades, 2006, pp.58-60).

**Velocidad de inflamación:** Posee un elevado nivel de inflamabilidad, lo que lo hace apto para motores de combustión interna, además puede ser un carburante alternativo en caso de que la energía eólica o solar fallen (Prades, 2006, pp.58-60).

**Bajos costos:** No se requiere infraestructura extra ya que con los tanques donde se deposita el combustible y un sistema de electrólisis correcto se puede regenerar el abastecimiento eléctrico sin tener que instalarse redes o instalaciones costosas (Prades, 2006, pp.58-60).

Actualmente, se están llevando a cabo investigaciones para la elaboración de baterías para las computadoras portátiles a base de Hidrógeno utilizando una fina membrana y un metal híbrido donde se almacene el gas (Prades, 2006, pp.58-61).

#### *1.2.4.2. Microorganismos productores de Hidrógeno*

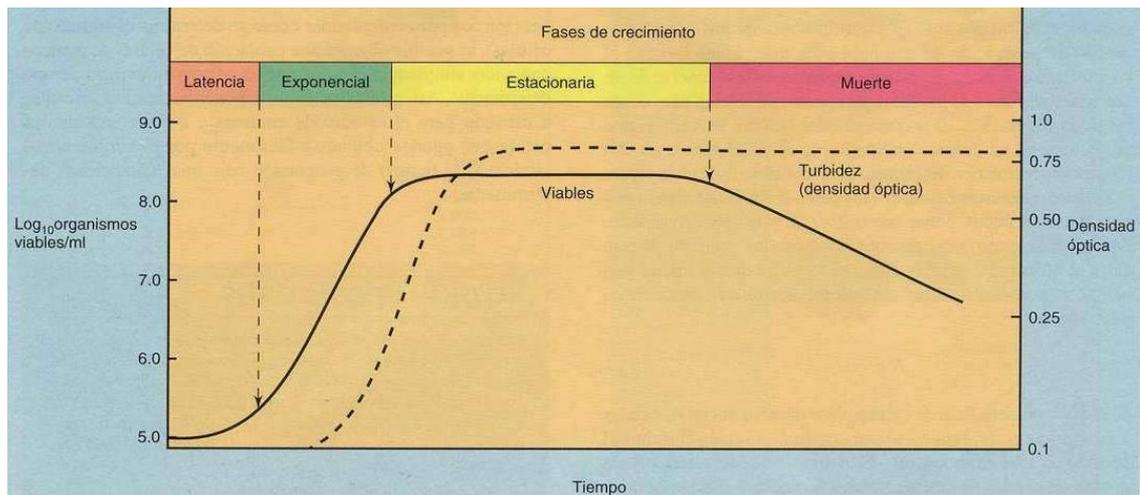
Dentro de los microorganismos productores de Hidrógeno se encuentran varios grupos de bacterias como los géneros: *Serratia*, *Enterobacter* y *Bacillus*, los cuales generan butanodiol, etanol e hidrógeno por fermentación butanodiólica que es un proceso muy utilizado en la actualidad. Los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Photobacterium* y *Vibrio*, producen ácido acético, láctico, fórmico, etanol e hidrógeno mediante fermentación ácido-mixta. Sin embargo por fermentación butírica realizada por bacterias anaeróbicas de los géneros *Clostridium*, *Enterobacter* y Sarcinase se consiguen altos rendimientos de hidrógeno (Rivera-Vargas et al., 2016: pp.251-256).

La combinación de las algas unicelulares y la bacteria *Escherichia coli* ha sido importante para conseguir un 60 % más de producción de Hidrógeno. Esta fusión incluso se puede emplear en residuos industriales y aguas contaminadas para aumentar la producción del gas y simultáneamente descontaminar (SINC, 2019).

#### *1.2.4.3. Curva de crecimiento de los microorganismos*

Los microorganismos y su desarrollo están influenciados por las condiciones ambientales presentes en el medio donde se encuentran, donde los nutrientes son fáciles de asimilar ya sea en un medio ácido o alcalino, de forma aeróbica o anaeróbica, con humedad, luz, temperatura, pH. En este caso, el rendimiento tanto de la fermentación oscura como de la electrólisis microbiana está influenciado por el contenido de biomasa (Prescott et al., 2004:pp.118-126).

Los microorganismos se desarrollan siguiendo 4 etapas tal como se muestra en la figura 4-1:



**Figura 4-1:** Curva de crecimiento microbiano

Fuente: (Díaz, 2015)

**Fase de latencia:** Los microorganismos se adaptan a las condiciones del medio de cultivo, no encuentran los nutrientes necesarios para su multiplicación, pero se encuentran sintetizando varios elementos para su desarrollo (Prescott et al., 2004:pp.118-126).

**Fase exponencial:** En este periodo existen suficientes nutrientes para que los microorganismos crezcan exponencialmente hasta un nivel máximo posible en función del medio y potencial genético (Prescott et al., 2004:pp.118-126).

**Fase estacionaria:** El número de microorganismos comienza a descender debido a que los nutrientes, espacio y condiciones del medio es escaso. Por lo general, esta fase ocurre cuando la concentración es de  $10^9$  células/mL (Prescott et al., 2004:pp.118-126).

**Fase de muerte:** Los nutrientes se terminan y se generan una gran cantidad de elementos tóxicos por lo que su crecimiento cesa y mueren (Prescott et al., 2004:pp.118-126).

### 1.2.5. Parámetros que inciden en el proceso de formación de biohidrógeno

#### 1.2.5.1. Inóculo

La generación de biohidrógeno se consigue fundamentalmente mediante bacterias anaerobias estrictas o facultativas presentes en los lodos, por lo general, corresponden a especies del género *Clostridium* formadoras de esporas, facultativas de los géneros *Enterobacter* y *Bacillus*. La producción de bio-H<sub>2</sub> puede darse en presencia de cultivo puro que posee una alta selectividad y produce una mayor eficiencia en la producción de hidrógeno con menos subproductos. Pero dicho cultivo puede poseer impurezas en su composición, para lo cual se necesita de un entorno aséptico lo que conllevaría a un incremento del coste global del proceso (Salakkam et al., 2019:p.12).

El empleo de cultivos mixtos como un inóculo en el proceso de fermentación es más adecuado que usar cultivos puros porque es más simple de operar, controlar y es más viable; existen varios inóculos mixtos como son estiércol animal, lodo anaeróbico, residuos sólidos municipales, tierra y compost. La utilización de microflora mixta anaeróbica sin pretratamientos en medios de fermentación es una opción muy prometedora. Un método para conseguir una elevada población de microorganismos generadores de hidrógeno derivados de un cultivo mixto en fermentadores en continuo se basa en aplicar pH bajos (4 y 6), Tiempo de Retención Hidráulica cortos (menores a 3 días), tratamiento térmico, tratamiento con ácido, tratamiento alcalino, y la adición de ácidos grasos de cadena larga son necesarios (Salakkam et al.,2019:p.12).

#### *1.2.5.2. Sustrato*

Los sustratos óptimos para generar bio-H<sub>2</sub> son los carbohidratos tales como glucosa, sacarosa, almidón, entre otros. Sin embargo, los sustratos lignocelulósicos son difíciles de asimilar por parte de los microorganismos por lo que se necesitan tratamientos previos para desintegrarlos y obtener sus monosacáridos. También existen sustratos puros producidos comercialmente pero su costo es elevado al utilizarlos en la producción biológica de hidrógeno (Elbeshbishy et al.,2017:pp.657-658).

#### *1.2.5.3. Nutrientes*

Durante las etapas fermentativas para generar H<sub>2</sub>, el nitrógeno, los fosfatos y ciertos iones metálicos son indispensables para el crecimiento celular de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>. El nitrógeno forma parte de la estructura de proteínas, ácidos nucleicos y enzimas, por lo tanto, si existe una concentración adecuada de nitrógeno se favorecería al crecimiento y desarrollo de los microorganismos generadores de hidrógeno y por ende se incrementa la generación de H<sub>2</sub> fermentativo. El nitrógeno utilizado en el proceso fermentativo se clasifica en inorgánica (N-amoniacal es el más empleado con una concentración que está entre 0.1 a 7 g/L) y orgánica (Peptona, extracto de levadura y licor de maíz) (Salakkam et al.,2019:p.13).

#### *1.2.5.4. pH del medio*

Cuando ocurre la fermentación oscura, el pH se reduce porque la producción de ácidos orgánicos disminuye la capacidad amortiguadora del sistema, lo que provoca una inhibición en la producción de bio-H<sub>2</sub>, debido a que se altera la actividad del hierro presente en el complejo enzimático hidrogenasa y genera una modificación en las rutas metabólicas. Por lo tanto el pH óptimo para generar hidrógeno en cultivos mesófilos está entre 5 y 6, mientras que en cultivos termófilos el pH óptimo es de 4.5 (Elbeshbishy et al.,2017:pp.658-659).

#### *1.2.5.5. Temperatura*

El proceso de fermentación oscura está influenciado directamente por la variable temperatura. Se establece que a mayor temperatura se incrementa o acelera la producción de bio-H<sub>2</sub>, puesto que la velocidad de reacción está en función del crecimiento de los microorganismos y su especie dependientes también de la temperatura, lo cual ocurre hasta alcanzar una temperatura óptima donde la tasa específica de crecimiento es máxima ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ). También, gran parte de los microorganismos termofílicos (50 y 60°C) evidencian altas tasas de crecimiento máximas que los mesofílicos (30 y 40°C). Además, en los sistemas de fermentación oscura la temperatura óptima para una mayor de producción de H<sub>2</sub> están entre el nivel mesofílico y termofílico, éste último es importante para depurar materias primas que contengan agentes patógenos (Salakkam et al., 2019; pp. 15-16).

#### *1.2.5.6. Tiempo de retención hidráulico y velocidad de carga orgánica*

El TRH indica el tiempo medio teórico de permanencia de fluido en el interior del reactor y equivale al volumen del reactor entre el caudal del afluente. En el caso de que en los sistemas de mezcla completa no se evidencia acumulación de sólidos, el Tiempo de Retención Hidráulica coincide con el tiempo de retención celular (TRC) definido como el tiempo medio de existencia de los microorganismos en el sistema, por ende, el TRH debe ser muy largo para que se logre el desarrollo de la población microbiana y con ello se degrada la biomasa de los residuos alimentados. De tal forma, el TRH incide en las bacterias presentes en el reactor, así como el uso eficiente del sustrato, es así que las comunidades bacterianas necesitan de un determinado tiempo para descomponer la materia orgánica y su velocidad de degradación está influenciada por la temperatura, donde a mayor temperatura menor es el TRH para conseguir una gran producción de gas, lo cual es importante para digerir una cierta concentración de material (Salakkam et al., 2019; p. 17).

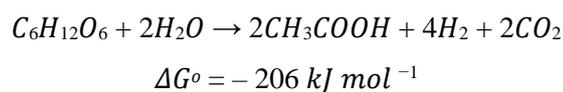
La velocidad de carga orgánica (VCO) cuyas unidades son DQO o SV, la cual hace referencia a la cantidad de materia orgánica generada que depende del volumen del reactor y del tiempo empleado, además influyen la concentración de sustrato y el TRH. De esta forma cuando el TRH disminuye, la VCO aumenta y son considerados como parámetros de diseño importantes (Machado López, 2015, pp. 71-72).

#### *1.2.6. Fermentación oscura*

También denominada fermentación anaerobia, donde los sustratos orgánicos se degradan por oxidación transformándolo en biohidrógeno, ácidos grasos volátiles (AGV) y CO<sub>2</sub> por bacterias fermentativas en ausencia de luz, donde las principales enzimas que actúan en este proceso son las hidrogenasas, las mismas que no deben exponerse directamente a la radiación solar porque su

producción puede inhibirse. En cuanto a este proceso la activación microbiana es esencial, la cual se relaciona de forma inversa debido a que cuando transcurren mayor número de días en la fermentación, el pH tiende a bajar; desde el día 4 la fermentación es más rápida evidenciándose una reducción importante de pH de 4.55, por lo tanto con un nivel de acidez inferior a 4 y desde el séptimo día se consideran óptimos para la activación microbiana y su utilización para la producción de H<sub>2</sub> (Hay et al.,2013:pp.334-352).

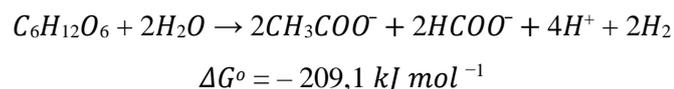
Las bacterias que participan en la fermentación son sensibles a variaciones del pH y la temperatura, debido a que estos cambios pueden provocar modificaciones en su ruta metabólica y tasa de crecimiento. La FO puede darse en varias fases: mesofílica (25-40 °C), termofílica (40-65 °C) o hipertermofílica (> 80 °C), pero según diversos estudios descubrieron que existen mayores rendimientos y altas tasas de producción de biohidrógeno a temperaturas que van desde los 40°C, como consecuencia de la activación térmica derivada de las reacciones químicas del metabolismo. Además, los pH ideales para que ocurra la fermentación oscura y se genere biohidrógeno está entre 6 a 8, pero en cultivos mixtos se observó eficiencia máxima de producción con pH bajos entre 4.2 a 5. En un medio fermentativo con un pH inicial alto, se pudo observar una rápida producción de biohidrógeno, pero la capacidad de amortiguación también se inhibió debido a la rápida producción de ácido y, por ende, los microorganismos disminuyen al no poseer la capacidad de adaptarse a estos cambios. De forma general, los monosacáridos son la principal fuente de carbono donde predomina la glucosa, conforme esta reacción, la producción máxima teórica de biohidrógeno derivada de la fermentación de la glucosa es de 4 moles por un mol de glucosa consumida cuando el ácido acético es el único ácido graso volátil generado (Hay et al.,2013:pp.334-352).



**Ecuación 2-1:** Estimación de la producción teórica de Hidrógeno

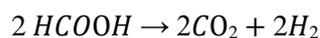
**Fuente:** (Hay et al.,2013:pp.334-352)

También se puede obtener la producción máxima teórica de hidrógeno aplicando dos fases: fermentación de la glucosa a acetato y formiato, tal como se aprecia en las ecuaciones 3-1 y 4-1:



**Ecuación 3-1:** Fermentación de glucosa a acetato

**Fuente:** (Hay et al.,2013:pp.334-352)



$$\Delta G^\circ = -6 \text{ kJ mol}^{-1}$$

**Ecuación 4-1:** Fermentación de glucosa a formiato

**Fuente:** (Hay et al.,2013:pp.334-352)

Se puede determinar el Hidrógeno obtenido o acumulado mediante el cálculo de rendimiento y tasa en base a una regresión potencial y al volumen generado. En este caso, el rendimiento se establece como el H<sub>2</sub> generado por sustrato consumido y sus unidades son mol H<sub>2</sub>/mol de glucosa. Mientras que la tasa de producción de hidrógeno (TPH) se refiere al H<sub>2</sub> (mL) obtenido en base a la unidad de tiempo y la tasa volumétrica del reactor o por la tasa específica de biomasa (Argun y Kargi, 2011; citados en Jaque,2019).

También se puede calcular la cantidad de H<sub>2</sub> acumulado en un reactor de fermentación oscura mediante la aplicación de la ecuación matemática modificada de Gompertz con un nivel de ajuste (r<sup>2</sup>) superior a 0.90:

$$H = H_{m\acute{a}x} \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_{m\acute{a}x} * e}{H_{m\acute{a}x} (\lambda - t)} + 1 \right] \right\}$$

**Ecuación 5-1:** Función matemática modificada de Gompertz

**Fuente:** (Blanco Londoño y Rodríguez Chaparro, 2012:pp.398-411)

Donde:

- H: Producción acumulada de H<sub>2</sub> (ml)
- H<sub>máx</sub>: Producción acumulada máxima de H<sub>2</sub> (ml)
- R<sub>máx</sub>: Tasa de producción máxima de H<sub>2</sub> (ml/h)
- t: Tiempo del cultivo(h)
- λ: Tiempo de retardo (h)

Una de las desventajas del proceso fermentativo es el rendimiento mínimo de bio-H<sub>2</sub>, a diferencia de otras técnicas como las celdas de electrólisis microbiana. Un ejemplo de esto es que solamente se pueden conseguir 4 moles de H<sub>2</sub> por mol de glucosa transformada, en contraste con los 12 moles teóricos de H<sub>2</sub> que se deberían obtener. Inclusive, durante la fermentación oscura se generan varios subproductos como ácidos grasos volátiles, los cuales reducen la eficiencia del tratamiento global. Una solución a este inconveniente es acoplar la fermentación anaerobia con otros sistemas, como la fotofermentación, celdas de combustible microbiano o bioelectrohidrogenesis. La integración de la fermentación oscura con la fermentación microbiana asistida electroquímicamente en el reactor CEM es una alternativa futura para mejorar el rendimiento molar H<sub>2</sub> (Argun y Kargi, 2011:pp.7443-7459).

### 1.2.7. Celdas de electrólisis microbiana (CEM)

Las CEM son celdas de combustión microbiana (CCM) que requieren cierta inversión energética para que la formación de hidrógeno tenga lugar en el lado del cátodo anaeróbico, donde *Brevibacillus sp.*, *Caloranaerobacter sp.* y *Geobacillus sp.* son microorganismos dominantes en una CEM. Además, puede lograr una producción de hidrógeno limpia y sostenible entre 8-9 mol H<sub>2</sub>/mol glucosa más que el típico 4 mol H<sub>2</sub>/mol glucosa obtenido en fermentaciones a partir de una amplia gama de biomasa renovable y aguas residuales. Mejorar la tasa de producción de hidrógeno y reducir la entrada de energía son los principales desafíos de esta tecnología (Ruiz López y Buitrón Méndez, 2013:p.4)

Según, Cardeña et al., (2019:pp.159-185) en una CEM, las bacterias electroquímicamente activas oxidan la materia orgánica y generan CO<sub>2</sub>, electrones que son transferidos al ánodo y protones que se liberan a la solución. Los electrones luego viajan a través de un cable (puente de intercambio catiónico) a un cátodo y se combinan con los protones libres en solución. Sin embargo, esto no ocurre espontáneamente, y para producir hidrógeno en el cátodo a partir de la combinación de estos protones y electrones, los reactores requieren un voltaje suministrado externamente (0.2V) en condiciones biológicamente asistidas de pH=7, T=30 °C, P=1 atm. Muchas CEM son diseñadas con cámaras de ánodo y cátodo separadas por membranas, pero también existen celdas que no tienen membranas, lo cual es muy adecuado para disminuir la inversión de voltaje externo y con ello aumentar la eficiencia energética.

El funcionamiento de la CEM, requiere de una entrada de energía (1.1.-1.8 V) que proviene de una fuente de alimentación, puesto que son sistemas bioelectroquímicamente asistidos (Kadier et al., 2016:pp.427-443).

En caso de que se use acetato como sustrato, las reacciones de los electrodos en ambas cámaras son las siguientes:

**Tabla 1-1:** Reacciones generados por los electrodos

Electrodo	Reacción
Ánodo:	$C_2H_4O_2 + 2H_2O \rightarrow 2 CO_2 + 8e^- + 8H^+$
Cátodo:	$8H^+ + 8e^- \rightarrow 4H_2$

**Fuente:** (Kadier et al., 2016:pp.427-443)

En este caso en el ánodo ocurre un proceso de oxidación de la materia, es decir se liberan electrones y se gana protones por lo que la partícula se carga positivamente; mientras que en cátodo ocurre una reacción de reducción donde se aceptan los electrones procedentes del ánodo y por ende el elemento se estabiliza generando gas Hidrógeno. Los géneros de bacterias más comunes que se desarrollan en el ánodo son *Enterobacter*, *Geobacter*, *Shewanella*, *Pseudomonas*,

*Desulfuromonas, Escherchia, Klebsiella y Clostridium*. Los CEM se analizan y comparan en términos de producción actual, tasas de producción de hidrógeno, recuperaciones de hidrógeno y recuperaciones de energía. La corriente se normaliza en función del área del electrodo o del volumen del reactor (m<sup>3</sup>), lo que permite una mejor comparación entre diferentes reactores que simplemente informar la corriente (mA o A) (Kadier et al., 2016:pp.427-443). Tanto la producción de biohidrógeno como la corriente son directamente proporcionales, ya que los electrones que viajan al cátodo se convierten eventualmente en hidrógeno gaseoso. El uso de ánodos de alta superficie, espaciado de electrodos estrechos, diferentes materiales de membrana y diseños mejorados han aumentado rápidamente tanto las densidades de corriente como las recuperaciones de hidrógeno (Bakonyi et al., 2018:pp.381-389).

#### 1.2.7.1. Elementos principales de una CEM

**Tabla 2-1:** Elementos principales de la CEM

Elemento	Descripción
Ánodo	Generalmente se emplean materiales a base de carbono, puesto que son químicamente inertes, resistentes mecánicamente, anticorrosivos y presentan una buena conductividad, biocompatibilidad con los microorganismos donde forman una biopelícula y existen diversas formas de carbono y carbono gráfico, como una varilla, placas, papel, fieltro, tela, malla, cepillo y gránulos; además de ser muy económicos. Dentro de estos se encuentran papel carbón, malla de fibra de carbono, fieltro de grafito, gránulos de grafito, tratados térmicamente. Puesto que la geometría de varios de estos materiales es irregular, la resistencia eléctrica es mayor de lo esperado, otros presentan un área superficial específica baja para la formación de biopelículas, o alta resistencia a la transferencia de carga. La superficie del ánodo se puede realizar añadiendo una cobertura con polímeros conductores como la polianilina, aumento de la porosidad al someterlo a temperaturas elevadas y un aumento de la rugosidad mediante la incorporación de nanotubos. Para conectar el electrodo se lo adhiere a un cable de Platino usando epoxi a un alambre aislado(Cardeña et al., 2019:pp.159-185).
Cátodo	El electrodo de carbono requiere de un potencial extra para impulsar la producción de H <sub>2</sub> . Otro catalizador comúnmente empleado es el Platino, el problema es que generan contaminación ambiental y su costo es elevado. Una alternativa para solucionar esto es enfocándose en los metales de transición de primera fila de la tabla periódica debido a que son muy estables en soluciones

	<p>alcalinas ya que no se oxidan, abundantes, poco tóxicos y económicos, dentro de estos se encuentran las aleaciones de níquel y acero inoxidable. El cátodo constituye la fuente de producción de H<sub>2</sub>, la cual incluye protones como el ion hidronio (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) que se descargan en una superficie metálica. En una solución buffer ácida, la reacción es (Cardeña et al., 2019:pp.159-185):</p> $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{e} \rightarrow \text{MH} + \text{H}_2\text{O}$ <p>El gas hidrógeno se produce mediante dos vías:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Vía catalítica: Es una reacción electroquímica heterogénea, donde la superficie metálica se cubre con átomos de hidrógeno antes que ocurra la reacción de recombinación de desorción. <math display="block">\text{MH} + \text{MH} \rightarrow \text{H}_2</math> </li> <li>2) Vía de desorción: Ocurren 2 descargas paralelas de iones Hidronio, los cuales colisionan mayoritariamente en vez de MH cuando la cobertura de la superficie aumenta. Puesto que, esta ruta involucra una transferencia de electrones, se llama desorción electroquímica y depende de la fuerza del enlace metal e hidrógeno, es decir del material del electrodo. <math display="block">\text{MH} + \text{H}_3\text{O}^+ + \text{e} \rightarrow \text{H}_2 + \text{H}_2\text{O}</math> </li> </ol> <p>El platino presenta densidad alta de corriente de intercambio (4 Amperios / m<sup>2</sup>), es muy estable en medio ácido y está disponible en muchas configuraciones geométricas (alambre, malla y placa), pero los factores económicos evitan su uso en procesos electroquímicos a escala (Cardeña et al., 2019:pp.159-185).</p>
Membrana	<p>En muchos diseños de CEM tradicionales se han incorporado membranas, pero el problema se originó cuando ocurrían pérdidas potenciales de gas por la difusión de hidrógeno a través de la membrana y hacia el ánodo; las membranas más usadas eran la de intercambio de protones (PEM) diseñada con grupos funcionales -SO<sub>3</sub> para permitir el paso de protones libres (H<sup>+</sup>), también las membranas de intercambio aniónico (AEM), como AMI-7001, membranas bipolares y membranas de mosaico de carga (CMM). Por lo que recientemente se demostró que los diseños sin membranas pueden conducir a altas tasas de recuperación de hidrógeno y producción (Kadier et al., 2016:pp.427-443).</p>

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

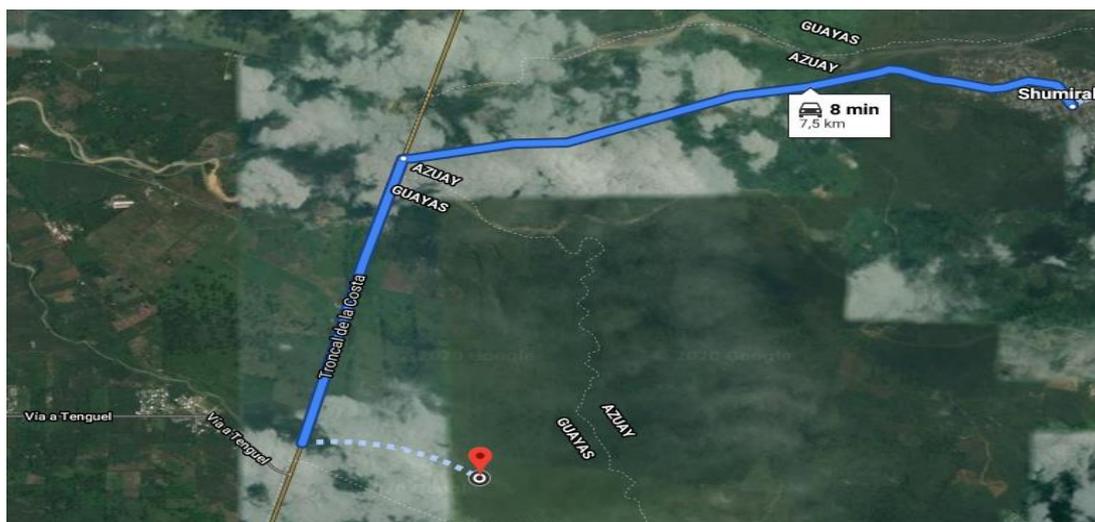
#### 2.1. Tipo y diseño de la investigación

La investigación es de tipo cuantitativa aplicada, ya que los datos obtenidos van a ser importantes para la realización de nuevas investigaciones acerca de la producción de biohidrógeno y con lo cual se va a contribuir a solucionar problemáticas en el ámbito energético. De acuerdo con el nivel de profundización es exploratorio ya que se buscan nuevas fuentes energéticas a partir de lodos residuales provenientes de un río cercano a una zona minera donde se extraen minerales, ubicado en el cantón Camilo Ponce Enríquez y a la vez se verifica la calidad de la tecnología aplicada. Es un trabajo experimental hipotético-deductivo debido a que se manipuló variables como combinación de procesos (FO y EM) y tiempo de aplicación de los procesos en base al crecimiento de los microorganismos, además con lo mencionado se comprobó la hipótesis planteada. Según el periodo temporal es de carácter transversal ya que el trabajo investigativo requirió de corto tiempo.

#### 2.2. Localización del estudio

La investigación se desarrolló de dos formas:

*In situ:* Se recogió muestras de lodos residuales se recogió del río Chico en un punto de coordenadas UTM 9661525 N y 0643750 E (Baldor, 2019), a 15 km aguas abajo de una zona minera Barranco Colorado ubicada en la vía a Shumiral perteneciente al cantón Camilo Ponce Enríquez, provincia del Azuay. Con una estación meteorológica-portátil de la marca Kestrel se determinó la altitud (43 m.s.n.m) y los siguientes parámetros ambientales: temperatura (25,2 °C), velocidad máxima del viento (1,48 km/h), presión (1 atm) y humedad (100%). En estas fuentes hídricas se acumulan una gran cantidad de lodos residuales contaminados con metales pesados, derivados de la actividad minera cuyo principal objetivo es la extracción de oro (Baldor, 2019).



**Figura 1-2:** Mapa del punto de muestreo de lodos de coordenadas UTM 9661525 N y 0643750 E, en el río Chico, en una zona minera Barranco Colorado ubicada en Camilo Ponce Enríquez

Fuente: («Google Maps», 2020a)

*Ex situ:* Se monitoreó los digestores con lodos residuales y la producción de biohidrógeno, en las instalaciones del Grupo de Investigación de Energías Alternativas y Ambiente (GEAA) de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Ciencias Químicas de la ESPOCH, que se encuentra ubicada en la Panamericana Sur km 1½ con código postal EC060155 en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo con coordenadas 1°39'56" de latitud Sur y 78°67'40" de longitud Occidental. El GEAA está encargado de aportar con proyectos que permitirán en cierto modo planificar, modelar, simular el diseño de la construcción de equipamiento de mediana y alta entalpía, fotovoltaicas, producción de biogás, producción de bioelectricidad, que contribuyen a la mitigación y adaptación al cambio climático de la región central y probablemente del país (GEAA, 2017).



**Figura 2-2:** Ubicación del Laboratorio del Grupo de Energías Alternativas y Ambiente-ESPOCH

Fuente: («Google Maps», 2020b)

### 2.3. Población de estudio:

Los sedimentos con lodos residuales del río Chico muestreados de una zona cercana a una mina en la parroquia Shumiral del cantón Camilo Ponce Enríquez del Azuay, que fueron empleados como sustrato en reactores de fermentación oscura y electrólisis microbiana donde se monitoreó la generación de biohidrógeno desarrollados en el GEAA de la ESPOCH.

### 2.4. Etapas de la investigación

#### 2.4.1. *Recolección de la muestra*

Las muestras de lodos se recolectaron el día 18 de noviembre de 2019, utilizando recipientes de vidrio, fundas ziploc de 23,2cm de ancho x 26,1 cm de largo y frascos estériles de polipropileno de 125 mL, además se empleó un cooler mediano para la conservación y transporte de las muestras (Norma Técnica Colombiana ISO 5667(parte 13 y 16) guía para el muestreo de lodos de aguas residuales y plantas de tratamiento); esta norma fue considerada debido a que en Ecuador únicamente existen normas para el muestreo de aguas.

Se recogió 4 Kilogramos de muestras de lodos en fundas ziploc, para la irradiación y el proceso de obtención de biohidrógeno y en recipientes de vidrio se recogió 2 Kg de muestra, que fueron destinados para los análisis respectivos de laboratorio, las mismas que fueron almacenadas hasta el día 25 de noviembre de 2019 en el refrigerador a 4°C, del laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH a cargo de la Ing. Verónica Buenaño.



**Figura 3-2:**(a) Muestreo de lodos residuales en recipientes de vidrio y bolsas ziploc (b) Sellado de los recipientes con muestra para su transporte y análisis

**Realizado por:** Méndez P, 2020

#### 2.4.2. *Análisis de muestras*

Las muestras se analizaron antes de ser sometidas a irradiación y después de terminar el proceso de monitoreo de producción de biohidrógeno.

#### *2.4.2.1. Análisis físicos y químicos de la muestra de lodos*

Los parámetros físicos (pH, conductividad, temperatura y salinidad) se midieron en el instante en el que se recogió la muestra, según lo establece la norma (NTC-ISO-5667-13,1998,pp.1-23), para lo cual se enjuagó 3 veces un recipiente de vidrio de 500 mL con agua y posteriormente se lo llenó. Para la medición de estos parámetros se utilizó un pHmetro de la marca HANNA y un multiparámetro de la marca HACH, ambos equipos con un error del 0,1% y 0,5% respectivamente. Mientras que para los análisis físicos-químicos se recolectaron las muestras en 1 recipiente de vidrio de 1000 mL, además se detalló todos los datos del lugar y se selló las muestras usando plástico de polietileno y cinta de embalaje para evitar derrames. Los parámetros analizados antes y después del proceso por el método estándar fueron DQO, Sólidos Totales Disueltos, Materia Orgánica, Fósforo Total y Nitrógeno Total.

#### *2.4.2.2. Análisis microbiológicos*

En este caso se recogieron los lodos en 2 frascos estériles de polipropileno llenándolos hasta tres cuartas partes del recipiente para homogenización y oxigenación de la muestra y evitar la descomposición o pérdida de elementos importantes. Para su conservación se almacenó las muestras en un cooler con hielo seco para adecuarlo a una temperatura de 0 a 5 °C (NTC-ISO-5667-16,2000,p.4). Los parámetros analizados fueron Coliformes fecales y Enterobacterias. El 20 de noviembre de 2019, se trasladaron las muestras en un cooler y con la identificación correspondiente hacia el laboratorio de Análisis e Inspección (LABCESTTA) ubicado en la ciudad de Guayaquil, para los respectivos análisis físicos, químicos y microbiológicos.

#### *2.4.3. Irradiación de las muestras de lodos residuales*

Dos fundas ziploc con muestras de lodos de 2 Kilogramos cada bolsa, depositadas en un cooler mediano con hielo seco fueron transportadas el día 25 de noviembre de 2019 desde Riobamba hacia la SCAN situado en Quito donde se llevó a cabo la tramitación respectiva para la irradiación donde se emitió una certificación (Anexo A) para justificar el uso de radiación ionizante. Posteriormente el día 26 de noviembre de 2019 se ejecutó la irradiación en la parroquia Aloag del cantón Mejía perteneciente a la provincia de Pichincha, puesto que ahí se encuentra el Laboratorio de Patrones Secundario donde se realizan aplicaciones nucleares y cooperación técnica, donde se aplicó una dosis de 350 Gy determinada como óptima para la producción de biohidrógeno, con el uso de un equipo de la marca J. L. SHEPHERD de cobalto 60 con 14 cm de diámetro y 20 cm de alto. Una vez realizado esto se trasladaron las muestras a la ciudad de Riobamba el mismo día para evitar. Para la irradiación se basó en los reglamentos y protocolos establecidos por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), Ministerio de Energía y Recursos

Naturales No Renovables cuya dependencia es la Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares (SCAN) cuyo fin es regular y promover el uso controlado de la radiación en el país.

*2.4.3.1. Determinación del tiempo de irradiación*

Se aplica la siguiente metodología establecida por (Ortega Aramburu y Jorba Bisbal,2009:pp.361-372):

1. Calcular el número de años transcurridos desde la dosis inicial aplicada hasta la fecha en que se programó la última radiación:

	<b>Año</b>	<b>Mes</b>	<b>Día</b>
	2018	10	27
Fecha de la tasa de dosis final	<b>2019</b>	<b>11</b>	<b>26</b>
Fecha de la tasa de dosis inicial	<b>2007</b>	<b>10</b>	<b>24</b>
	11	2	3

11 años = 11 años

$$2 \text{ meses} * \frac{1 \text{ año}}{12 \text{ meses}} = 0,167 \text{ años}$$

$$3 \text{ días} * \frac{1 \text{ año}}{365,25 \text{ días}} = 0,0082 \text{ años}$$

$$= 11 \text{ años} + 0,167 + 0,0082$$

$$t = 11,175 \text{ años}$$

2. Para establecer la tasa de dosis aplicada en el proceso de irradiación, se fundamenta en la última calibración del irradiador que en este caso fue de 14,42 Gy/min:

$$\dot{D} = \dot{D}_0 * e^{\frac{\ln(2)}{t_2} * t}$$

$$\dot{D} = 14,42 \text{ Gy/min} * e^{\frac{\ln(2)}{5,3 \text{ años}} * 11,175}$$

$$\dot{D} = 3,344 \text{ Gy/min}$$

3. Luego se determina el tiempo de irradiación para la dosis a aplicarse en los lodos, que en este caso es de 350 Gy:

$$\dot{D} = \frac{D \text{ requerida}}{t} ; t_i = \frac{D \text{ requerida}}{\dot{D}}$$

En la siguiente tabla se resumen los cálculos realizados anteriormente:

**Tabla 1-2:** Tiempo de irradiación para la dosis requerida

<b>Fecha de Dosis Inicial (Do)</b>	24/10/2007	<b>Tasa Do(t)</b>	14,42 Gy/min
<b>Fecha de Dosis final (Di)</b>	26/11/2019	<b>Tasa Di(t)</b>	3,34 Gy/min
<b>Tiempo transcurrido(t)</b>	11,18 años		
<b>Periodo de semidesintegración (<math>t_{\frac{1}{2}}</math>)</b>	5,27 años		
<b>Dosis requerida</b>		<b>t de irradiación(min)</b>	<b>tiempo de irradiación (h)</b>
350		101,74	1,70

Realizado por: Méndez P, 2020

#### 2.4.4. Configuración de los reactores de fermentación oscura

##### 2.4.4.1. Características principales de diseño del reactor

Los cuerpos de los reactores y sus tapas fueron construidos en el taller de la Facultad de Mecánica de la ESPOCH, los mismos que fueron diseñados en el Software Solid Works 2018. En una investigación anterior realizada en el GEAA por Jaque Castellano (2019,pp.39-82), se establecen las principales características de estos reactores que son las siguientes:

- Están hechos a base de un polímero Nylon blanco cremoso Grillon LAMIGAMID 100 PA 6, debido a que no se expande ni dilata (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Es un reactor de tipo Batch discontinuo, en el cual no existe entrada ni salida de muestra, con lo cual se asegura la hermeticidad del equipo (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Presenta una geometría cilíndrica, adecuado para prevenir zonas inertes y la alteración en la concentración de los materiales usados en el proceso de fermentación. Además, se asegura una correcta homogenización de la mezcla y un equilibrio entre los gases generados como Hidrógeno y Metano (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Es resistente a altas y bajas temperaturas (-40 a 100 °C), aptos para ser esterilizados mediante el uso de una autoclave cuando finaliza la investigación y por consiguiente ser utilizado en un nuevo proceso (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Puede tratar sustratos con material contaminante como metales pesados, lodos y aguas residuales, estiércoles, biomasa orgánica, etc, (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Su estructura está diseñada para trabajar máximo con 1 Litro o 1 Kilogramo de muestra.

- Los parámetros de diseño son: “Masa: 0.65857 kg; Volumen: 0.000572669 m<sup>3</sup>; Densidad: 1150 kg/ m<sup>3</sup>; Peso: 6.45399 N; Detalles de carga o presión: 220 psi, (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Presenta un diámetro interno y externo de 90 mm y 130 mm respectivamente, grosor de 4 mm y altura de 210 mm (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- La tapa se diseñó con una abertura angular de 45° y 30 mm de altura (Jaque Castellano,2019,pp.39-82).
- Presenta un sello tipo brida para evitar fugas y permitir la correcta ejecución del proceso de fermentación oscura y electrólisis microbiana. Además, el cilindro presenta 8 orificios en el diámetro externo, enroscados a una distancia uniforme uno del otro (Jaque Castellano,2019,pp.39-82)

#### 2.4.4.2. Ensamblaje de las tapas de los reactores

Se realizó tres orificios de 9 mm en las tapas roscas de cada reactor, en el primer orificio se instalaron los cables para el funcionamiento de sensores con su respectivo monitoreo, el segundo orificio cumplía la función de permitir la entrada del gas Nitrógeno adecuado para purgar los reactores y con ello se eliminaba todo el oxígeno que se encontraba y a la vez se los adecuó a las condiciones anaeróbicas para que ocurra el proceso de fermentación oscura y el tercer orificio permitía la salida del gas Hidrógeno hacia una cápsula externa y de ahí se dirigía hacia la probeta que medía el volumen del gas.



**Figura 4-2:** (a) Materiales empleados para el ensamblaje de tapas de los reactores (b) Equipos de venoclisis y válvulas usadas para el transporte de gases.

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Para la entrada y salida de los gases se empleó dos mangueras de venoclisis de PVC de grado médico estériles de 5 mm de diámetro y 250 mm de largo, las mismas que fueron introducidas

dentro de 2 acoples de cobre tipo rosca de 1/8 de pulgada de diámetro, posteriormente se envolvió los acoples y parte de la manguera con teflón y papel film para que se adhiriera perfectamente al orificio de la tapa del reactor y de esa forma se evitó fugas.

Para el control de los gases que se dirigen hacia la probeta, se usaron válvulas médicas de tres vías de polietileno, las mismas que fueron conectadas y ajustadas a las mangueras mediante el uso de pequeños fragmentos de 1cm de jeringa de diabético.

También se utilizó tapones de caucho de polietileno, donde se colocó un pedazo de jeringa de diabético de 1cm de largo, necesario para poder pasar los 7 cables hembra y macho Protoboard de 10 cm de largo para la conexión entre la placa Arduino usado para la lectura de los datos y los sensores que monitorean la generación de gases. La secuencia de los cables fue: 1-Positivo (Rojo), 2-Negativo (Negro), 3-Hidrógeno (Azul), 4- Metano (Café o Plomo), 5- Temperatura y Humedad (Verde), los dos últimos se usaron para los electrodos: 6- Cátodo (Tomate) y 7-Ánodo (Amarillo). Cabe indicar, que tanto el proceso de fermentación oscura y electrólisis microbiana se llevaron a cabo en el mismo reactor intercalando el tiempo.

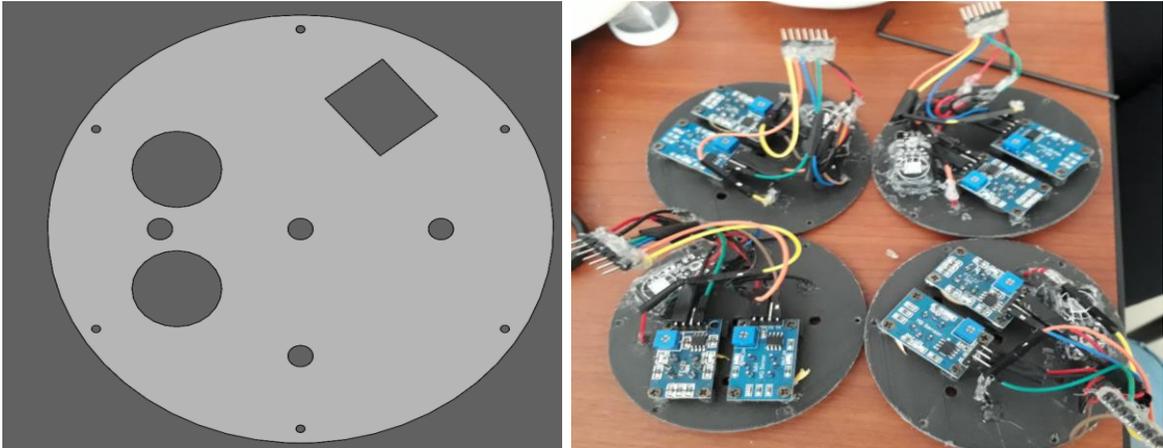


**Figura 5-2:** (a) Colocación de acoples de cobre tipo rosca y tapones de caucho en las tapas (b) Cubrimiento de acoples y mangueras con teflón y papel film

**Realizado por:** Méndez P, 2020

La conexión de los cables al sensor seguía ciertos códigos, donde el cable positivo iba al punto VCC, el cable negativo a GND y el cable de obtención de datos iba a Ao. Para evitar que los sensores de Hidrógeno, Metano, temperatura y humedad se quemaran o dañaran por contacto directo con los lodos, se diseñó un protector en 3D en el Software Solid Works versión 2018, el cual se imprimió en acrílico negro de 3 mm de espesor, además poseía tres agujeros para los 3 sensores,

dos para los cables de los electrodos y dos orificios para las mangueras. Los sensores y las mangueras se colocaron en los agujeros utilizando teflón, papel film y silicona.



**Figura 6-2:** (a) Diseño de protector en Solid Works 2018 (b) Protector de acrílico, sensores colocados y conexión de cables a los sensores

Realizado por: Méndez P, 2020

Las puntas de los cables conectados a los sensores fueron extendidas hacia la parte externa de la tapa del reactor mediante la conexión a un pin hembra y macho con otros cables de 15 cm de largo, donde posteriormente se colocó silicona para sellarlos bien, evitando cortocircuitos y asegurando una correcta conexión. Los cables externos fueron unidos con una cinta aislante de color negro y conectados a un adaptador RJ45 hembra y macho.

Para verificar que los sensores funcionaban, se empleó un cable de red que iba conectado desde el adaptador RJ45 al puerto USB de una computadora portátil, donde aparecía una base de datos y los sensores debían tener encendida una luz roja.

#### **2.4.5. Armado del sistema de descarga del gas hidrógeno**

Se utilizó dos jeringas de 60 mL para cada reactor, las cuales fueron cubiertas con cinta de embalaje para que las medidas de volumen no se borren por acción del agua. También se realizó un agujero de 5 mm de diámetro en cada jeringa a unos 3 cm de la base para la conexión de la manguera de venoclisis de PVC de 12 cm de largo para lo cual se empleó dos acoples de plástico y silicona para evitar escapes de agua. Para comprobar que no existan fugas en el sistema, la primera jeringa asegurada herméticamente se llenó con agua, cuando se abría la válvula el gas contenido al no ser soluble en agua, empujaba a ésta de forma descendente, circulaba por la manguera y el agua ascendía en la otra jeringa hasta llegar a los 45 a 50 mL, una vez que todo el gas era descargado se cerró la válvula y la circulación del agua se detenía. Si el agua de la segunda jeringa comenzaba a descender y a trasladarse hacia la primera jeringa y quedaban en el mismo volumen en este caso 30 mL, existía fugas o el sistema no estaba bien asegurado, por lo cual debía

ser verificado para que no se generaran problemas al momento de poner en funcionamiento los reactores.



**Figura 7-2:** Sistema de descarga del gas Hidrógeno  
Realizado por: Méndez P, 2020

#### **2.4.6. Ensamblaje de cápsula externa para sensor de gas Hidrógeno**

Se utilizó dos fragmentos de jeringa de 2,8 cm de diámetro y 2,5 cm de largo, en el interior de esta cápsula se colocó el sensor de monitoreo de gas Hidrógeno, el cual fue conectado a 3 cables hembra y macho de 15 cm de largo, donde parte de estos cables salieron a la parte externa de la cápsula mediante un orificio que contenía un tapón de caucho de tubo de ensayo con un fragmento de jeringa en el interior para evitar compresión o ruptura de los cables. Luego la cápsula fue sellada con silicona y cinta aislante, después se conectó en un extremo la manguera de salida de gas Hidrógeno desde la tapa del reactor mediante el uso de una válvula de tres vías, en el otro extremo mediante el uso de otra válvula se conectó otra manguera de 22 cm de largo, la cual se extendía hacia el sistema de descarga del gas.



**Figura 8-2:** Cápsula con sensor externo de Hidrógeno  
Realizado por: Méndez P, 2020

#### 2.4.7. Construcción de soporte para los reactores

Se utilizó 2 metros de canaleta guía blanco de plástico para el armado de un soporte para que las mangueras externas no queden colgadas y exista mayor facilidad de manejo de las válvulas de tres vías, para que los 4 reactores queden separados a una distancia uniforme de 21 cm uno del otro, además se elaboró un soporte para la cápsula externa con el sensor.

Para sellar la conexión de las canaletas se utilizó silicona. También se empleó 1,5 metros de cartón de 3 mm de grosor para las esquinas de unión entre canaletas para evitar que estas se doblaran o despegaran, éstas fueron insertadas con tornillos de 1/8 de pulgada. Para el sistema de descarga del gas también se elaboró soportes de cartón diseñados en Solid Works 2018.



**Figura 9-2:** (a) Soporte de canaleta de plásticos para reactores y soporte de cartón para el sistema de descarga de gas

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Una vez realizado el soporte se procedió a comprobar que no existan fugas en los reactores para lo cual se utilizó una jeringa de 60 mL para ingresar aire en la sección de purgado por 5 veces cerrando todas las válvulas para que no existan escapes del aire atrapado en el reactor. Si no existían fugas, el émbolo de la jeringa se empujaba hacia afuera de la jeringa de forma automática por la fuerza y presión del aire acumulado; mientras que si no sucedía esto, existían fugas para lo cual se colocaba unas gotas de agua en la parte externa de la tapa del reactor y cuando salía pequeñas burbujas al momento de acumular aire en el reactor, se identificaba la zona de fuga y para solucionar esto se empleó parafilm, silicona y pegamento especial para tuberías, con lo cual todo quedaba sellado y se aseguró que los reactores funcionen correctamente para la obtención de resultados fiables.

#### 2.4.8. Colocación de lodos en los reactores

Primero se sometió a los reactores a un proceso de esterilización, para lo cual se empleó una autoclave vertical de la marca ATV600, del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, el mismo que requirió de dos litros de agua destilada y un periodo de tiempo de 2 horas; este proceso se ejecutó con la finalidad de eliminar impurezas y patógenos de otros procesos investigativos realizados en el laboratorio.

Una vez autoclavado los reactores, se los colocó en fundas de cierre hermético para evitar su contaminación y se los guardó en refrigeración hasta que llegue el momento de colocación de los lodos. Posteriormente, el día 27 de noviembre de 2019, se colocó 1 Litro (1000 gramos) de lodos irradiados en cada reactor, esto se realizó en una zona aséptica del GEAA, para lo cual se empleó guantes de látex, mascarilla y mandil.



**Figura 10-2:** (a) Autoclavado de los reactores (b) Colocación de lodos en los reactores

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Una vez colocado los lodos, cada reactor fue cerrado herméticamente mediante el uso de 8 varillas tipo rosca de  $\frac{1}{4}$  de pulgada, en la parte inferior se colocaron tuercas de  $\frac{1}{4}$  de pulgada, mientras que en la parte superior del reactor donde se coloca la tapa, se puso arandelas planas, arandelas de presión y tuercas; las mismas que se ajustó mediante el uso de un trinquete y un alicate. Todos estos accesorios fueron de acero inoxidable para evitar corrosión y garantizar la resistencia de estos.

#### 2.4.9. Preparación de los electrodos para la electrólisis microbiana

**Cátodo:** Se procedió a cortar cuatro fragmentos de 6 cm de largo y 12 cm de ancho de la malla de acero inoxidable número 50 de la marca Acerimallas localizado en Guayaquil en la vía a Daule, estos fragmentos presentaban un grosor de 0,30 mm y un diámetro de 0,19 mm entre cada hilo de la malla; el acero inoxidable al ser un material anticorrosivo y de una excelente conductividad

eléctrica, fue empleado como electrodo cátodo donde se llevó a cabo la producción de biohidrógeno. Para purificar estos materiales, se los puso a remojar en agua destilada por un período de 24 horas en un recipiente de vidrio y posteriormente se procedió a esterilizarlos en la autoclave de la marca All American del GEAA por 45 minutos a 120 °C (Marone et al., 2017:pp.1-13), luego se tejió el alambre de níquel-titanio de 15 cm de largo en la malla para conectarlos con los cables de la tapa del reactor.

**Ánodo:** Se cortó cuatro fragmentos de 6 cm de ancho por 12 cm de largo de una malla de fibra de carbono de la marca Zoltek que poseía un grosor de 0.01 pulgadas. Para mejorar la capacidad de formación de biofilm en este electrodo se aplicó el mismo pre-tratamiento que en el cátodo. Posterior a esto se adicionó una solución de Epoxi clear para pegar los filamentos de la fibra dándole uniformidad y evitando de esta forma que se desintegre o se salgan los hilos debido a que es un material muy maleable. Luego se tejió el alambre de níquel-titanio de 15 cm de largo y 1 mm de diámetro.



**Figura 11-2:** (a) Materiales usados para los electrodos (b) Electrodos sumergidos en agua destilada

Realizado por: Méndez P, 2020

Cabe mencionar, que tanto los electrodos cátodos y ánodos fueron sumergidos por un periodo de 24 horas en una solución de acetato de sodio (15.2 g/L) para mejorar la capacidad de asimilación de sustrato por parte de los microorganismos en el ánodo y se libere más electrones y con ello en el cátodo se mejore la producción de biohidrógeno (Xue et al., 2019:pp.1-7).



**Figura 12-2:** (a) Autoclavado de los electrodos (b) Electrodos sumergidos en solución de acetato de sodio

Realizado por: Méndez P, 2020

#### **2.4.10. Distribución de procesos en los reactores**

Para comprobar la hipótesis de incrementar la producción de biohidrógeno mediante el proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana a partir de lodos residuales irradiados a 350 Gy, se emplearon 4 muestras de lodos donde se llevó a cabo primero un pretratamiento de fermentación oscura (FO) en los 4 reactores por tiempos cortos (10 y 11 días) y largos (21 días), y después se sometieron a electrólisis microbiana (EM) con los mismos períodos de tiempo, con un tiempo total de experimentación de 42 días. El diseño experimental descrito anteriormente se representa en la tabla 2-2:

**Tabla 2-2:** Diseño experimental de FO y EM

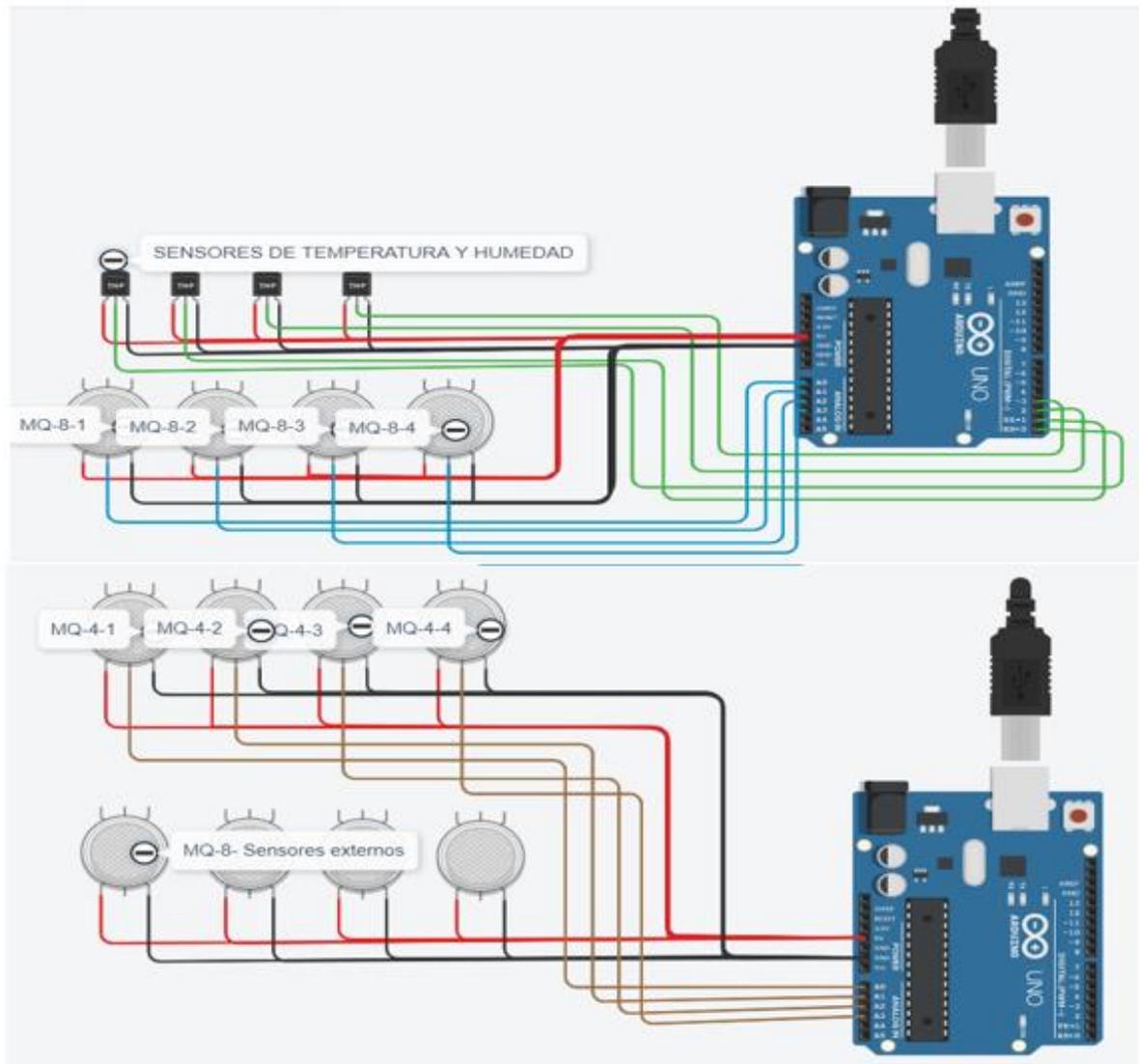
<b>Tiempo(días)</b>	<b>Reactor 1</b>	<b>Reactor 2</b>	<b>Reactor 3</b>	<b>Reactor 4</b>
<b>10</b>	FO-350 Gy	FO-350 Gy	FO-350 Gy	FO-350 Gy
<b>11</b>	FO-350 Gy	FO-350 Gy	EM-350 Gy	EM-350 Gy
<b>10</b>	EM-350 Gy	EM-350 Gy	FO-350 Gy	FO-350 Gy
<b>11</b>	EM-350 Gy	EM-350 Gy	EM-350 Gy	EM-350 Gy

Realizado por: Méndez P, 2020

Cabe recalcar que en el proceso de fermentación oscura se utilizó el pretratamiento que permitió que la carga microbiana se adapte a los parámetros que presentaba el medio y su masa aumentó, y con ello fueron capaces de asimilar el sustrato utilizado (Khongkliang et al., 2019: pp.1-10); posterior a ello se aplicó la electrólisis microbiana donde se llevó a cabo la producción de biohidrógeno. Una vez que finalizó el pretratamiento se desconectan los reactores del soporte y en presencia de un mechero y limpiando el mesón con alcohol se procedió a colocar y conectar los electrodos.

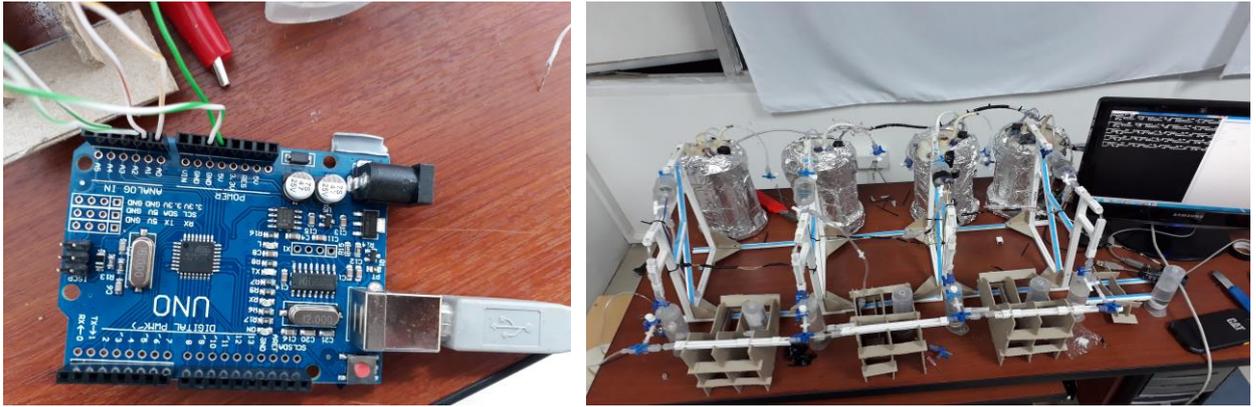
#### **2.4.11. Configuración del sistema para procesamiento de datos**

Se empleó 1.5 metros de cable de red UTP, y a parte se cortó tres fragmentos de cable UTP de 10 cm de largo, los extremos se pelaron y se poncharon a 4 conectores hembra RJ45. Los cables positivo y negativo, de hidrógeno, temperatura y humedad de los cuatro reactores fueron conectados al cable de red principal mediante el uso de un cautín y crema para soldar, posteriormente se procedió a extender todos los cables hacia la placa Microprocesadora ARDUINO UNO. Mientras que los cables del sensor externo y de Metano también fueron extendidos hacia otra placa ARDUINO, a la vez estos cables fueron sujetos al soporte de los reactores mediante el uso de amarras de plástico. Para evitar que los cables queden dispersos y se desconecten se empleó una cinta aislante para juntarlos.



**Figura 13-2:** Esquema de circuito electrónico de conexión de sensores a la placa Arduino UNO  
**Realizado por:** Méndez P, 2020

Una vez realizadas estas conexiones, se procedió a comprobar el funcionamiento de los sensores, conectando todos los reactores al Arduino y utilizando un cable de datos USB desde el Arduino a la unidad de procesamiento de información CPU de una computadora de escritorio, donde se ejecutaba el Software LABVIEW y el Software Arduino Uno, a éste último se lo configuraba para la lectura de datos cada minuto para los sensores internos, mientras que para el sensor externo se lo configuró cada 5 segundos cuando el gas se descargaba, si uno de los sensores no funcionaba, en la base de datos aparecía “nan”, y para la corrección de este error se chequeó las conexiones para que no se generaran problemas durante el proceso. Los datos se almacenaban automáticamente en un bloc de notas con fecha y hora.



**Figura 14-2:** (a)Placa Arduino UNO para procesamiento de datos (b) Sistema de reactores conectados a la computadora y lectura de datos

Realizado por: Méndez P, 2020

Los sensores producían señales en términos de voltaje que varía entre 0 – 5 V (se toma como dato de referencia 5V), los cuales se medían mediante las entradas analógicas del Arduino, los cuales se transforman en datos digitales que están entre 0 y 1023 con una capacidad de 10 bits, una resolución de 4.9 milivoltios (mV). A continuación, se presenta la ecuación empleada para determinar la señal de salida de la placa microcontroladora:

$$\text{Señal de salida del sensor(Voltios)} = \text{Valor analógico del arduino} * \frac{\text{Voltaje del circuito(5V)}}{1023}$$

**Ecuación 1-2:** Señal de salida del sensor

Fuente: (Kalra et al.,2016:p.426)

#### 2.4.12. Descripción técnica de sensores electrónicos MQ-4, MQ-8 y DHT11

##### 2.4.12.1. Sensor MQ-4

Es un sensor semiconductor que es sensible gas Metano (CH<sub>4</sub>), es muy resistente y duradero debido al material de acero inoxidable con el que está compuesto. Posee baja sensibilidad a soluciones alcohólicas y al humo. El Óxido de Estaño (SnO<sub>2</sub>) es el material que compone al sensor, cuya conductividad es pequeña cuando está en presencia de aire limpio y si por este medio circula un gas inflamable(metano), se incrementa la conductividad del sensor y simultáneamente se eleva la concentración del gas (Hanwei Electronics, 2015, pp.1-2a). En la tabla 3-2 se presentan las características de funcionamiento de este sensor:

**Tabla 3-2:** Características de funcionamiento del sensor MQ-4

<b>Parámetros de operación estándar</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Vc: Voltaje del circuito	5V±0,1 Corriente continua (DC) o Alterna (AC)
Vh: Voltaje de calentador	5V±0,1 AC o DC
Rl: Resistencia de funcionamiento o carga	20KΩ
Rh: Resistencia de calentador	33 Ω ±5%
Ph: Potencia de calentamiento	Menos de 750mw
<b>Condiciones Ambientales</b>	
Tao: Temperatura externa	-10 a -50 °C
Tas: Temperatura interna	-20 a -70 °C
RH: Humedad relativa	Menos de 95%
O <sub>2</sub> : Oxígeno	21% (Valor mínimo de 2%)
<b>Condiciones de sensibilidad</b>	
Rs: Resistencia de sensibilidad	10KΩ-60KΩ (1000 ppm CH <sub>4</sub> )
α (1000 /5000 pp CH <sub>4</sub> ): Tasa de concentración	≤ 0,6
Rango de detección de concentración	200 – 10000 ppm
Parámetros de detección estándar	Temperatura: 20 ± 2°C Humedad: 65 ± 5 %
Tiempo de precalentamiento	Mayor a 24 horas

Fuente: (Hanwei Electronics, 2015, pp.1-2a)

#### 2.4.12.2. Sensor MQ-8

Es un semiconductor que es sensible al gas Hidrógeno (H<sub>2</sub>), es muy económico, resistente y duradero debido al material de acero inoxidable con el que está compuesto. Posee baja sensibilidad al Gas Licuado de Petróleo y al alcohol (Hanwei Electronics,2015,pp.1-2b). En la tabla 4-2 se presentan las características de funcionamiento de este sensor:

**Tabla 4-2:** Características de funcionamiento del sensor MQ-8

<b>Parámetros de operación estándar</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Vc: Voltaje del circuito	5V±0,1 Corriente continua (DC) o Alterna (AC)
Vh: Voltaje de calentador	5V±0,1 AC o DC
Rl: Resistencia de funcionamiento o carga	10KΩ

Rh: Resistencia de calentador	31 $\Omega$ $\pm$ 5%
Ph: Potencia de calentamiento	Menos de 800mw
<b>Condiciones Ambientales</b>	
Tao: Temperatura externa	-10 a -50 °C
Tas: Temperatura interna	-20 a -70 °C
RH: Humedad relativa	Menos de 95%
O <sub>2</sub> : Oxígeno	21% (Valor mínimo de 2%)
<b>Condiciones de sensibilidad</b>	
Rs: Resistencia de sensibilidad	10K $\Omega$ -60K $\Omega$ (1000 ppm H <sub>2</sub> )
$\alpha$ (1000 /5000 pp CH <sub>4</sub> ): Tasa de concentración	$\leq$ 0,6
Rango de detección de concentración	100 – 10000 ppm
Parámetros de detección estándar	Temperatura: 20 $\pm$ 2°C Humedad: 65 $\pm$ 5 %
Tiempo de precalentamiento	Mayor a 24 horas

Fuente: (Hanwei Electronics,2015,pp.1-2b)

#### 2.4.12.3. Sensor DHT11

Es un sensor preciso, pequeño, muy resistente, estable y económico. Además, se lleva a cabo la medición de temperatura de rango completo y humedad relativa, la señal digital transmitida se calibra mediante un microchip interno y no requiere de elementos adicionales para su funcionamiento. No necesita de grandes gastos energéticos y posee cuatro pines agrupados e intercambiados entre sí por lo que la conexión es fácil y conveniente. Los valores digitales generados son procesados bajo una resolución de 8 Bits, donde el coeficiente de calibración se almacena en una memoria OTP (Aosong Electronics Co,2017,pp.1-6). En la tabla 5-2 se presentan las características de funcionamiento de este sensor:

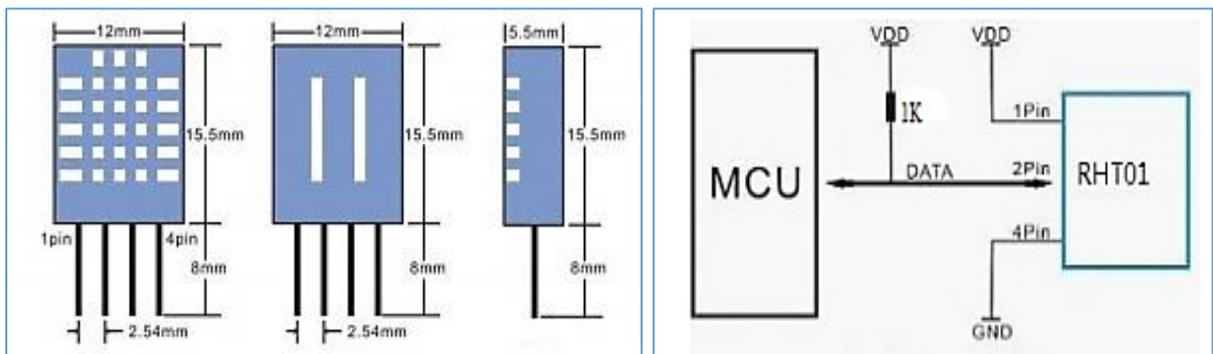
**Tabla 5-2:** Características de funcionamiento del sensor DHT11

<b>Parámetros de operación</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Fuente de alimentación	3,3 – 5,5 V DC
Elemento de sensibilidad	Polímero de humedad
Rango de detección	Humedad: 20-90 % Temperatura: 0 – 50 °C
Precisión	Humedad: $\pm$ 5% Temperatura: $\pm$ 2°C

Sensibilidad	Humedad: 1% Temperatura: 1°C
Repetibilidad	Humedad: ± 2% Temperatura: ± 1°C
Máxima estabilidad	± 1 % por un año
Tiempo de respuesta para lectura de datos	6 – 30 segundos

Fuente: (Aosong Electronics Co, 2017,pp.1-6)

A continuación, se presenta las dimensiones que presenta el sensor DHT11, junto con su configuración electrónica:



**Figura 15-2:** (a) Dimensiones del sensor DHT11 (b) Configuración electrónica del sensor DHT11

Fuente: (Aosong Electronics Co, 2017,pp.1-6)

El sensor se conecta a un microprocesador y éste lee varios datos, por ejemplo:

*Datos:* Datos de Humedad Relativa (HR) de 16 bits + Datos de Temperatura(T) de 16 bits + Suma de datos de verificación de 8 bits (Aosong Electronics Co, 2017,pp.1-6). En total el microprocesador ha recibido 40 datos desde el sensor, y se configuran de la siguiente manera:

**Tabla 6-2:** Procesamiento de datos de DHT11

0010 0001	0000 0000	0001 1010	0000 0000	0011 1011
Integral de HR	Parte decimal de HR	Integral de temperatura	Parte decimal de temperatura	Suma de verificación
Nota: La parte decimal de T y HR siempre será 0000 0000				
Luego se transforma el integral de HR y T desde un sistema binario a un sistema decimal				
0010 0001	→	33		
Sistema binario		Sistema decimal		HR = 33%
0001 1010	→	26		
Sistema binario		Sistema decimal		T= 26 °C

Fuente: (Aosong Electronics Co, 2017,pp.1-6)

Al momento en que el microprocesador envía la señal de inicio, el sensor comienza a ejecutarse y envía una señal de respuesta de datos de 40 bits que son de HR y T. El microprocesador extraerá un conjunto de datos que debe durar de 1 a 10 milisegundos para que de esta forma el sensor pueda detectar la señal, para que luego el microprocesador se detenga y espere la respuesta del sensor de 20 a 40 microsegundos. Posteriormente el microprocesador envía los datos transformados a HR y T (Aosong Electronics Co, 2017,pp.1-6).

#### 2.4.12.4. Placa Arduino UNO

Es una placa microcontroladora que posee catorce pines digitales de entrada y salida, una conexión USB, un conector de alimentación y un botón de reinicio. Esta placa no necesita chip de controlador USB a serie FTDI ya que la conexión Atmega328 está programado como un convertidor de USB a serie y se puede conectar de forma directa a un dispositivo electrónico como el CPU de un monitor, donde se procesan los datos mediante el Software de Arduino Uno (Radiospares, 2016,pp.1-8). A continuación, se detallan varias características de Arduino UNO:

**Tabla 7-2:** Características técnicas de la placa Arduino UNO

Microcontrolador	ATmega328
Voltaje de operación	5 voltios
Voltaje de entrada	7-12 V(recomendable)
Pines Digitales	14
Pines de entrada analógicos	6
Corriente continua por pin de 1 a 3.3. V	40 a 50 miliAmperios(mA)
Capacidad de memoria	32 KB del cual 0.5 KB es usado para el gestor de arranque
Memoria RAM	2 KB
Velocidad de arranque	16 MHz

Fuente: (Radiospares, 2016,pp.1-8)

#### 2.4.13. Precisión de sensores MQ

Los sensores electrónicos como MQ-4 y MQ-8, que detectan determinados gases, necesitan de una precisión regular para poder distinguir los cambios en su respuesta y con ello asegurar su correcto funcionamiento. Las alteraciones en la señal instrumental del sensor pueden ser debido a cambios en las condiciones ambientales, la composición de las muestras medidas o las características del dispositivo. Este último es fundamental para los sensores que son propensos a un cambio gradual de sus propiedades durante su utilización. Por lo tanto, es necesario emplear modelos de calibración multivariados como las curvas de calibración en base a los datos obtenidos

para interpretar sus respuestas y relacionarlas con la concentración o el parámetro de interés (Rudnitskaya, 2018).

En el caso de este trabajo de investigación, para poder corregir y precisar los datos obtenidos por los sensores, se procedió a realizar una revisión bibliográfica para determinar sus respectivas variables de funcionamiento y con ello fue posible calcular la concentración de los gases Hidrógeno y Metano en unidades de ppm, mediante una transformación de datos relacionando resistencias y valores digitales generados en el Arduino Uno. Para ello, fue necesario tener como base valores empíricos derivados del datasheet de la marca del fabricante de cada sensor, los mismos que son expresados por la relación  $\frac{R_s}{R_o}$ , que representa la resistencia generada por el sensor en base a la cantidad de gases presentes en el medio con relación a las condiciones estándar, cuando no existen gases en el medio estudiado (Hanwei Electronics,2015,pp.1-2a) (Hanwei Electronics,2015,pp.1-2b).

Con ello, se graficaron mediante un programa estadístico, las curvas de calibración de los sensores tanto para Metano como para Hidrógeno, para posteriormente, mediante un análisis de regresión potencial determinar las ecuaciones de detección de concentración de gases y el nivel de validez de este modelo a través de una correlación matemática  $R^2$ , que va de 0 a 1, donde si se aproxima más a 1, el modelo será confiable.

#### ***2.4.14. Ejecución de los procesos FO Y EM***

La comprobación del correcto funcionamiento del sistema de producción de gas con los lodos comenzó el día 27 de noviembre de 2019, mientras que el inicio del monitoreo del proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana se llevó a cabo el día 29 de noviembre de 2019. Para el proceso de fermentación oscura se utilizó papel aluminio para cubrir los reactores de la influencia directa de la luz solar.



**Figura 16-2:** Reactores protegidos con papel aluminio y conectados a la placa ARDUINO UNO

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Además, para adaptar a los reactores a las condiciones anaeróbicas necesarias, en cada etapa del proceso se los purgó utilizando Nitrógeno contenido en una bomba obtenida de una vulcanizadora con una pureza del 98.7% (Recalde et al., 2018: pp.2-12), también se purgaron las cápsulas con los sensores externos. Para el proceso de electrólisis microbiana se empleó un voltaje de 1,1 Voltios conectado a una fuente de alimentación externa, debido a que es considerada como óptima para aumentar el rendimiento de obtención de Bio-H<sub>2</sub>, según una investigación anterior realizada por Khongkliang et al., (2017: pp.1-9); para comprobar su funcionamiento se utilizó un multímetro de la marca DT9205A, el cual generaba un leve sonido cuando existía flujo de corriente, caso contrario se debía chequear que los cables estén conectados correctamente.



**Figura 17-2:** (a) Purgado de reactores con Nitrógeno (b) Purgado de la cápsula externa

**Realizado por:** Paulina Méndez, 2020

Para determinar la cantidad de hidrógeno y metano producido y la temperatura y humedad interna de cada reactor se emplearon sensores electrónicos que son económicos y fáciles de conseguir, a diferencia de otros procesos como la cromatografía de gases que requiere de reactivos lo que aumenta los costes del proceso, generan reacciones secundarias y se necesita de otras técnicas adicionales para extraer el gas Hidrógeno.

Una vez finalizado el proceso de monitoreo, se desconectaron los sensores del Arduino y del Monitor, y posteriormente se sacaron las muestras de lodos tratadas de los 4 reactores y se procedió a pesar en el Laboratorio de Análisis Clínicos para la realización de un balance de masas. Después se colocaron en recipientes de vidrio de 500 mililitros y un frasco estéril de polietileno para luego enviarlas al laboratorio para su respectivo análisis.

## 2.5. Establecimiento de variables independientes y dependientes

**Tabla 8-2:** Definición de variables independientes y variable dependiente

<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>			
<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>
Tiempo aplicado (vida de los microorganismos) para el sistema integrado de producción	Configuraciones iniciales de los reactores y electrodos de electrólisis microbiana, que pueden influir antes y después de aplicarse el proceso integrado para la obtención de biohidrógeno. Se refiere al tiempo que emplean los microorganismos para adaptarse al medio mediante un conjunto de reacciones para producir el gas de interés en base a ciertas condiciones como humedad y temperatura.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Procedimiento para la esterilización.</li> <li>- Conexión del proceso (serie, paralelo, mixto e independiente)</li> <li>- Voltaje a aplicarse en el proceso de electrólisis microbiana.</li> <li>- Configuración e implementación informática para monitoreo.</li> <li>- 21 días se usaron para fermentación oscura y 21 días para electrólisis microbiana en el reactor 1 y 2</li> <li>- 10 días se emplearon para fermentación oscura y 11 días para electrólisis microbiana en el reactor 3 y 4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reactores de fermentación oscura.</li> <li>- Electrodos de fibra de carbono y malla de acero inoxidable para electrolisis microbiana</li> <li>- DAQ</li> <li>- Software</li> <li>- Sensores</li> </ul>
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>			
Cantidad de biohidrógeno	Cantidad de biogás generado después del proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Volumen(mL)</li> <li>- Concentración (ppm)</li> </ul>	Sensores electrónicos

Realizado por: Méndez P, 2020

## 2.6. Formulación de la hipótesis

A mayor tiempo aplicado (crecimiento de los microorganismos) en el proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana mayor producción de biohidrógeno.

### 2.6.1. Hipótesis nula

Ho:  $\mu_{FO-EM-21 \text{ días por proceso}} > \mu_{FO-EM-10 \text{ y } 11 \text{ días por proceso alternado}}$

### 2.6.2. Hipótesis alternativa

Ha:  $\mu_{FO-EM-21 \text{ días por proceso}} \leq \mu_{FO-EM-10 \text{ y } 11 \text{ días por proceso alternado}}$

Cabe recalcar que en los 4 reactores se aplicaron fermentación oscura y electrólisis microbiana. En el reactor 1 se emplearon 21 días para FO y 21 días para EM; mientras que el reactor 2 es la repetición de R1. En el reactor 3 se emplearon 10 días para FO y 11 días para EM de forma alternada, mientras que en el reactor 4 es la repetición de R3. Posteriormente se verificó mediante el software estadístico SPSS Statistic, la igualdad estadística entre los dos reactores de cada proceso y luego se realizó un promedio de todos los datos y se obtuvo una media general de Hidrógeno y Metano por proceso.

### **2.6.3. Nivel de significancia**

$$\alpha = 0.05$$

### **2.6.4. Prueba estadística**

Se empleó estadística descriptiva y Test de Normalidad

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 3.1. Análisis físicos, químicos y microbiológicos de las muestras de lodos

Es importante mencionar que el color que presentaban las muestras de los lodos fue marrón claro, además cada una de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de estas muestras son afectadas debido a la acción climática del lugar, a la materia orgánica y a los metales pesados contenido en los mismos, producto de las descargas provenientes de la actividad minera. También tuvo influencia la parte experimental como irradiación, fermentación oscura y electrólisis microbiana a las que fueron sometidas las muestras.

A continuación, se muestran los resultados analíticos de las muestras de lodos realizados in-situ y por el laboratorio LABCESTTA (Anexo B, C y D):

**Tabla 1-3:** Resultados analíticos de muestras antes de ser irradiados

<b>Físico-químicos y Químicos</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>Incertidumbre (k = 2)</b>	<b>Método/Norma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Límite Permisible</b>
pH	-	±0.1 %	HI 98127	8.27	-
Conductividad	µS/cm	±0.5 %	Estándar	103.4	-
Salinidad	Ppm	±0.5 %	Estándar	0.0	-
Temperatura	°C	±0.1 %	Estándar	23.7	-
Sólidos Totales Disueltos	mg/L	±7 %	PE/AL/07 Standard Methods Ed. 23. 2017 5220D	20908	-
DQO	mg/L	±11 %	PE/AL/05 Standard Methods Ed. 23. 2017 2540B	404	-
Materia Orgánica	mg/kg	-	PE/AL/49 NEN 5754 2005	20.54	-
Fósforo Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017 APHA 4500-P B8 PHA 4500-P C	< 0.05	-
Nitrógeno Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017, 4500- N org C	14.62	-
<b>Microbiológicos</b>					

Coliformes fecales	NMP/g	-	AOAC 991.14	110	-
<i>Enterobacter</i>	UFC/g	-	Recuento en placa	1200	-

Fuente: LABCESTTA S.A, 2019

Realizado por: Méndez P, 2020

**Tabla 2-3:** Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 21 días por proceso)

<b>Físico-químicos y Químicos</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>Incertidumbre (k = 2)</b>	<b>Método/Norma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Límite Permisible</b>
pH	-	±0.1 %	HI 98127	5.33	-
Conductividad	µS/cm	±0.5 %	Estándar	98.5	-
Salinidad	ppm	±0.5 %	Estándar	0.0	-
Temperatura	°C	±0.1 %	Estándar	26.3	-
Sólidos Totales Disueltos	mg/L	±7 %	PE/AL/07 Standard Methods Ed. 23. 2017 5220D	12980	-
DQO	mg/L	±11 %	PE/AL/05 Standard Methods Ed. 23. 2017 2540B	383	-
Materia Orgánica	mg/kg	-	PE/AL/49 NEN 5754 2005	7.53	-
Fósforo Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017 APHA 4500-P B8 PHA 4500-P C	< 0.05	-
Nitrógeno Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017, 4500-N org C	7.52	-
<b>Microbiológicos</b>					
Coliformes fecales	NMP/g	-	AOAC 991.14	103	-
<i>Enterobacter</i>	UFC/g	-	Recuento en placa	540	-

Fuente: LABCESTTA S.A, 2020

Realizado por: Méndez P, 2020

**Tabla 3-3:** Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 10 y 11 días por proceso)

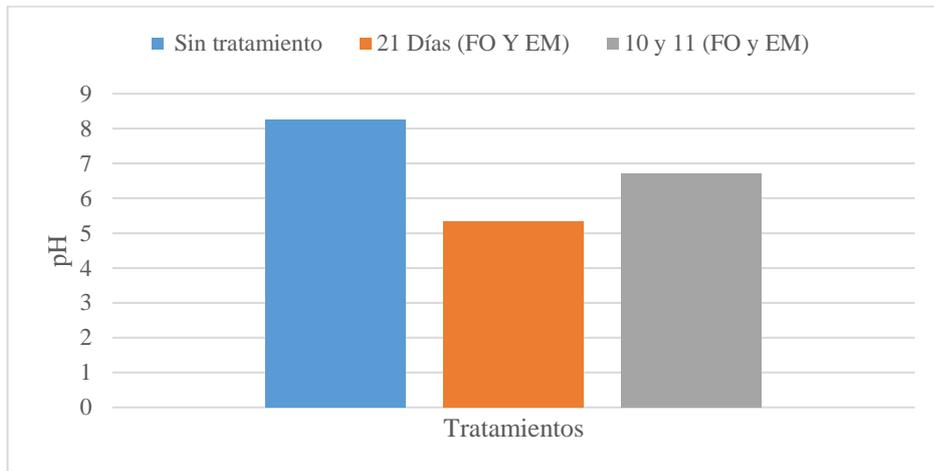
<b>Físico-químicos y Químicos</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>Incertidumbre (k = 2)</b>	<b>Método/Norma</b>	<b>Resultado</b>	<b>Límite Permisible</b>
pH	-	±0.1 %	HI 98127	6.72	-
Conductividad	µS/cm	±0.5 %	Estándar	100.2	-
Salinidad	ppm	±0.5 %	Estándar	0.0	-
Temperatura	°C	±0.1 %	Estándar	25.9	-
Sólidos Totales Disueltos	mg/L	±7 %	PE/AL/07 Standard Methods Ed. 23. 2017 5220D	17885	-
DQO	mg/L	±11 %	PE/AL/05 Standard Methods Ed. 23. 2017 2540B	391	-
Materia Orgánica	mg/kg	-	PE/AL/49 NEN 5754 2005	9.31	-
Fósforo Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017 APHA 4500-P B8 PHA 4500-P C	< 0.05	-
Nitrógeno Total	mg/kg	-	Standard Methods Ed. 23. 2017, 4500-N org C	11.08	-
<b>Microbiológicos</b>					
Coliformes fecales	NMP/g	-	AOAC 991.14	107	-
<i>Enterobacter</i>	UFC/g	-	Recuento en placa	674	-

Fuente: LABCESTTA S.A, 2020

Realizado por: Méndez P, 2020

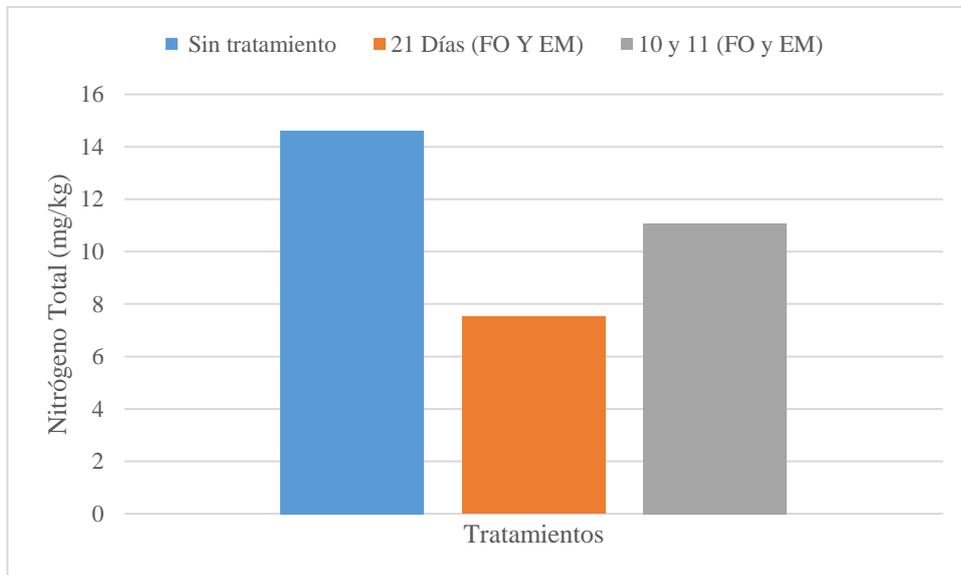
Como se puede evidenciar en la tabla 1-3, en la muestra de lodo sin tratar, el valor del pH tiende ser ligeramente alcalino debido a que existía una gran cantidad de minerales como Nitrógeno, iones, y sustratos, además la cantidad de microorganismos presentes en este medio es abundante debido a que se encontraban a temperatura ambiente y existía suficiente materia orgánica para su desarrollo; el valor de la salinidad fue nulo debido a que la muestra fue extraída de un cuerpo de agua dulce. Una vez aplicado el proceso de fermentación oscura y electrólisis microbiana, se puede evidenciar que en las tablas 2-3 y 3-3, la mayoría de los parámetros analizados disminuyeron, tanto pH debido a que los sustratos del lodo fueron desintegrados a elementos de menor peso molecular con lo cual se iban liberando iones Hidrógeno; sin embargo en la muestra

donde se aplicó FO y EM por 21 días para cada proceso, se observó que existió una disminución significativa de los parámetros debido a que se presencié una mayor incidencia de la acción microbiana, en comparación con las muestras donde se aplicó periodos cortos por proceso. A continuación, se presentan gráficas del comportamiento de los parámetros mencionados en cada proceso:



**Gráfico 1-3:** Efecto del tratamiento sobre el pH

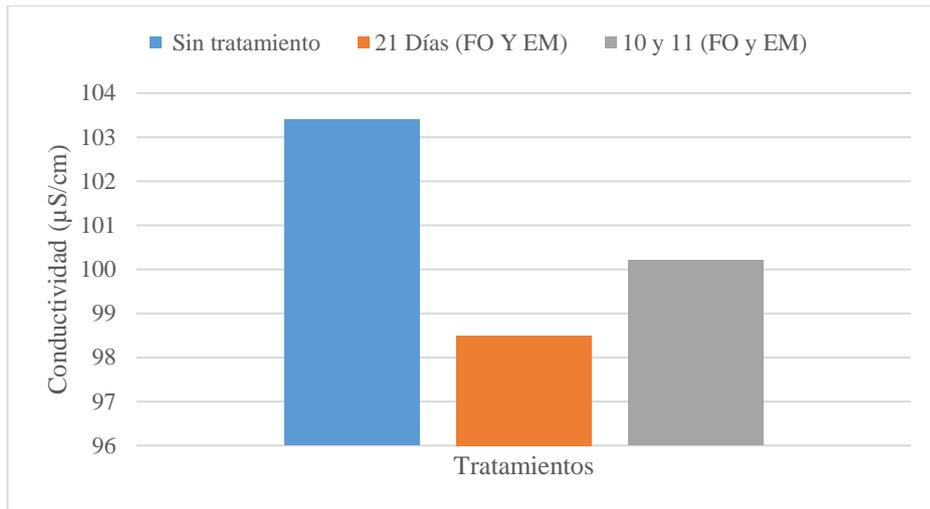
Realizado por: Méndez P, 2020



**Gráfico 2-3:** Efecto del tratamiento sobre el Nitrógeno Total

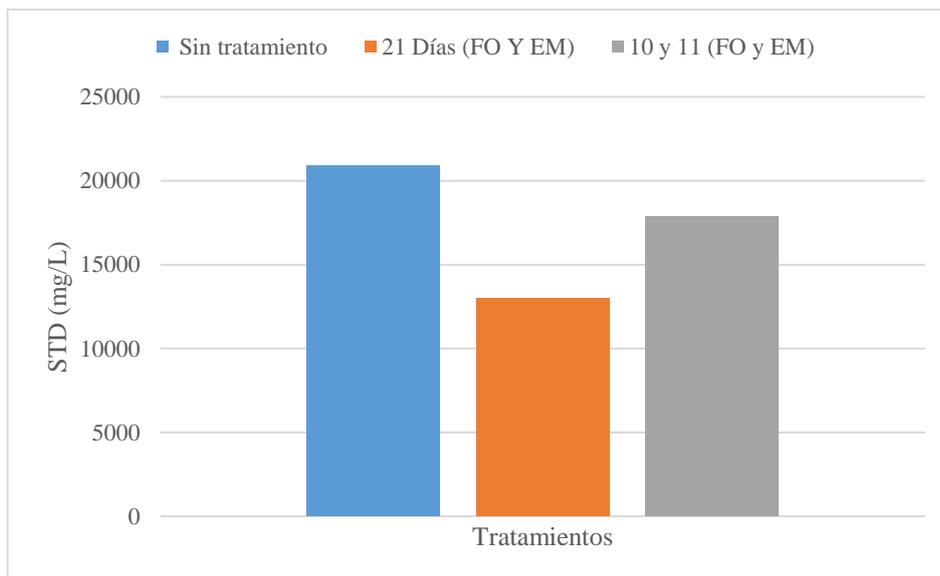
Realizado por: Méndez P, 2020

La conductividad (cantidad de nutrientes disueltos en los lodos) y sólidos totales (materia orgánica) fueron aprovechados por los microorganismos para su adaptación y crecimiento adentro del reactor al igual que para la producción de gas deseado que en este caso fue el Hidrógeno.



**Gráfico 3-3:** Efecto del tratamiento sobre la conductividad

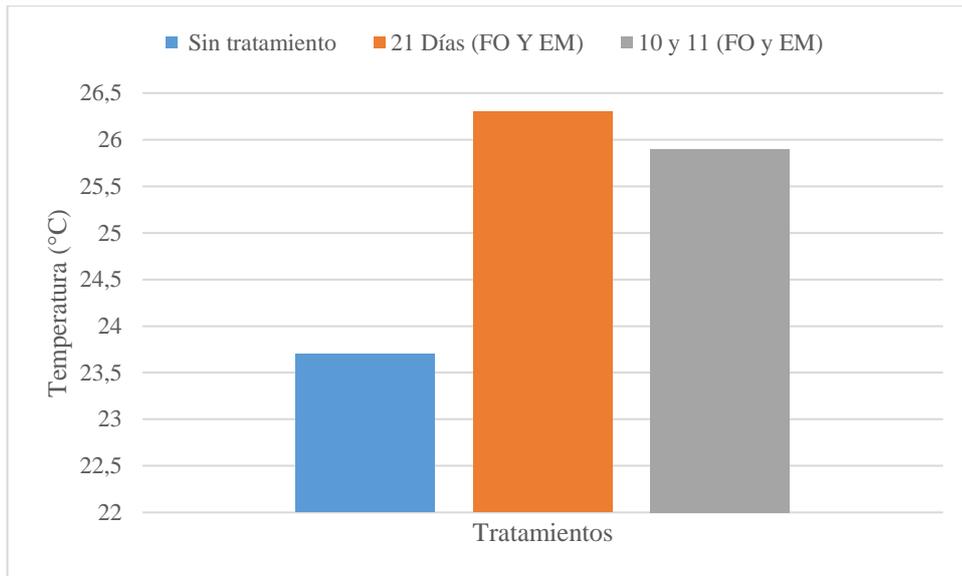
Realizado por: Méndez P, 2020



**Gráfico 4-3:** Efecto del tratamiento sobre los Sólidos Totales Disueltos

Realizado por: Méndez P, 2020

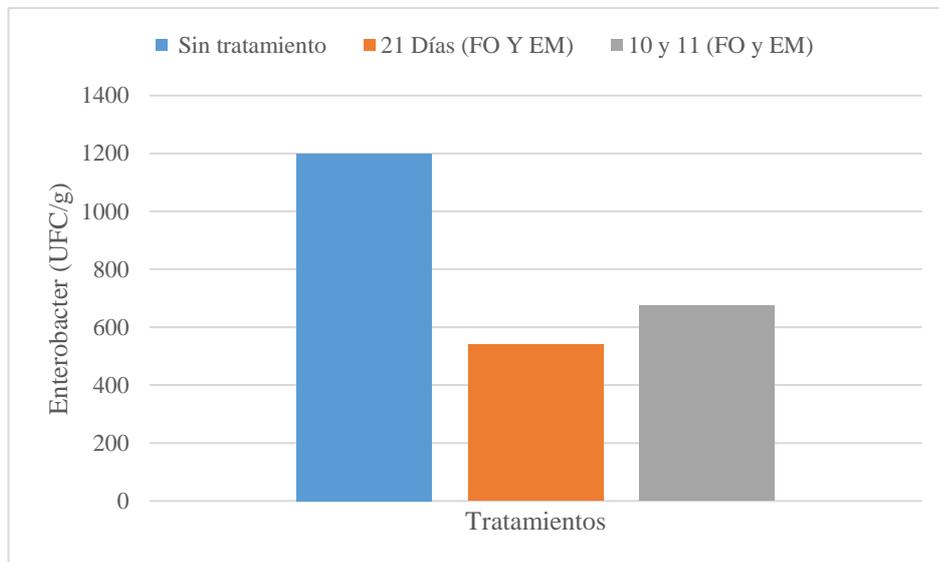
La temperatura aumentó debido a que los microorganismos produjeron varias reacciones químicas para el metabolismo y consumo de los sustratos presentes en el lodo, con ello se evidenció que la materia orgánica y los minerales disminuyeron.



**Gráfico 5-3:** Efecto del tratamiento sobre la temperatura

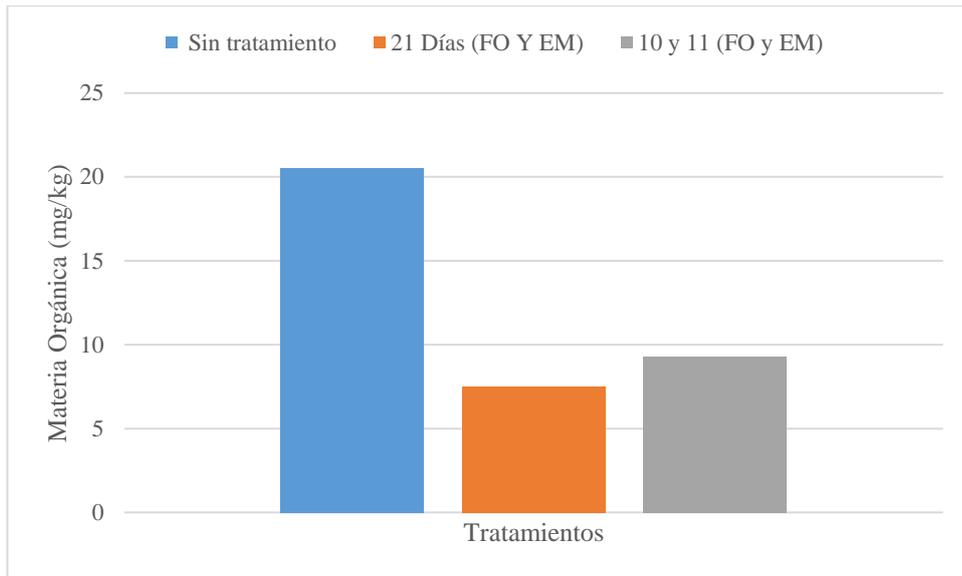
Realizado por: Méndez P, 2020

Cuando el proceso integrado finalizó, la cantidad de microorganismos productores de Hidrógeno se redujo debido al agotamiento de alimento (materia orgánica), micronutrientes (Fósforo y Nitrógeno) y a que las condiciones del medio donde se desarrollaron ya no eran óptimas.



**Gráfico 6-3:** Efecto del tratamiento sobre *Enterobacter*

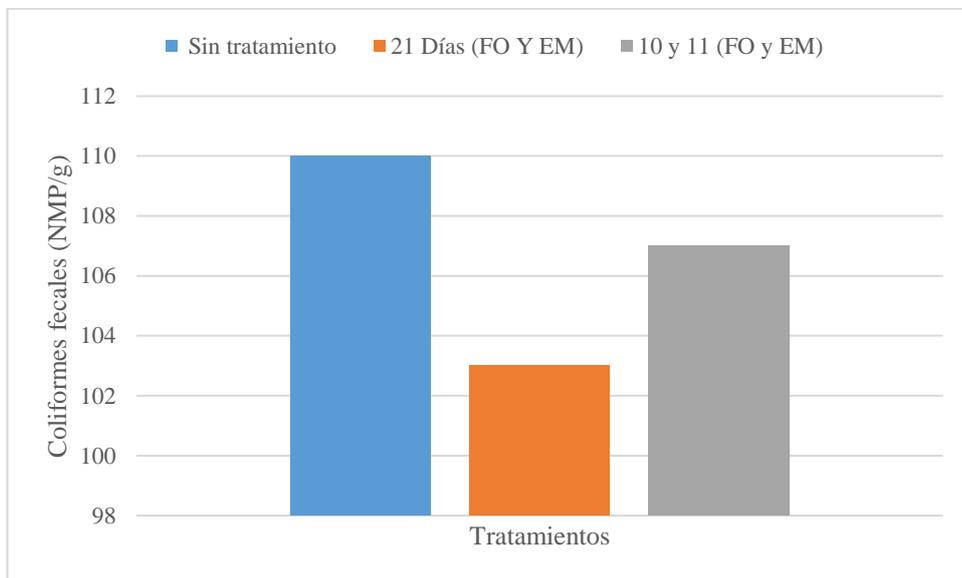
Realizado por: Méndez P, 2020



**Gráfico 7-3:** Efecto del tratamiento sobre la Materia Orgánica

Realizado por: Méndez P, 2020

Sin embargo, la cantidad de coliformes fecales no disminuyó significativamente, lo que podría indicar que se pueden adaptar a varias condiciones del medio inclusive a la irradiación, y por ende son ideales para producir biogás sin necesidad de realizar ninguna inoculación para su multiplicación.

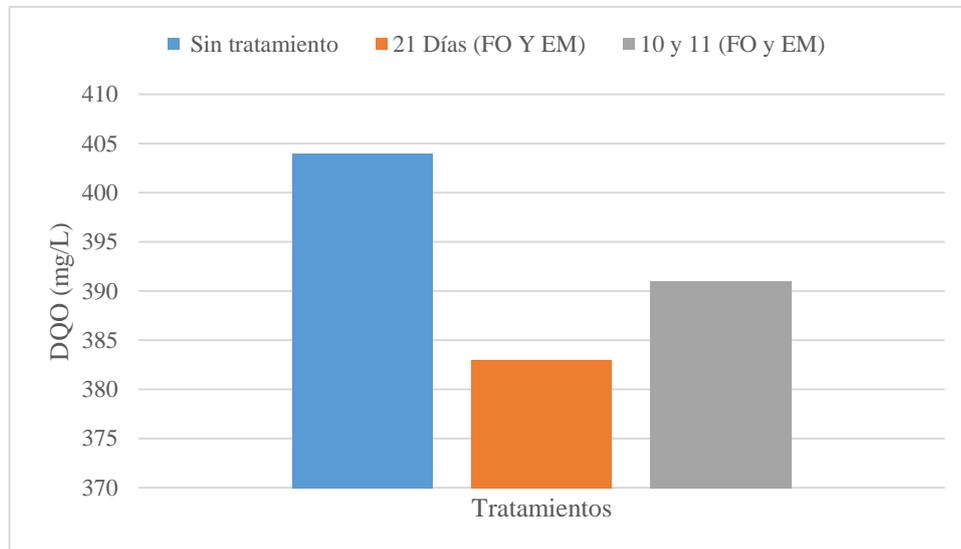


**Gráfico 8-3:** Efecto del tratamiento sobre Coliformes Fecales

Realizado por: Méndez P, 2020

La cantidad de DQO disminuyó, debido a la radiación aplicada a los lodos, donde se desintegraron la mayor parte de compuestos inorgánicos y orgánicos contaminantes y ayudan a que las

moléculas de sustrato sean más accesibles para los microorganismos. Además según, Marone et al., (2017: pp.1-13), para considerarse que el proceso sea efectivo la cantidad de DQO debe eliminarse en un 5% a 6% ; en este caso disminuyó de 404 mg/L a 383 mg/L (proceso de 21 días) y a 391 mg/L (10 y 11 días).



**Gráfico 8-3:** Efecto del tratamiento sobre Demanda Química de Oxígeno

Realizado por: Méndez P, 2020

En el caso de la muestra donde se aplicó el proceso integrado por periodo de 21 días, se observó que los parámetros se redujeron más que en la muestra donde se aplicó el proceso integrado por periodo de 10 días, esto debido a que en el segundo caso pudo existir contaminación debido a que cada cierto tiempo los reactores se desconectaban y se abrían para introducir y desconectar los electrodos, lo que no sucedía con el primer caso ya que el proceso fue continuo.

### 3.2. Adaptación de los equipos al medio de experimentación

A los reactores se los adaptó a las condiciones del medio mediante el autoclavado y purgado, donde se verificó que no exista aire, mediante la técnica del movimiento del émbolo de una jeringa. Mientras que a los electrodos también se los autoclavó y se los purificó con agua destilada, además de sumergirlos en una solución de acetato de sodio. Al sistema de descarga y recolección del gas también se los purgó y se constató que no existan fugas en el proceso mediante el desplazamiento de líquido en la jeringa y con ello se pudo medir el volumen de gas generado. Una vez acoplado todos estos tres sistemas, se conectaron los sensores encargados de la medición de los gases en unidades de concentración, para lo cual se necesitó calibrarlos para que exista precisión en los resultados y se obtuvieron las siguientes curvas de precisión:

### 3.2.1. Curva de calibración del sensor electrónico MQ-4 sensible al gas CH<sub>4</sub>

En la tabla 1-3, se especifican la relación de las resistencias y concentraciones empíricas para la detección del gas metano (CH<sub>4</sub>):

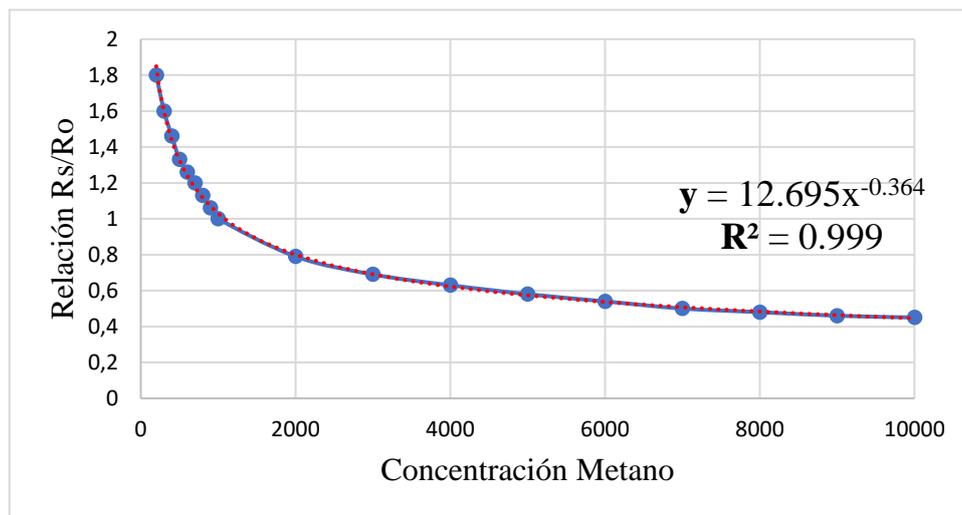
**Tabla 4-3:** Relación Rs/Ro versus la concentración de CH<sub>4</sub>

$\frac{R_s}{R_o}$	1.8	1.6	1.46	1.33	1.26	1.2	1.13	1.06	1
Concentración en ppm	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
$\frac{R_s}{R_o}$	0.79	0.69	0.63	0.58	0.54	0.5	0.48	0.46	0.45
Concentración en ppm	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000	9000	10000

Fuente: (Hanwei Electronics, 2015, pp.1-2a)

Realizado por: Méndez P, 2020

Mediante el uso de Excel se procedió a graficar la curva con los datos anteriores, donde en el eje de las ordenadas van los datos de la relación Rs/Ro y en las abscisas van los datos de concentración:



**Gráfico 9-3:** Curva de calibración de sensor MQ-4 (Relación Rs/Ro y ppm de CH<sub>4</sub>)

Realizado por: Méndez P, 2020

En este caso, la correlación  $R^2$  tiene una gran aproximación a 1 por lo que se establece que la precisión del modelo para determinar la concentración de Metano es válida.

En base a la función potencial se establece la siguiente igualdad, entre la señal de salida del sensor ( $R_s/R_o$  que representa el eje y) y las partes por millón de CH<sub>4</sub> producidas por la fermentación oscura y electrólisis microbiana (representa el eje x):

$$\frac{R_s}{R_o} = 12.695 \cdot [CH_4]^{-0.364}$$

Despejando la ecuación anterior se encuentra la fórmula para determinar la concentración del gas Metano generado:

$$[CH_4] = \left( \frac{R_s}{R_o * 12.695} \right)^{-2.747}$$

$$[CH_4] = \left( \frac{R_o * 12.695}{R_s} \right)^{2.747}$$

Para determinar la resistencia de sensibilidad o detección del sensor, se toma en cuenta la información técnica de operación del fabricante, que en este caso es:

$$R_s = \frac{\text{Voltaje del circuito}(5V) - \text{Señal de salida del sensor}(V)}{\text{Señal de salida del sensor}(V)} * \text{Resistencia de carga}(R_l)$$

**Ecuación 1-3:** Determinación de resistencia de sensibilidad del sensor

**Fuente:** (Kalra et al., 2016:p.426)

Reemplazando la resistencia de sensibilidad en la ecuación matemática de concentración de Metano, se consigue transformar la señal de voltaje de salida generada por el sensor y leída en el Arduino a ppm que es la concentración del gas analizado y con ello se determina la influencia de este gas en el proceso de FO y EM, en función de la cantidad generada:

$$[CH_4] = \left[ \frac{12.695 * R_o * \text{Señal de salida del sensor}(V)}{(5V - \text{Señal de salida del sensor})(R_l)} \right]^{2.747}$$

**Ecuación 2-3:** Determinación de concentración de CH<sub>4</sub>

**Fuente:** (Kalra et al., 2016:p.426)

### 3.2.2. Curva de calibración del sensor electrónico MQ-8 sensible al gas H<sub>2</sub>

En la siguiente tabla se especifican la relación de las resistencias y concentraciones empíricas para la detección del gas Hidrógeno (H<sub>2</sub>):

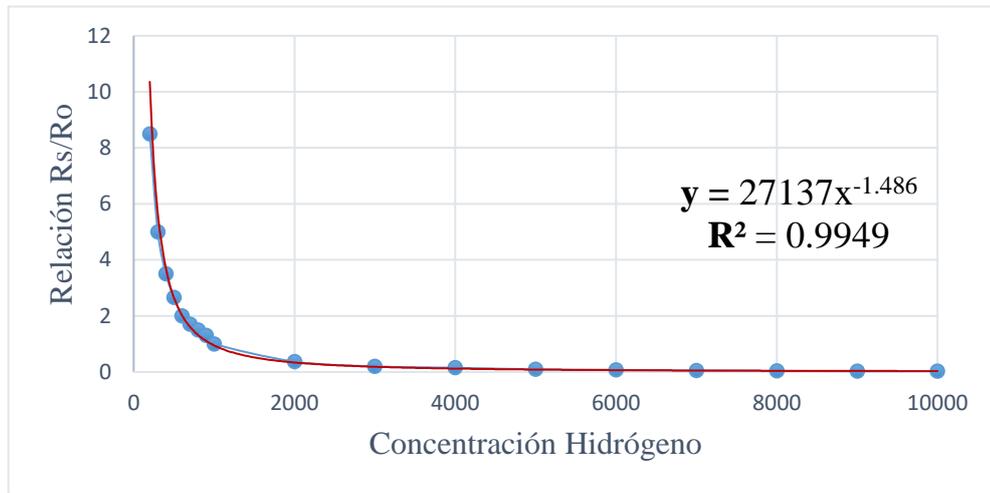
**Tabla 5-3:** Relación Rs/Ro versus la concentración de H<sub>2</sub>

$\frac{R_s}{R_o}$	8.5	5	3.5	2.66	2	1.7	1.5	1.3	1
Concentración en ppm	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
$\frac{R_s}{R_o}$	0.37	0.2	0.15	0.095	0.07	0.05	0.04	0.025	0.03
Concentración en ppm	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000	9000	10000

**Fuente:** (Hanwei Electronics, 2015, pp.1-2b)

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Mediante el uso de Excel se procedió a graficar la curva con los datos anteriores, donde en el eje de las ordenadas van los datos de la relación  $R_s/R_o$  y en las abscisas van los datos de concentración:



**Gráfico 10-3:** Curva de calibración de sensor MQ-8 (Relación  $R_s/R_o$  y ppm de  $H_2$ )  
Realizado por: Méndez P, 2020

En este caso, la correlación  $R^2$  se aproxima demasiado a 1 por lo que se considera que la precisión y calibración del modelo para determinar la concentración del Hidrógeno es válido.

En base a la función potencial se establece la siguiente igualdad, entre la señal de salida del sensor ( $R_s/R_o$  que representa el eje y) y las partes por millón de  $H_2$ , producidas por la fermentación oscura y electrólisis microbiana (representa el eje x):

$$\frac{R_s}{R_o} = 27137 \cdot [H_2]^{-1.486}$$

Despejando la ecuación anterior se encuentra la fórmula para determinar la concentración del gas Hidrógeno generado:

$$[H_2] = \left( \frac{R_s}{R_o * 27137} \right)^{-0.673}$$

$$[H_2] = \left( \frac{R_o * 27137}{R_s} \right)^{0.673}$$

Para determinar la resistencia de sensibilidad o detección del sensor, se toma en cuenta la información técnica de operación del fabricante, que en este caso es:

$$R_s = \frac{\text{Voltaje del circuito}(5V) - \text{Señal de salida del sensor}(V)}{\text{Señal de salida del sensor}(V)} * \text{Resistencia de carga}(R_l)$$

Reemplazando la resistencia de sensibilidad en la ecuación matemática de concentración de Hidrógeno, se consigue transformar la señal de voltaje de salida generada por el sensor y leída en

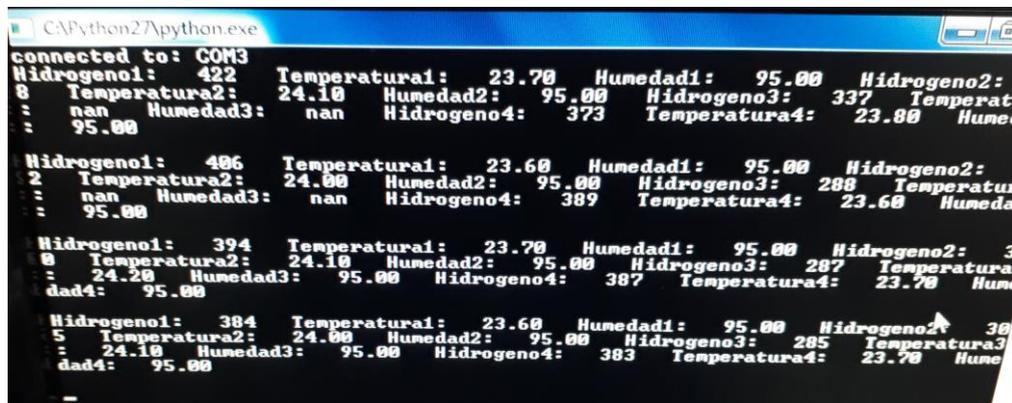
el Arduino a ppm que es la concentración del gas analizado y con ello se determina la influencia de este gas en el proceso de FO y EM, en función de la cantidad generada:

$$[H_2] = \left[ \frac{27137 * R_o * \text{Señal de salida del sensor}}{(5V - \text{Señal de salida del sensor})(R_l)} \right]^{0.673}$$

**Ecuación 3-3:** Determinación de concentración de H<sub>2</sub>

Fuente: (Kalra et al., 2016:p.426)

Cabe mencionar que según el fabricante de la marca del sensor de detección de Hidrógeno recomienda utilizar un valor de Ro=10 KΩ, al calibrarlo para un valor de 1000 ppm; mientras que para Metano se recomienda utilizar un valor de Ro=20 KΩ al precisar el sensor para una concentración de 5000 ppm, todo esto en base a la resistencia de sensibilidad y de carga que posee cada sensor (Millán, 2016, pp:16-19) (Naylamp, 2016).



**Figura 1-3:** Lectura de datos de Hidrógeno, Metano, Temperatura y Humedad en el Software LabView

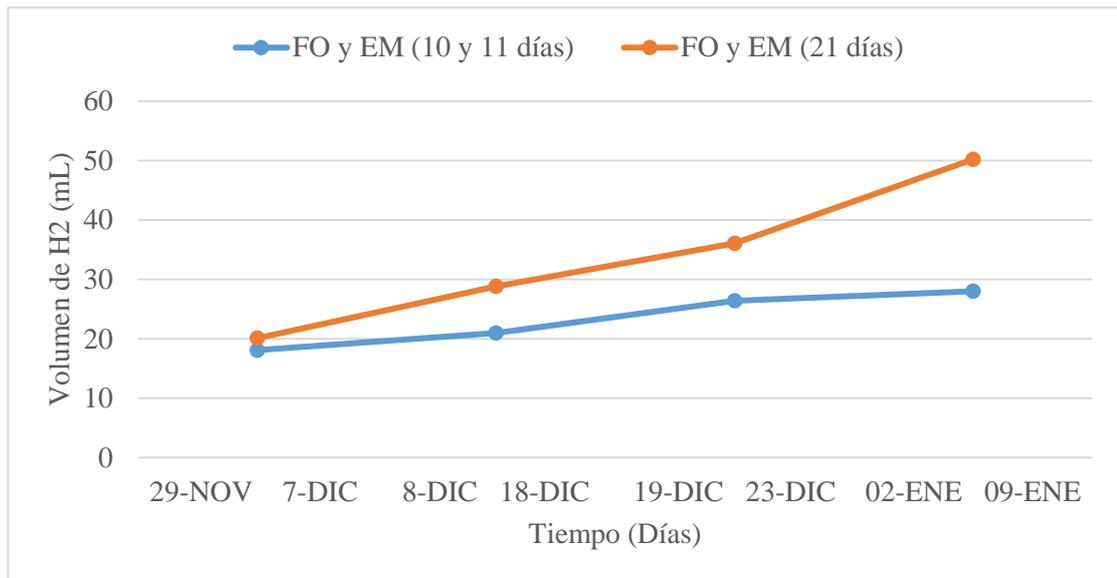
Realizado por: Méndez P,2020

**3.3. Estimación de la producción de biohidrógeno**

**3.3.1. Cantidad de Hidrógeno producido expresado en volumen (mL)**

Al momento en que el gas se recolectó con una jeringa del sistema de descarga del gas, se procedió a la ejecución de prueba de llama donde el Hidrógeno contenido era expulsado y a la vez se encendía un fósforo y si la llama aumentaba y cambiaba a un color azulado pálido, significaba que la cantidad de gas era abundante.

En las siguientes gráficas se especifican el volumen de Hidrógeno producido por día en mililitros, en base al tiempo aplicado por proceso:

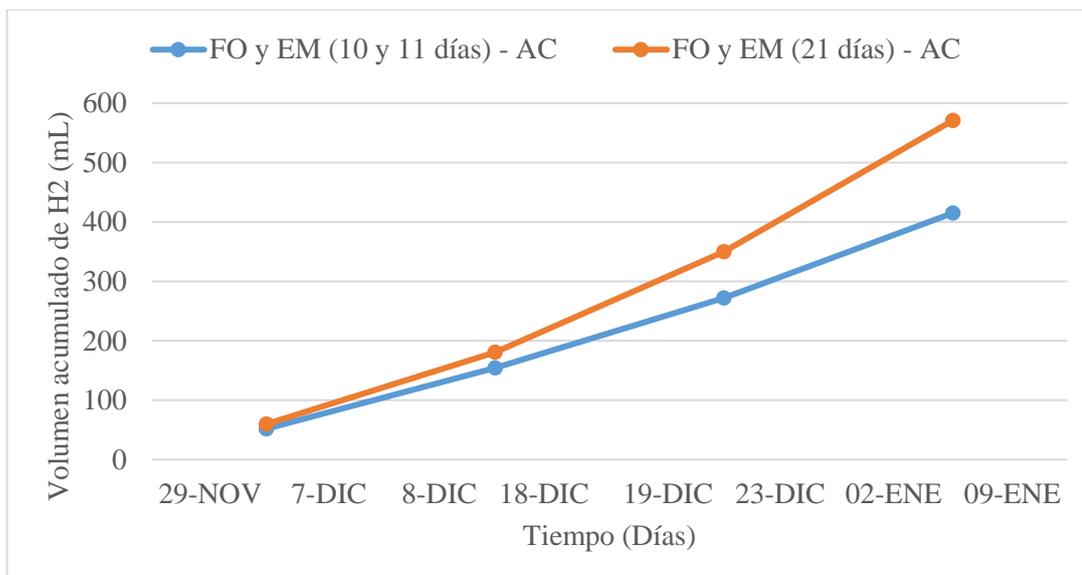


**Gráfico 11-3:** Cantidad de H<sub>2</sub> producido por día en mililitros, en base al tiempo aplicado por proceso

Realizado por: Méndez P, 2020

Dentro de los primeros 10 días, al aplicar fermentación oscura se observó que existió una producción similar de Hidrógeno en los cuatro reactores, pero a medida que avanzó el proceso, en los reactores que se aplicó FO, por 21 días se observa que la cantidad de H<sub>2</sub> comenzó a aumentar y a continuación cuando se cambió a EM la curva creció significativamente por acción de la carga microbiana, mientras que en los reactores donde se alternaron los procesos por 10 y 11 días, la curva desciende y asciende debido a que los microorganismos aún no se adaptaron completamente a las condiciones del medio y por eso su actividad metabólica disminuyó. Por ende, el volumen de Hidrógeno recolectado es mayor en el caso donde se ejecutó FO y EM por más tiempo de forma continua, mientras que en los reactores donde los procesos se aplicaron por corto tiempo, el volumen de producción disminuyó paulatinamente.

En la siguiente gráfica se detalla la producción acumulada de Hidrógeno en unidades de volumen:



**Gráfico 12-3:** Producción acumulada de H<sub>2</sub>, en base al tiempo aplicado por proceso

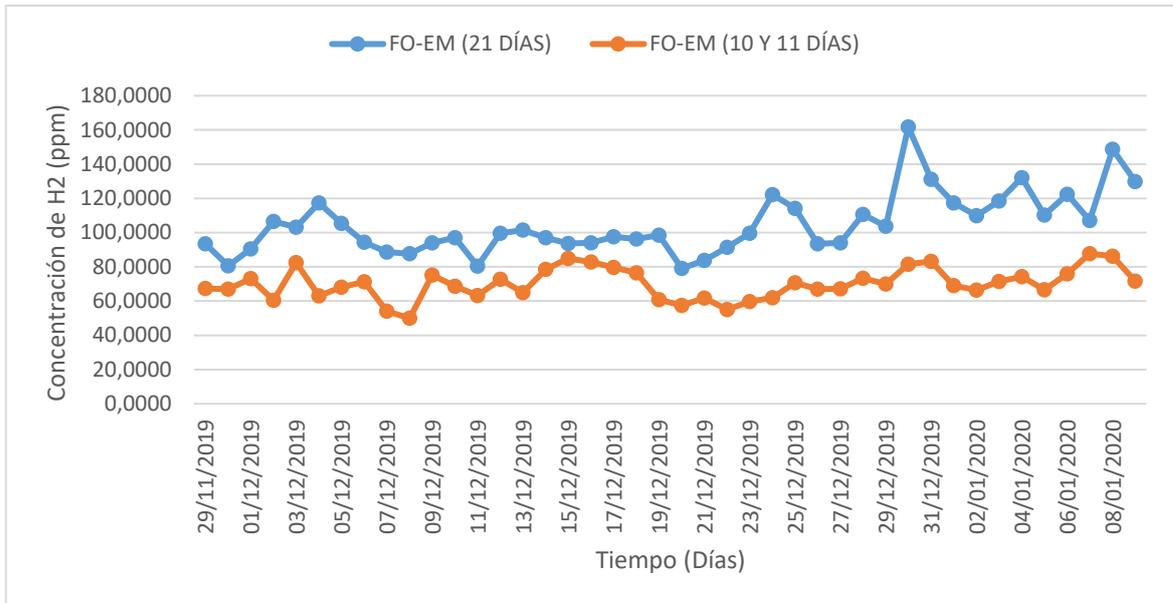
**Realizado por:** Méndez P, 2020

Existió una producción máxima de Hidrógeno de 676 mL en el caso donde los procesos fueron continuos, mientras que la producción fue mínima en el caso donde los procesos fueron alternados, registrando un volumen máximo de 468 mL. Todo esto se debió a la actividad e interacción de los microorganismos productores y consumidores de Hidrógeno, influenciado también por el Acetato de Sodio colocado en los electrodos.

### 3.3.2. Cantidad de Hidrógeno producido expresado en concentración(ppm)

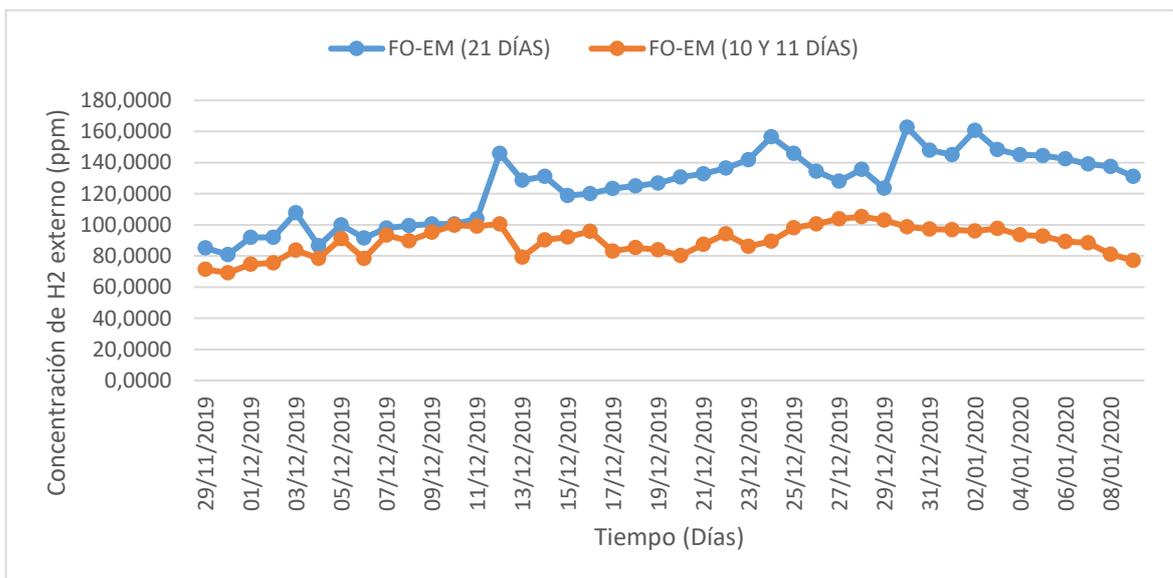
Mediante el empleo de las ecuaciones establecidas anteriormente con la calibración de los sensores, se pudo determinar las concentraciones de los gases de Hidrógeno y Metano a lo largo del tratamiento de las muestras de lodos que fue un total de 42 días de monitoreo y un tiempo de residencia de 44 días. En este caso, la concentración promedio de biohidrógeno generado en los lodos de la industria minera en el periodo de tratamiento de 21 días por proceso fue de 104.74 ppm, la desviación estándar fue de 17,78 con una varianza igual a 316,10; un error estándar de 2,74 y un coeficiente de curtosis positivo de 1,77 lo que indica que la distribución de los datos present como consecuencia de que la concentración aumenta significativamente a medida que los lodos son degradados, consumidos y transformados por los microorganismos; mientras que en el periodo de 10 y 11 días la concentración promedio fue de 70,08 ppm, la desviación estándar fue de 9,08 con una varianza igual a 82,51; un error estándar de 1,40 y un coeficiente de curtosis negativo de -0,434 debido a que la producción no fue significativa en este proceso. La concentración promedio obtenida por el sensor externo fue de 124,48 ppm, la desviación estándar fue de 22,43 con una varianza igual a 503,17, un error estándar de 3,46 y un coeficiente de curtosis

negativo de -0,948; debido a que en este caso la producción se incrementó más que en el sensor interno, debido a la temperatura externa derivada de la luz solar que incidía en las mangueras de PVC por donde se transportaba el gas hacia la cápsula con el sensor externo y después hacia el sistema de descarga del gas. Se observa que el pico más alto de concentración tanto en los datos obtenidos por el sensor interno y externo fue en el día 30 y en ambos casos la producción aumenta cuando se aplicó electrólisis microbiana.



**Gráfico 13-3:** Concentración de H<sub>2</sub> obtenido por el sensor interno, en base al tiempo aplicado por proceso

Realizado por: Méndez P, 2020



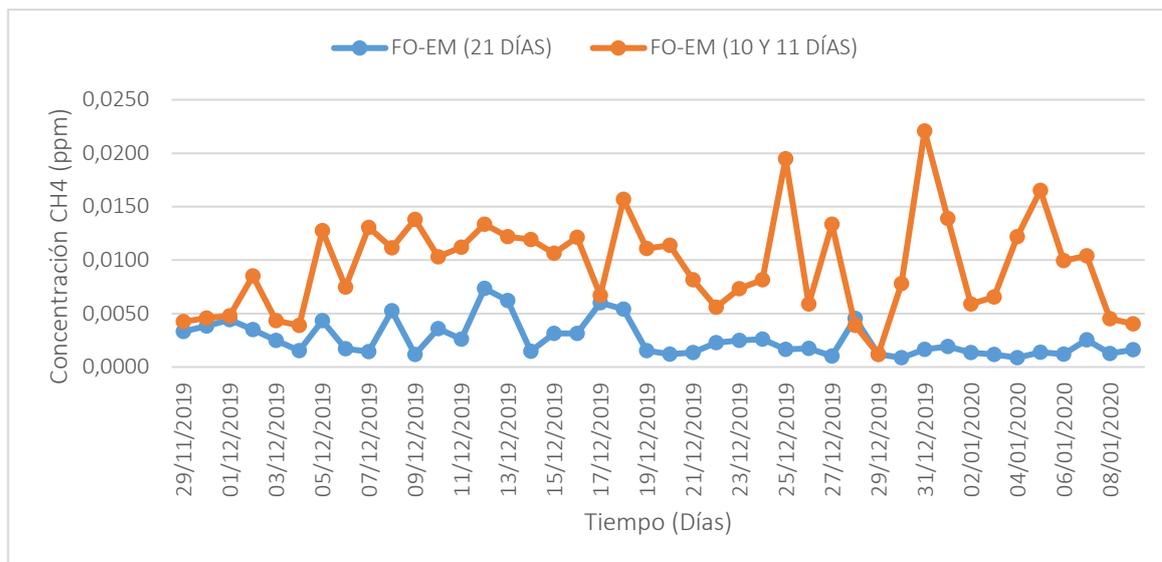
**Gráfico 14-3:** Concentración de H<sub>2</sub> obtenido por el sensor externo, en base al tiempo aplicado por proceso

Realizado por: Méndez P, 2020

**FO-EM (21 Días):** Se observa que dentro de los primeros 21 días donde se aplicó FO, la producción fue inestable debido a que existió una combinación de microorganismos tanto consumidores como productores de Hidrógeno, en este lapso en el día 6 existió el pico más alto de H<sub>2</sub> y posteriormente comienza a descender por la interacción microbiana donde el pH disminuye como resultado de la generación de ácidos grasos volátiles. A partir del día 22 donde se cambió a EM, la producción de H<sub>2</sub>, comenzó a incrementarse evidenciándose el pico más alto en el día 30, debido a que los microorganismos productores de Hidrógeno ya se adaptaron a las condiciones que presentaron los lodos y también al sustrato de Acetato de Sodio en el que sumergió a los electrodos, conforme a ello la producción fue mayor en este lapso que en la fermentación oscura. Dos grupos de microorganismos responsables de la producción fue *Enterobacter* y *Escherichia Coli*.

En el último día de monitoreo se observa que la producción comenzó a descender nuevamente, debido a que no existió una retroalimentación de sustrato al ser un reactor tipo Batch, por lo que los nutrientes presentes en los lodos cesaron y los microorganismos entraron en una fase de muerte.

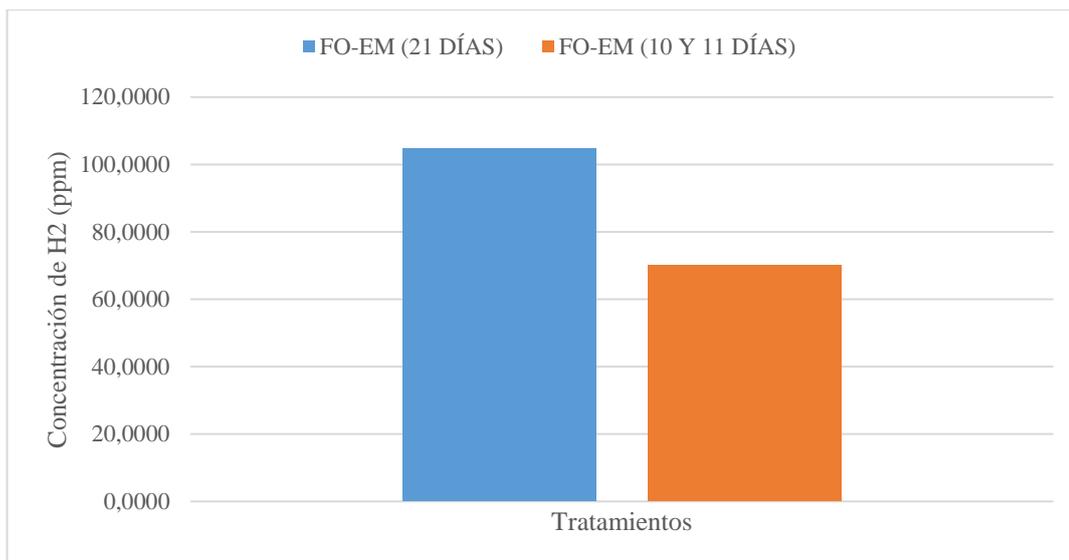
**FO-EM (10 y 11 Días):** La producción de Hidrógeno fue menor a diferencia del proceso donde se aplicó FO y EM por más tiempo. En este caso, la producción no es uniforme, existió aumento y disminución de Hidrógeno cada cierto tiempo, evidenciándose picos más altos en el día 5(FO), día 17 (EM), en el segundo periodo de FO la producción disminuyó, mientras que en segundo periodo de EM se observó el pico más alto en el último día de monitoreo. Todo esto se debió que los microorganismos no tuvieron el tiempo suficiente para adaptarse debido a que el pH no fue el adecuado y no se eliminaron los microorganismos consumidores de Hidrógeno.



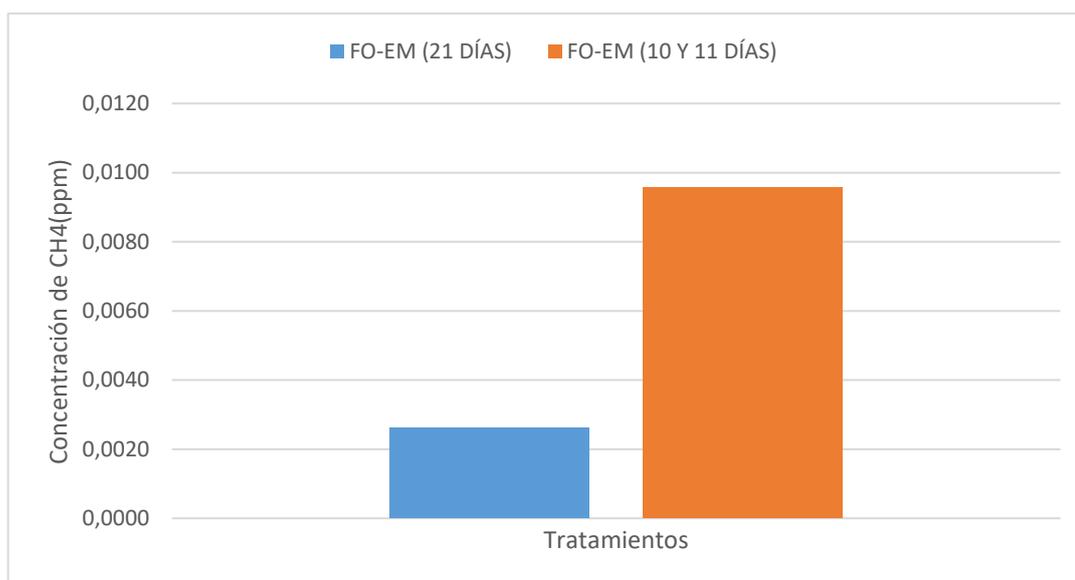
**Gráfico 15-3:** Concentración de CH<sub>4</sub> obtenido, en base al tiempo aplicado por proceso  
**Realizado por:** Méndez P, 2020

En la valoración de la concentración de Metano en el proceso de 21 días se obtuvieron los siguientes resultados: un promedio de 0,0026 ppm, la desviación estándar fue de 0,0016 con una varianza igual a 0,0001, un error estándar de 0,0002 y un coeficiente de curtosis positivo de 0,696. Mientras que en el proceso de 10 y 11 días se obtuvo una concentración promedio de 0,0096 ppm, la desviación estándar fue de 0,0045 con una varianza igual a 0,0001, un error estándar de 0,0007 y un coeficiente de curtosis positivo de 0,259. En ambos casos, la producción fue muy insignificante siendo el caso de 21 días menor la producción que el de 10 y 11, todo esto se debió al pretratamiento aplicado que fue la irradiación gamma de 350 Gy y también el sustrato complementario aplicado en los electrodos. También se verificó que al final del monitoreo la producción desciende debido a la fase de muerte de los microorganismos tal como sucedió en la producción de H<sub>2</sub>.

Como se pudo evidenciar en los dos procesos de aplicación de FO y EM por periodos cortos y largos, la generación de biohidrógeno fue superior a la de metano, sucesos generados dentro de los reactores prototipo de nylon blanco donde se logró un gran nivel de inhibición de la etapa metanogénica en el tratamiento de las muestras de lodos, lo cual fue esencial para que ocurra la fermentación oscura y electrólisis microbiana. A continuación, se presenta una gráfica de la concentración promedio de los gases en los dos procesos:



**Gráfico 16-3:** Concentración de H<sub>2</sub> promedio, en base al tiempo aplicado por proceso  
**Realizado por:** Méndez P, 2020



**Gráfico 17-3:** Concentración de CH<sub>4</sub> promedio, en base al tiempo aplicado por proceso  
**Realizado por:** Méndez P, 2020

El proceso de FO-EM-21 días operó con una temperatura promedio de 34,86°C y una humedad promedio de 92,61 %, mientras que el proceso de FO-EM-10 y 11 días operó con una temperatura promedio de 34,54 °C y una humedad promedio de 93,29 %; por lo que se pudo verificar que estos procesos se llevaron a cabo en un ambiente mesofílico muy húmedo, necesario para el crecimiento de los microorganismos encargados de la producción de biohidrógeno; además no existen diferencias significativas de temperatura y humedad en ambos procesos, es decir la mayor incidencia de la producción fue generada por el sustrato utilizado y el pretratamiento aplicado.

### 3.4. Análisis estadístico

#### 3.4.1. Análisis descriptivo estadístico

**Tabla 6-3:** Análisis descriptivo estadístico de las concentraciones de Hidrógeno y Metano

VARIABLE (CONCENTRACIÓN)	PARÁMETRO ESTADÍSTICO	Valor	Error Estándar	
H2IFOEM21	Media	104,738076	2,7434048	
	95% de Intervalo de Confianza para la Media	Límite inferior	99,197658	
		Límite Superior	110,278495	
	Media recortada al 5%	103,378147		
	Mediana	99,709700		
	Varianza	316,103		
	Desviación Estándar	17,7792950		
	Mínimo	79,1298		
	Máximo	161,7449		
	Rango	82,6151		
	Rango Intercuartil	21,3815		
	Asimetría	1,201	,365	
	Curtosis	1,769	,717	
	H2IFOEM10Y11	Media	70,079614	1,4016784
95% de Intervalo de Confianza para la Media		Límite inferior	67,248867	
		Límite Superior	72,910361	
Media recortada al 5%		70,138135		
Mediana		69,503250		
Varianza		82,517		
Desviación Estándar		9,0839140		
Mínimo		49,9547		
Máximo		87,7966		
Rango		37,8419		
Rango Intercuartil		12,9460		
Asimetría		,019	,365	
Curtosis		-,434	,717	
CH4FOEM21		Media	,002598	,0002529
	95% de Intervalo de Confianza para la Media	Límite inferior	,002087	
		Límite Superior	,003108	
	Media recortada al 5%	,002463		
	Mediana	,001800		
	Varianza	,000		
	Desviación Estándar	,0016392		
	Mínimo	,0009		
	Máximo	,0073		

	Rango		,0064	
	Rango Intercuartil		,0021	
	Asimetría		1,211	,365
	Curtosis		,696	,717
CH4FOEM10Y11	Media		,009574	,0006976
	95% de Intervalo de Confianza para la Media	Límite inferior	,008165	
		Límite Superior	,010983	
	Media recortada al 5%		,009348	
	Mediana		,010150	
	Varianza		,000	
	Desviación Estándar		,0045210	
	Mínimo		,0012	
	Máximo		,0221	
	Rango		,0209	
	Rango Intercuartil		,0065	
	Asimetría		,526	,365
	Curtosis		,259	,717
H2EFOEM21	Media		124,470483	3,4612489
	95% de Intervalo de Confianza para la Media	Límite inferior	117,480349	
		Límite Superior	131,460617	
	Media recortada al 5%		124,704669	
	Mediana		129,683200	
	Varianza		503,170	
	Desviación Estándar		22,4314565	
	Mínimo		80,9294	
	Máximo		162,7362	
	Rango		81,8068	
	Rango Intercuartil		42,3375	
	Asimetría		-,368	,365
	Curtosis		-,948	,717
H2EFOEM10Y11	Media		89,712933	1,4368602
	95% de Intervalo de Confianza para la Media	Límite inferior	86,811135	
		Límite Superior	92,614731	
	Media recortada al 5%		89,964334	
	Mediana		90,732500	
	Varianza		86,712	
	Desviación Estándar		9,3119185	
	Mínimo		69,1414	
	Máximo		105,2374	
	Rango		36,0960	

Rango Intercuartil	14,7405	
Asimetría	-,397	,365
Curtosis	-,714	,717

Realizado por: Méndez P, 2020

### 3.4.2. Análisis de Hipótesis mediante la prueba Paramétrica de Normalidad

Se aplicó el test de Normalidad de Shapiro Wilks puesto que su aplicación es ideal para estudios con menos de 50 observaciones. Se lo utilizó para verificar que los datos obtenidos de la variable concentración sigan una distribución normal.

*Hipótesis:*

Ho:  $\mu_{\text{FO-EM-21 días por proceso}} > \mu_{\text{FO-EM-10 y 11 días por proceso alternado}}$

Ha:  $\mu_{\text{FO-EM-21 días por proceso}} \leq \mu_{\text{FO-EM-10 y 11 días por proceso alternado}}$

*Nivel de Significancia:*

$$\alpha = 0.05$$

*Estadístico de prueba:*

**Tabla 7-3:** Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilks

	P-v	df	Sig.( $\alpha$ )
H2IFOEM21	,915	42	,004
H2IFOEM10Y11	,986	42	,883
CH4FOEM21	,851	42	,000
CH4FOEM10Y11	,963	42	,183
H2EFOEM21	,942	42	,035
H2EFOEM10Y11	,967	42	,265

Realizado por: Méndez P, 2020

*Región de rechazo:*

Si el *valor p* >  $\alpha$

*Decisión:*

Como el valor p es mayor que el nivel de significancia se acepta la hipótesis nula Ho y por tanto se concluye que a mayor tiempo aplicado (crecimiento de los microorganismos) en el proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana mayor es la producción de biohidrógeno por lo que es estadísticamente significativo. Además, se comprobó que los datos si siguen una distribución normal ( $p > 0.05$ ).

### 3.5. Balance de masa

Debido a que se trata de un proceso de tratamiento de muestras de lodos, donde la materia que ingresa a un reactor se transforma o disminuye su masa, se realizó un balance de masa del proceso en base a la siguiente ecuación general:

$$\{\text{Entrada de lodos}\} + \{\text{Generación de materia}\} = \{\text{Salida de productos}\} + \{\text{Acumulación}\}$$

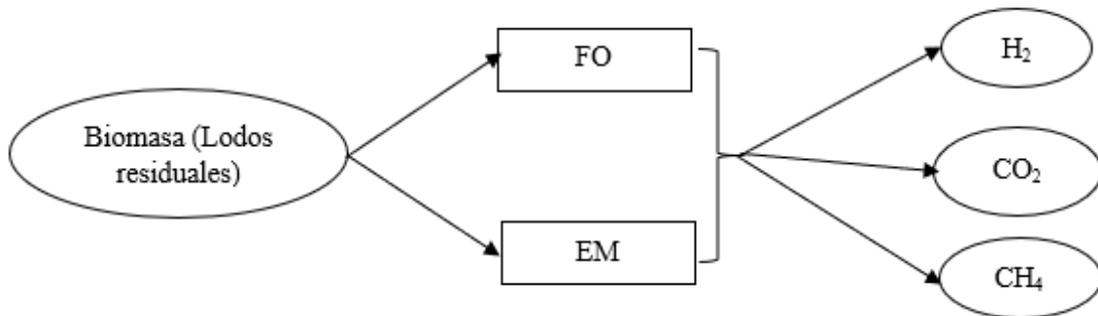
**Ecuación 4-3:** Ecuación general de balance de la materia

**Fuente:** (Vázquez et al., 2014:pp.109-134)

En este caso como se emplearon reactores de tipo Batch, no existió acumulación de materia, debido a que toda la cantidad inicial de lodos colocados fueron tratados y posteriormente se extrajo toda la materia. Por ende, la ecuación se simplificaría y quedaría de la siguiente manera:

$$\{\text{Entrada de lodos}\} + \{\text{Generación de materia}\} = \{\text{Salida de productos}\}$$

A continuación, se presenta un esquema acerca del Balance de masas de la muestra de lodos:



**Figura 2-3:** Balance de masa de la muestra de lodos residuales de una zona minera

**Realizado por:** Méndez P, 2020

Para el cálculo del balance de masas de la muestra de lodos residuales se basó en los datos obtenidos de la parte experimental:

Dónde:

$$\{\text{Generación de materia (biogás)}\} = \{\text{Entrada de lodos}\} - \{\text{Salida de lodos finales}\}$$

$$\{G\} = \{E\} - \{S\}$$

- FO-EM-21 días por proceso:

$$G = (1000 - 988) \text{ g}$$

$$G = 12 \text{ g}$$

- FO-EM-10 y 11 días por proceso alternado:

$$G = (1000 - 993) \text{ g}$$

$$G = 7 \text{ g}$$

Como se puede evidenciar existió una mayor disminución de la masa de los lodos en el caso donde se aplicó 21 días por proceso, debido a que parte de éste fue consumido y transformado por parte de los microorganismos para la producción de biohidrógeno que fue el gas de interés en este estudio investigativo.

### 3.6. Rendimiento del proceso de obtención de biohidrógeno

Fue fundamental la determinación de la eficiencia del proceso de obtención de biohidrógeno a partir de los lodos residuales de una zona minera en base al pretratamiento aplicado que fue el proceso integrado de FO y EM en base al tiempo máximo y medio de crecimiento de los microorganismos. A continuación, se detalla la ecuación utilizada para el cálculo del rendimiento:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Producción Real}}{\text{Producción Teórica}} \times 100\%$$

**Ecuación 5-3:** Ecuación general para obtener el rendimiento de un proceso

**Fuente:** (Ceresuela, 2013, pp.33-36)

- FO-EM-21 días por proceso:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{12 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$R (\%) = 1.2 \%$$

- FO-EM-10 y 11 días por proceso alternado:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{7 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$$

$$R (\%) = 0.7 \%$$

Como se puede observar, existió un mayor rendimiento en el caso donde se aplicó 21 días por proceso, es decir que para la ejecución del proceso integrado de FO y EM se debe tener en cuenta el tiempo máximo de crecimiento de los microorganismos que es 21 días, donde estos se adaptan de forma satisfactoria a los lodos residuales realizando su metabolismo para la degradación de la materia y transformándola en biohidrógeno. Mientras que al someter a FO y EM por periodos de 10 y 11 días de forma alternada no fue conveniente ya que los microorganismos no se pudieron adaptar adecuadamente produciendo la muerte de estos e inclusive se cambiaron las condiciones

del medio debido a que los reactores debían abrirse más seguido para ingresar y sacar los electrodos para la electrólisis microbiana.

## CONCLUSIONES

- Se produjo varias concentraciones del gas de interés que en este caso fue biohidrógeno, en base al tiempo aplicado (crecimiento de los microorganismos) al proceso integrado de fermentación oscura y electrólisis microbiana en muestras de lodos irradiadas con una dosis óptima de 350 Gy.
- Se determinó que las muestras sin tratar presentaban altos valores de pH, DQO, conductividad, nutrientes (Fósforo y Nitrógeno), microorganismos, pero cuando finalizó el proceso de FO y EM, estos parámetros disminuyeron como consecuencia de que los microorganismos tanto metanogénicos y productores de hidrógeno se alimentaron del sustrato (nutrientes), lo transformaron mediante sus rutas metabólicas (afectaron los parámetros físicos y químicos) para producir biohidrógeno. Las Enterobacterias si disminuyeron significativamente debido a la curva de crecimiento de los microorganismos donde una vez finalizado el sustrato se genera la muerte de los mismos, mientras que la cantidad de *E. coli* se mantuvo casi intacta, lo que podría indicar que se pueden adaptar a varias condiciones del medio inclusive a la irradiación, y por ende son ideales para producir biogás sin necesidad de realizar ninguna inoculación para su multiplicación.
- Se adaptó a los reactores de fermentación oscura mediante el purgado con Nitrógeno al 98.7 % de pureza después de cada proceso donde se consiguió las condiciones anaeróbicas necesarias para que ocurra la fermentación eliminando el aire presente en el interior de los mismos, mientras que a los electrodos se los sumergió en una solución de Acetato de Sodio lo cual fue ideal para aumentar la producción de biohidrógeno en la electrólisis microbiana; en ambos casos la esterilización y lavado con agua destilada fue fundamental para la eliminación de toda impureza. A la vez se calibraron los sensores electrónicos con lo cual se obtuvieron datos concretos de concentración.
- Se evaluó que existió un mayor volumen y concentración de Hidrógeno en el caso donde se aplicó 21 días de tratamiento por proceso de FO y EM, debido a que es el tiempo máximo en donde los microorganismos se adaptaron y desarrollaron, es decir que a mayor tiempo de pretratamiento de FO y EM, mayor es la producción de gas. Se obtuvo un volumen promedio de generación por día de 33.8 mL y acumulado de 209.3 mL, mientras que la concentración promedio de Hidrógeno fue de 104.74 ppm cuyo valor fue superior a la de Metano y obteniéndose un rendimiento de 1.2 % de producción. Mientras que, en periodos cortos de tratamiento, los valores fueron inferiores evidenciándose que los microorganismos no se adaptaron completamente al sustrato aplicado que en este caso fueron los lodos.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda colocar una paleta de agitación dentro del reactor para que se homogenice la mezcla del residuo utilizado durante todo el proceso y con ello mejorar la eficiencia de producción de hidrógeno.
- Se recomienda hacer inoculaciones en el residuo utilizado de microorganismos selectivos productores de Hidrógeno como de los géneros *Enterobacter* o *Clostridium* para tener un control exhaustivo del crecimiento de los mismos y verificar su comportamiento en la producción de biohidrógeno.
- Se recomienda utilizar una combinación de residuos ya sean biomásas lignocelulósicas, estiércoles y lodos de plantas de tratamiento municipales para mejorar la cantidad de biohidrógeno producido.
- Se recomienda colocar un biofiltro dentro del reactor para purificar el hidrógeno obtenido y poder separarlo de otros gases como el CO<sub>2</sub> o ciertas trazas de metano.

## BIBLIOGRAFÍA

AOSONG ELECTRONICS CO, 2017. *Digital relative humidity & temperature sensor DHT11.pdf* [en línea]. 2017. S.l.: s.n. [Consulta: 23 febrero 2020]. Disponible en: [https://www.electronicoscaldas.com/datasheet/DHT11\\_Aosong.pdf](https://www.electronicoscaldas.com/datasheet/DHT11_Aosong.pdf).

APINO, 2018. El efecto fotoeléctrico: fundamento de los paneles solares. *AMBIENTE Y SALUD* [en línea]. [Consulta: 19 marzo 2020]. Disponible en: <http://ambienteysalud.net/2018/01/26/el-efecto-fotoelectrico/>.

ARGUN, H. y KARGI, F., 2011. Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: An overview. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 36, no. 13, pp. 7443-7459. [Consulta: 25 marzo 2020]. ISSN 0360-3199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2011.03.116. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319911007063>.

AZD, 2019. Comunidad Shumiral está en alerta ante contaminación por minería ilegal en área protectora | Diario El Mercurio. *El Mercurio* [en línea]. 2650. Azuay, 20 julio 2019. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://ww2.elmercurio.com.ec/2019/07/20/comunidad-shumiral-esta-en-alerta-ante-contaminacion-por-mineria-ilegal-en-area-protectora/>.

BAKONYI, P et al., 2018. Microbial electrohydrogenesis linked to dark fermentation as integrated application for enhanced biohydrogen production: A review on process characteristics, experiences and lessons. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 251, pp. 381-389. [Consulta: 26 marzo 2020]. ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2017.12.064. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417322083>.

BALDOR, B., 2019. GAD Municipal Camilo Ponce Enríquez. *Cantón Camilo Ponce Enríquez* [en línea]. [Consulta: 28 marzo 2020]. Disponible en: [http://www.camiloponce.gob.ec/camilopo\\_camilop/index.php/component/content/article/13-turismo/9-lugares-turisticos](http://www.camiloponce.gob.ec/camilopo_camilop/index.php/component/content/article/13-turismo/9-lugares-turisticos).

BECERRIL, J.J. y JUÁREZ, J.C.G., 2010. Catálisis inducida por radiaciones. [en línea], pp. 17. Disponible en: <http://www.inin.gob.mx/documentos/publicaciones/contridelinin/Cap%C3%ADtulo%2017.pdf>.

BLANCO LONDOÑO, S.A. y RODRÍGUEZ CHAPARRO, T., 2012. Producción de biohidrógeno a partir de residuos mediante fermentación oscura: una revisión crítica (1993-2011). *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería* [en línea], vol. 20, no. 3, pp. 398-411. [Consulta: 25 marzo 2020]. ISSN 0718-3305. DOI 10.4067/S0718-33052012000300014. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0718-33052012000300014&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-33052012000300014&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

CARDEÑA, R., CERCADO, B. y BUITRÓN, G., 2019. Chapter 7 - Microbial Electrolysis Cell for Biohydrogen Production. En: A. PANDEY et al. (eds.), *Biohydrogen (Second Edition)* [en línea]. Segunda. S.l.: Elsevier, Biomass, Biofuels, Biochemicals, pp. 159-185. [Consulta: 26 marzo 2020]. ISBN 978-0-444-64203-5. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444642035000071>. Biomasa, Biocombustibles

CERESUELA, J.C., 2013. *Química básica para ingenieros* [en línea]. Primera. España: Universidad de Zaragoza. ISBN 978-84-15770-68-8. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=0Xq\\_L\\_-cqG0C&pg=PA36&dq=ecuaci%C3%B3n+para+calcular+el+rendimiento+real+de+un+proceso&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjGvbLT75jpAhWjct8KHXBMBLoQ6AEIUzAF#v=onepage&q=ecuaci%C3%B3n%20para%20calcular%20el%20rendimiento%20real%20de%20un%20proceso&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=0Xq_L_-cqG0C&pg=PA36&dq=ecuaci%C3%B3n+para+calcular+el+rendimiento+real+de+un+proceso&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjGvbLT75jpAhWjct8KHXBMBLoQ6AEIUzAF#v=onepage&q=ecuaci%C3%B3n%20para%20calcular%20el%20rendimiento%20real%20de%20un%20proceso&f=false).

CHEN, J et al., 2019. System development and environmental performance analysis of a pilot scale microbial electrolysis cell for hydrogen production using urban wastewater. *Energy Conversion and Management* [en línea], vol. 193, pp. 52-63. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 0196-8904. DOI 10.1016/j.enconman.2019.04.060. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196890419304947>.

DÍAZ, A., 2015. Curva de crecimiento bacteriano. *Slideshare* [en línea]. [Consulta: 24 marzo 2020]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/Altajimenez/curva-de-crecimiento-bacteriano>.

ELBESHISHY, E et al., 2017. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea], vol. 79, pp. 656-668. [Consulta: 24 marzo 2020]. ISSN 1364-0321. DOI 10.1016/j.rser.2017.05.075. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032117307153>.

FAO, O. de las N.U. para la A. y la A., 2000. *Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias.pdf* [en línea]. 2000. S.l.: Codex. Disponible en: <http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCFH/ccfh33/fh0004as.pdf>.

FEI, X et al., 2020. Enhancement effect of ionizing radiation pretreatment on biogas production from anaerobic fermentation of food waste. *Radiation Physics and Chemistry* [en línea], vol. 168, pp. 108534. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 0969-806X. DOI 10.1016/j.radphyschem.2019.108534. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X18306571>.

FERNÁNDEZ NIELLO, J., 2007. *El universo de las radiaciones* [en línea]. Buenos Aires, ARGENTINA: Eudeba. [Consulta: 18 marzo 2020]. ISBN 978-1-5129-0923-4. Disponible en: <https://elibro.net/es/lc/epoch/titulos/101405>.

GEAA, 2017. Grupo de Energías Alternativas y Ambiente. *Cimogsys* [en línea]. [Consulta: 28 marzo 2020]. Disponible en: <http://cimogsys.epoch.edu.ec/idi/public/grupo/FC>.

*Google Maps* [en línea], 2020a. [Consulta: 28 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.google.com/maps/place/Shumiral/@-2.9795828,-79.71991,10027m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x9032de8fee97e1b5:0xe58c162143009814!8m2!3d-2.979583!4d-79.6848909>.

*Google Maps* [en línea], 2020b. [Consulta: 28 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.google.com/maps/place/Facultad+de+Ciencias+-+ESPOCH/@-1.6560636,-78.6791967,157m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91d307e9cc160b83:0xe12e5a03f277fc67!8m2!3d-1.6556293!4d-78.6786039>.

HANWEI ELECTRONICS, 2015a. *Technical Data MQ-8 Gas Sensor.pdf* [en línea]. 2015. S.l.: s.n. [Consulta: 6 abril 2020]. Disponible en: <https://dlnmh9ip6v2uc.cloudfront.net/datasheets/Sensors/Biometric/MQ-8.pdf>.

HANWEI ELECTRONICS, 2015b. *Technical Data SemiGas 04 Gas Sensor.pdf* [en línea]. 2015. S.l.: s.n. [Consulta: 23 febrero 2020]. Disponible en: <https://store.comet.bg/download-file.php?id=2790>.

HAY et al., 2013. Biohydrogen production through photo fermentation or dark fermentation using waste as a substrate: Overview, economics, and future prospects of hydrogen usage. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* [en línea], vol. 7, no. 3, pp. 334-352. [Consulta: 25 marzo 2020]. ISSN 1932-1031. DOI 10.1002/bbb.1403. Disponible en: <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bbb.1403>.

JAQUE CASTELLANO, E.S., 2019. *Diseño de un reactor prototipo de fermentación oscura para el tratamiento de lodos residuales de textileras*. [en línea]. Investigativo. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Consulta: 1 abril 2020]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/13355>. Química

JIA, X et al., 2020. Enhancement of hydrogen production and energy recovery through electro-fermentation from the dark fermentation effluent of food waste. *Environmental Science and Ecotechnology* [en línea], vol. 1, pp. 100006. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 2666-4984. DOI 10.1016/j.ese.2019.100006. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666498419300067>.

JUSSILA, R., 2015. Global Sustainable development report. Chapter 7. Science Issues for the Attention of Policy Makers.pdf. [en línea]. Reporte. Naciones Unidas: [Consulta: 5 marzo 2020]. Capítulo 7:, Naciones Unidas. Disponible en: <https://geog.ucalgary.ca/manageprofile/sites/geog.ucalgary.ca.manageprofile/files/unitis/publications/1-9831754/schwartz%2C%20burns%2C%20anderson%20-%20global%20sustainable%20development%20report.pdf>. UNDESA

KADIER, A et al., 2016. A comprehensive review of microbial electrolysis cells (MEC) reactor designs and configurations for sustainable hydrogen gas production. *Alexandria Engineering Journal* [en línea], vol. 55, no. 1, pp. 427-443. [Consulta: 26 marzo 2020]. ISSN 1110-0168. DOI 10.1016/j.aej.2015.10.008. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110016815001635>.

KALRA, V et al., 2016. Influence of Temperature and Humidity on the Output Resistance Ratio of the MQ-135 Sensor. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering* [en línea], vol. 6, no. 4, pp. 7. ISSN 2277. Disponible en: [http://ijarcsse.com/Before\\_August\\_2017/docs/papers/Volume\\_6/4\\_April2016/V6I4-0130.pdf](http://ijarcsse.com/Before_August_2017/docs/papers/Volume_6/4_April2016/V6I4-0130.pdf).

KHONGKLIANG, P et al., 2019. High efficient biohydrogen production from palm oil mill effluent by two-stage dark fermentation and microbial electrolysis under thermophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 44, no. 60, pp. 31841-31852. [Consulta: 5 marzo 2020]. ISSN 0360-3199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2019.10.022. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319919337619>.

KHONGKLIANG, P et al., 2017. Continuous hydrogen production from cassava starch processing wastewater by two-stage thermophilic dark fermentation and microbial electrolysis.

*International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 42, no. 45, pp. 27584-27592. [Consulta: 12 mayo 2019]. ISSN 03603199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2017.06.145. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360319917325004>.

LEÓN ZAMORA, K., 2012. Efectos de la interacción de la radiación con la materia. *grupo2rbrp5* [en línea]. [Consulta: 19 marzo 2020]. Disponible en: <https://grupo2rbrp5.wordpress.com/2012/06/22/efectos-de-la-interaccion-de-la-radiacion-con-la-materia-4/>.

MACHADO LÓPEZ, alter D., 2015. *Tratamiento biológico de residuos semisólidos y efluentes líquidos de la industria del procesado de limón.pdf* [en línea]. Burgos, España: Universidad de Burgos. [Consulta: 24 marzo 2020]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/92429726.pdf>.

MAKAROV, I.E. y PONOMAREV, A.V., 2017. Radiation-Induced Degradation of Organic Compounds and Radiation Technologies for Purification of Aqueous Systems. *Ionizing Radiation Effects and Applications* [en línea], pp. 31. [Consulta: 19 marzo 2020]. DOI 10.5772/intechopen.72074. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/ionizing-radiation-effects-and-applications/radiation-induced-degradation-of-organic-compounds-and-radiation-technologies-for-purification-of-aq>.

MARONE, A et al., 2017. Coupling dark fermentation and microbial electrolysis to enhance bio-hydrogen production from agro-industrial wastewaters and by-products in a bio-refinery framework. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 42, no. 3, pp. 13. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.09.166>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360319916312071>.

MARONE, A et al., 2017. Coupling dark fermentation and microbial electrolysis to enhance bio-hydrogen production from agro-industrial wastewaters and by-products in a bio-refinery framework. *International Journal of Hydrogen Energy* [en línea], vol. 42, no. 3, pp. 1609-1621. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 0360-3199. DOI 10.1016/j.ijhydene.2016.09.166. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319916312071>.

MEDINA MÉNDEZ, J.F., 2013. *Estudio de Impacto Ambiental y Plan de Manejo Ambiental del Proyecto "Plan Maestro de Alcantarillado Sanitario y Pluvial para el Centro Cantonal de Camilo Ponce Enriquez"* [en línea]. 2013. S.l.: s.n. Disponible en: [http://www.camiloponce.gob.ec/camilopo\\_camilop/images/eia/EIA\\_Alcantarillado\\_CamiloPonceE.pdf](http://www.camiloponce.gob.ec/camilopo_camilop/images/eia/EIA_Alcantarillado_CamiloPonceE.pdf).

MEHTA, K. y CHMIELEWSKI, A., 2005. *Gamma irradiators for radiation processing.pdf* [en línea]. 2005. S.l.: IAEA. [Consulta: 23 marzo 2020]. Disponible en: <http://www-naweb.iaea.org/napc/iachem/Brochgamairradd.pdf>.

MILLÁN, F.M., 2016. *Diseño e implementación de un sistema de medida de gases con Arduino* [en línea]. Técnico. Teruel: Zaragoza. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/59102/files/TAZ-TFG-2016-2689.pdf>.

MIRANDA, Y., 2015. Explicación efecto compton. *TEMA: aplicación de la Teoría de la relatividad en la tecnología de los GPS* [en línea]. [Consulta: 19 marzo 2020]. Disponible en: <http://elgpsylateoriadelarelatividad.weebly.com/17/post/2015/06/explicacion-efecto-compton.html>.

MOELLER, G. y TOMASINI ORTÍZ, A.C., 2004. *Microbiología de lodos activados* [en línea]. 2004. S.l.: s.n. Disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018834/MEMORIAS2004/CapituloII/5Microbiologiadelodosactivados.pdf>.

MORENO, J. y COLÍN, A., 2000. Irradiación de lodos residuales y su uso en el cultivo de avena. [en línea], vol. 44, no. 3, pp. 5. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v44n3/v44n3a8.pdf>.

MU, D et al., 2020. Simultaneous biohydrogen production from dark fermentation of duckweed and waste utilization for microalgal lipid production. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 302, pp. 122879. [Consulta: 5 marzo 2020]. ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2020.122879. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852420301486>.

NAYLAMP, 2016. Tutorial sensores de gas MQ2, MQ3, MQ7 y MQ135. *Naylamp Mechatronics* [en línea]. [Consulta: 21 mayo 2020]. Disponible en: [https://naylampmechatronics.com/blog/42\\_Tutorial-sensores-de-gas-MQ2-MQ3-MQ7-y-MQ13.html](https://naylampmechatronics.com/blog/42_Tutorial-sensores-de-gas-MQ2-MQ3-MQ7-y-MQ13.html).

NTC-ISO-5667-13, 1998. *Guia Para Muestreo-de-Lodos de Aguas Residuales y PTAR.pdf* [en línea]. 1998. S.l.: s.n. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/260152237/Ntc-Iso-5667-13-Calidad-de-Agua-Muestreo-Parte-13-Guia-Para-Muestreo-de-Lodos-de-Aguas-Resi-y-Pta>.

NTC-ISO-5667-16, 2000. *Guia para el ensayo biológico de muestras.pdf* [en línea]. 2000. S.l.: s.n. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/238763742/NTC-ISO-5667-16-pdf>.

ORTEGA ARAMBURU, X. y JORBA BISBAL, J., 2009. *Radiaciones ionizantes. Utilización y riesgos I* [en línea]. Cataluña, España: Univ. Politèc. de Catalunya. ISBN 978-84-8301-088-4. Disponible en: <https://books.google.com/cu/books?id=Q5vG3UIIYm4C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>.

OVIEDO-ANCHUNDIA, R et al., 2017. Contamination by heavy metals in the south of Ecuador associated to the mining activity. , vol. II, no. 4, pp. 437-438. DOI 10.21931/RB/2017.02.04.5.

PAZ MIRELES, C.L., 2016. *Efecto de la composición de mezclas de metabolitos procedentes de la fermentación oscura para su uso en la producción de biohidrógeno en celdas de electrólisis microbiana.pdf* [en línea]. San Luis de Potosí: INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C. [Consulta: 8 marzo 2020]. Disponible en: <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/571/3/TMIPICYTP3E42016.pdf>.

POTISEK-TALAVERA, M et al., 2010. Aplicación de biosólidos al suelo y su efecto sobre contenido de materia orgánica y nutrimentos. *Terra Latinoamericana* [en línea], vol. 28, no. 4, pp. 327-333. [Consulta: 17 marzo 2020]. ISSN 0187-5779. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0187-57792010000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-57792010000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

PRADES, C.A., 2006. *Hidrógeno hoy: una alternativa energética y ambiental* [en línea]. Primera. Buenos Aires, ARGENTINA: Ediciones Cathedra Jurídica. [Consulta: 23 marzo 2020]. ISBN 9789872178994-9781413572520. Disponible en: <https://elibro.net/es/lc/epoch/titulos/77125>.

PRESCOTT, L.M., HARLEY, J.P. y KLEIN, D.A., 2004. *Microbiología* [en línea]. Quinta. Madrid, SPAIN: McGraw-Hill Interamericana. [Consulta: 23 marzo 2020]. ISBN 9788448605254-9781456200565. Disponible en: <https://elibro.net/es/lc/epoch/titulos/101900>.  
Biología

RADIOSPARES, 2016. *Technical Specification of Arduino UNO.pdf* [en línea]. 2016. S.l.: s.n. [Consulta: 23 febrero 2020]. Disponible en: <https://datasheet.octopart.com/A000066-Arduino-datasheet-38879526.pdf>.

RANGEL, W., 2007. *Aplicacion de la irradiacion.pdf* [en línea]. 2007. S.l.: Servicios Tecnológicos ININ. [Consulta: 23 marzo 2020]. Disponible en: <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/Aplicacion%20de%20la%20irradiacion.pdf>.

RECALDE, C et al., 2018. Biohydrogen from activated sludge from textile wastewater treated with low doses of gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry* [en línea], vol. 153, pp. 234-238. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 0969-806X. DOI 10.1016/j.radphyschem.2018.08.026. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X18305334>.

RIBA ROMEVA, C., 2012. *Facturas energéticas de los combustibles fósiles: Dependencias y desigualdades* [en línea]. S.l.: Octaedro S. L. [Consulta: 5 marzo 2020]. ISBN 978-84-9921-692-8. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/epoch/61979?page=51>. Tecnología eléctrica y electrónica

RIVERA, M.O et al., 2018. Evolución cronológica del proceso de explotación de oro en el mundo y en Ecuador y sus efectos sobre el ambiente. *Revista Científica* [en línea], vol. 2, no. 20, pp. 13. ISSN 2477-9105. Disponible en: <http://ceaa.epoch.edu.ec:8080/revista.perfiles/faces/Articulos/Perfiles20Art7.pdf>.

RIVERA-VARGAS, G.A., MATSUMOTO-KUWABARA, Y. y BAQUERO-PARRA, R., 2016. Análisis para la obtención de hidrógeno a partir de biogás proveniente de la fermentación de bebidas naturales. *Ingeniería, Investigación y Tecnología* [en línea], vol. 17, no. 2, pp. 251-256. [Consulta: 23 marzo 2020]. ISSN 1405-7743. DOI 10.1016/j.riit.2016.06.009. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405774316300099>.

RUDNITSKAYA, A., 2018. Calibration Update and Drift Correction for Electronic Noses and Tongues. *Frontiers in Chemistry* [en línea], vol. 6. [Consulta: 7 abril 2020]. ISSN 2296-2646. DOI 10.3389/fchem.2018.00433. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2018.00433/full>.

RUIZ LÓPEZ, V. y BUITRÓN MÉNDEZ, G., 2013. *Producción de biohidrógeno por medio de celdas de electrólisis microbiana usando una mezcla de ácidos acético y propiónico* [en línea]. 2013. S.l.: Avances en el Plan de Desarrollo. [Consulta: 26 marzo 2020]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/8345005/gaceta-junio-julio-2013---instituto-de-ingeniería--unam>.  
Biotecnología

SAE-LEN, S. de A.E., 2018. *Certificado de acreditación del laboratorio LABCESTTA.pdf* [en línea]. 2018. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.acreditacion.gob.ec/wp-content/uploads/2018/11/SAE-LEN-18-034.pdf>.

SALAKKAM, A et al., 2019. Bio-hydrogen and Methane Production from Lignocellulosic Materials. [en línea], pp. 41. DOI 10.5772/intechopen.85138. Disponible en:

<https://www.intechopen.com/books/biomass-for-bioenergy-recent-trends-and-future-challenges/bio-hydrogen-and-methane-production-from-lignocellulosic-materials>.

SINC, S. de I. y N., 2019. Algas y bacterias forman equipo para aumentar la producción de hidrógeno. *Agencia SINC* [en línea]. [Consulta: 23 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Algas-y-bacterias-forman-equipo-para-aumentar-la-produccion-de-hidrogeno>.

SUÁREZ ALCÁNTARA, K., 2019. Un poco de todo sobre el Hidrógeno.pdf. [en línea], vol. 70, no. 1. Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/70\\_1/PDF/Hidrogeno.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/70_1/PDF/Hidrogeno.pdf).

VÁZQUEZ, R.M et al., 2014. *Balance de Materia y Energía: Procesos Industriales* [en línea]. Primera. México: Grupo Editorial Patria. ISBN 978-607-438-895-4. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=afLhBAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=balance+de+materia+y+energ%C3%ADa+2015&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjpyOjk6ZjpAhVig-AKHc9PCMwQ6AEIWjAG#v=onepage&q&f=false>. Física

WANG, Jianlong y WANG, Jiazhuo, 2007. Application of radiation technology to sewage sludge processing: A review. *Journal of Hazardous Materials* [en línea], vol. 143, no. 1, pp. 2-7. [Consulta: 8 marzo 2020]. ISSN 0304-3894. DOI 10.1016/j.jhazmat.2007.01.027. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389407000830>.

XUE, W., ZHOU, Q. y LI, F., 2019. Bacterial community changes and antibiotic resistance gene quantification in microbial electrolysis cells during long-term sulfamethoxazole treatment. *Bioresource Technology* [en línea], vol. 294, pp. 122170. [Consulta: 5 marzo 2020]. ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2019.122170. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852419314002>.

# ANEXOS

## ANEXO A. Certificado de irradiación de lodos emitido por la SCAN

**MINISTERIO DE ENERGÍA Y RECURSOS NATURALES NO RENOVABLES**

*Toda una Vida*

**EL GOBIERNO DE TODOS**

**Traspaso de documentos físicos**

Información del documento

No.documento:	MERNNR-SG-2019-16840-EX	Referencia:	FORMULARIO_MERNNR-SCAN-DLPR-001-FR-02
Remitente:	Ana Gabriela Guacho Guaman		
Asunto:	IRRADIACION DE DOS MUESTRAS		
Registrado por:	Mateo Garcia Folleco		
Fecha de Creación:	2019-11-25 12:17 (GMT-5)		
Fecha de Envío:	(GMT-5)		

Información del traspaso

Área (Enviado a):	MERNNR - Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares	Recibido por:	Daisy Jakeline Calles Jimenez
Fecha entrega:	2019-11-25 12:21 (GMT-5)		
Área (Enviado por):	MERNNR - Secretaría General	Enviado por:	Mateo Garcia Folleco
Responsable Traslado:	MARCO LOOR	Comentario:	1 FACTURA
Estados:	Bueno		

Recibido por

Enviado por

Responsable traslado

-----

Daisy Jakeline Calles Jimenez

MERNNR - Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares

Mateo Garcia Folleco

MERNNR - Secretaría General

MARCO LOOR

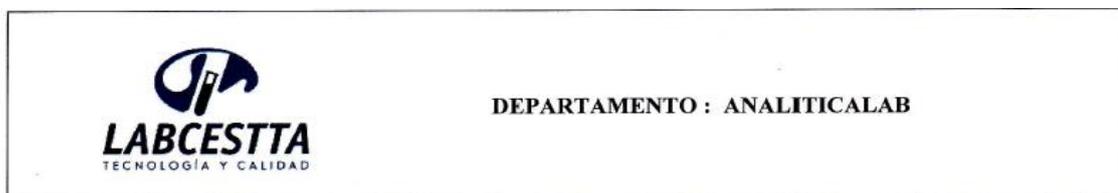
DIRECCIÓN: Av. República de El Salvador N36-64 y Suecia • Código Postal: 170505 / Quito - Ecuador • Teléfono: 593-2 397-6000

[www.recursoyenergia.gob.ec](http://www.recursoyenergia.gob.ec)

Documento generado por Qulpux

1/1

**ANEXO B. Resultados analíticos de muestras de lodos antes de ser sometidos a irradiación y a la experimentación**



**INFORME DE RESULTADOS No:** A-914a-19

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
<b>NOMBRE CLIENTE:</b>	Paulina Mendez	<b>ATENCIÓN A.</b>	Paulina Mendez
<b>DIRECCIÓN:</b>	Guano	<b>TELÉFONO:</b>	0988181439
<b>TIPO DE MUESTRA:</b>	Lixiviados (Lodo)	<b>PUNTO DE MUESTREO:</b>	Río Chico, Azuay
<b>CÓDIGO CLIENTE:</b>	MUESTRA 2 N° Submuestra: 2	<b>FECHA DE MUESTREO, RESPONSABLE:</b>	18/11/2019 11:00 Paulina Méndez

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

<b>MUESTREO REALIZADO POR:</b>	Cliente	<b>NÚMERO DE MUESTRAS:</b>	01
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	N.A.	<b>ANÁLISIS SOLICITADO:</b>	Químico - Microbiológico
<b>FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:</b>	04/12/2019 09:00	<b>FECHA DE ANÁLISIS:</b>	04/12/2019 - 16/12/2019
<b>FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:</b>	16/12/2019 09:00	<b>CÓDIGO LABORATORIO:</b>	AL-L- 041-19
<b>RESPONSABLE DEL MUESTREO:</b>	N.A.	<b>COORDENADAS:</b>	N.A.
<b>CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS</b> T máx.:25,0 °C. T min.: 15,0 °C			

**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Fósforo Total	mg/kg	<0,05	Standard Methods Ed.23.2017 APHA 4500-P B8 PHA 4500-P C	-
Nitrógeno Total	mg/kg	14,62	Standard Methods Ed.23.2017, 4500-N org C	-
Materia orgánica	mg/kg	20,54	PE-AL-49 NEN 5754 2005	-
Coliformes fecales	NMP/g	110	AOAC 991.14	-
Enterobacterias	UFC/g	1200	Recuento en placa	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor limite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

**AUTORIZACIÓN Y RESPONSABLE DEL INFORME:**

*Juan Villamar*  
**QF. Juan Villamar**  
**DIRECTOR TÉCNICO**

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.

 <b>LABCESTTA</b> TECNOLOGÍA Y CALIDAD	<b>DEPARTAMENTO: ANALITICALAB</b>	 Servicio de <b>Acreditación</b> Ecuatoriano  Acreditación N° SAE LEN 18-034 <b>LABORATORIO DE ENSAYOS</b>
---	---------------------------------------	---

INFORME DE RESULTADOS No: L-041-19

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
NOMBRE CLIENTE:	PAULINA MÉNDEZ	ATENCIÓN A:	Paulina Méndez
DIRECCIÓN:	Guano	TELÉFONO:	098818439
TIPO DE MUESTRA:	Agua (Residual)	PUNTO DE MUESTREO:	Río Chico, Azuay
CÓDIGO CLIENTE:	N°submuestra 2	FECHA Y HORA DE MUESTREO, RESPONSABLE:	18/11/2019 11:00 Paulina Méndez

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

MUESTREO REALIZADO POR:	CLIENTE	NÚMERO DE MUESTRAS:	01
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	NA	ANÁLISIS SOLICITADO:	Físico – Químico
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	04/12/2019 09:00	FECHA DE ANÁLISIS:	04/12/2019 - 16/12/2019
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	16/12/2019	CÓDIGO LABORATORIO:	AL-L-041-19
RESPONSABLE DEL MUESTREO:	NA	COORDENADAS:	NA
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS	T máx.:25,0 °C. T mín.: 15,0 °C		

**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (k=2)	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	404	±11%	PE/AL/05 Standard Methods Ed.23.2017 5220D	-
Sólidos Totales	mg/L	20908	±7%	PE-AL-07 Standard Methods Ed.23.2017 2540B	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor límite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

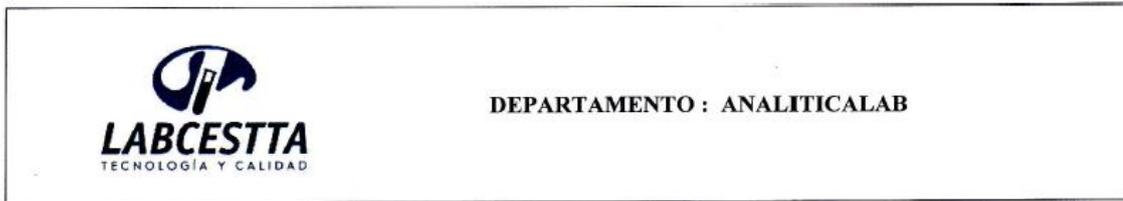
**AUTORIZACION Y RESPONSABLE DEL INFORME:**

  
**QF. Juan Villamar**  
**DIRECTOR TÉCNICO**

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.
- Cuando se emitan criterios de conformidad y aplique, se tendrá en cuenta el: Instructivo de Regla de decisión para una declaratoria de conformidad IE-AL-26.

**ANEXO C. Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 21 días por proceso)**



INFORME DE RESULTADOS No: L-002-20

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
NOMBRE CLIENTE:	Paulina Mendez	ATENCIÓN A.	Paulina Mendez
DIRECCIÓN:	Guano	TELÉFONO:	0988181439
TIPO DE MUESTRA:	Lixiviados(Lodos)-21	PUNTO DE MUESTREO:	Muestra sacada del experimento de FO y CEM
CÓDIGO CLIENTE:	MUESTRA 2 N° Submuestra: 2	FECHA DE MUESTREO, RESPONSABLE:	13/01/2020 Paulina Méndez

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

MUESTREO REALIZADO POR:	Cliente	NÚMERO DE MUESTRAS:	01
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	N.A.	ANÁLISIS SOLICITADO:	Químico - Microbiológico
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	14/01/2020 15:30	FECHA DE ANÁLISIS:	14/01/2020 - 24/01/2020
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	24/01/2020	CÓDIGO LABORATORIO:	AL-L-002-20
RESPONSABLE DEL MUESTREO:	N.A.	COORDENADAS:	N.A.
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS T máx.:25,0 °C. T mín.: 15,0 °C			

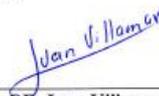
**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Fósforo Total	mg/kg	<0,05	Standard Methods Ed.23.2017 APHA 4500- P B8 PHA 4500-P C	-
Nitrógeno Total	mg/kg	7,52	Standard Methods Ed.23.2017, 4500-N org C	-
Materia orgánica	mg/kg	7,53	PE-AL-49 NEN 5754 2005	-
Coliformes fecales	NMP/g	103	AOAC 991.14	-
Enterobacterias	UFC/g	540	Recuento en placa	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor limite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

**AUTORIZACIÓN Y RESPONSABLE DEL INFORME:**

  
**QF. Juan Villamar**  
**DIRECTOR TÉCNICO**

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.

 <b>LABCESTTA</b> TECNOLOGÍA Y CALIDAD	<b>DEPARTAMENTO: ANALITICALAB</b>	 Servicio de <b>Acreditación</b> Ecuatoriano  Acreditación N° SAE LEN 18-034 <b>LABORATORIO DE ENSAYOS</b>
---	---------------------------------------	---

INFORME DE RESULTADOS No: A-024-20

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
NOMBRE CLIENTE:	PAULINA MÉNDEZ	ATENCIÓN A:	Paulina Méndez
DIRECCIÓN:	Guano	TELÉFONO:	098818439
TIPO DE MUESTRA:	Agua (Residual) -21	PUNTO DE MUESTREO:	Muestra sacada del experimento de FO y CEM
CÓDIGO CLIENTE:	N°submuestra 2	FECHA Y HORA DE MUESTREO, RESPONSABLE:	13/01/2020

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

MUESTREO REALIZADO POR:	CLIENTE	NÚMERO DE MUESTRAS:	01
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	NA	ANÁLISIS SOLICITADO:	Físico – Químico
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	14/01/2020 14:00	FECHA DE ANÁLISIS:	14/01/2020 - 24/01/2020
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	24/01/2020	CÓDIGO LABORATORIO:	AL-A-024-20
RESPONSABLE DEL MUESTREO:	NA	COORDENADAS:	NA
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS	T máx.:25,0 °C. T mín.: 15,0 °C		

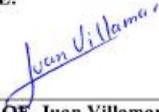
**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (k=2)	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	383	±11%	PE/AL/05 Standard Methods Ed.23.2017 5220D	-
Sólidos Totales	mg/L	12980	±7%	PE-AL-07 Standard Methods Ed.23.2017 2540B	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor límite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

**AUTORIZACION Y RESPONSABLE DEL INFORME:**


---

**QF. Juan Villamar**  
**DIRECTOR TÉCNICO**

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.
- Cuando se emitan criterios de conformidad y aplique, se tendrá en cuenta el: Instructivo de Regla de decisión para una declaratoria de conformidad IE-AL-26.

**ANEXO D. Resultados analíticos de muestras después del proceso aplicado (Periodo de 10 y 11 días por proceso)**

 <p><b>LABCESTTA</b> TECNOLOGÍA Y CALIDAD</p>	<p><b>DEPARTAMENTO : ANALITICALAB</b></p>
--	---

**INFORME DE RESULTADOS No:** L-002-21

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
<b>NOMBRE CLIENTE:</b>	Paulina Mendez	<b>ATENCIÓN A:</b>	Paulina Mendez
<b>DIRECCIÓN:</b>	Guano	<b>TELÉFONO:</b>	0988181439
<b>TIPO DE MUESTRA:</b>	Lixiviados (Lodos)-10 y 11	<b>PUNTO DE MUESTREO:</b>	Muestra sacada del experimento de FO y CEM
<b>CÓDIGO CLIENTE:</b>	MUESTRA 2 N° Submuestra: 2	<b>FECHA DE MUESTREO, RESPONSABLE:</b>	13/01/2020 Paulina Méndez

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

<b>MUESTREO REALIZADO POR:</b>	Cliente	<b>NÚMERO DE MUESTRAS:</b>	01
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	N.A.	<b>ANÁLISIS SOLICITADO:</b>	Químico - Microbiológico
<b>FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:</b>	14/01/2020 15:30	<b>FECHA DE ANÁLISIS:</b>	14/01/2020 - 24/01/2020
<b>FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:</b>	24/01/2020	<b>CÓDIGO LABORATORIO:</b>	AL-L-002-21
<b>RESPONSABLE DEL MUESTREO:</b>	N.A.	<b>COORDENADAS:</b>	N.A.
<b>CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS</b> T máx.:25,0 °C. T mín.: 15,0 °C			

**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Fósforo Total	mg/kg	<0,05	Standard Methods Ed.23.2017 APHA 4500-P B8 PHA 4500-P C	-
Nitrógeno Total	mg/kg	11,08	Standard Methods Ed.23.2017, 4500-N org C	-
Materia orgánica	mg/kg	9,31	PE-AL-49 NEN 5754 2005	-
Coliformes fecales	NMP/g	107	AOAC 991.14	-
Enterobacterias	UFC/g	674	Recuento en placa	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor limite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

**AUTORIZACIÓN Y RESPONSABLE DEL INFORME:**


---

**QF. Juan Villamar**  
**DIRECTOR TÉCNICO**

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.

INFORME DE RESULTADOS No: A-002-21

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
NOMBRE CLIENTE:	PAULINA MÉNDEZ	ATENCIÓN A.	Paulina Méndez
DIRECCIÓN:	Guano	TELÉFONO:	098818439
TIPO DE MUESTRA:	Agua (Residual) -10 y 11	PUNTO DE MUESTREO:	Muestra sacada del experimento de FO y CEM
CÓDIGO CLIENTE:	N°submuestra 2	FECHA Y HORA DE MUESTREO, RESPONSABLE:	13/01/2020

**INFORMACIÓN DEL LABORATORIO**

MUESTREO REALIZADO POR:	CLIENTE	NÚMERO DE MUESTRAS:	01
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	NA	ANÁLISIS SOLICITADO:	Físico – Químico
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	14/01/2020 14:00	FECHA DE ANÁLISIS:	14/01/2020 - 24/01/2020
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	24/01/2020	CÓDIGO LABORATORIO:	AL-A-002-21
RESPONSABLE DEL MUESTREO:	NA	COORDENADAS:	NA
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS	T máx.:25,0 °C. T min.: 15,0 °C		

**RESULTADOS ANALÍTICOS**

ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (k=2)	MÉTODO /NORMA	VALOR LÍMITE PERMISIBLE
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	391	±11%	PE/AL/05 Standard Methods Ed.23.2017 5220D	-
Sólidos Totales	mg/L	17885	±7%	PE-AL-07 Standard Methods Ed.23.2017 2540B	-

**OBSERVACIONES:**

- Muestra receptada en el laboratorio.
- La columna: Valor límite permisible, esta fuera del alcance de acreditación del SAE.

**AUTORIZACION Y RESPONSABLE DEL INFORME:**

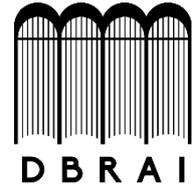
  
QF. Juan Villamar  
DIRECTOR TÉCNICO

**NOTAS:**

- Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.
- Los resultados arriba indicados sólo están relacionados con los objetos ensayados.
- Las condiciones ambientales no afectan a los resultados de los ensayos analizados.
- LABCESTTA S.A. no se responsabiliza cuando la información proporcionada por el cliente puede afectar la validez de los resultados.
- Cuando se emitan criterios de conformidad y aplique, se tendrá en cuenta el: Instructivo de Regla de decisión para una declaratoria de conformidad IE-AL-26.



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA EL**  
**APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN**



**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS**  
**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 17 / 08 / 2020

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Paulina Alexandra Méndez Cuzco
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Ingeniería En Biotecnología Ambiental
<b>Título a optar:</b> Ingeniera En Biotecnología Ambiental
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Lic. Luis Caminos Vargas Mgs.



17-08-2020

0142-DBRAI-UPT-2020